



# **ESTUDIO DE ENRIQUECIMIENTO PROTEICO DE BIZCOCHOS**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

Curso: 2016/17

**Alumno: Guillermo Báscones Ruiz**  
**Tutor: Manuel Gómez Pallarés**

**Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos**  
E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia)

## **Resumen**

El objetivo de este estudio es investigar las interacciones de las diferentes proteínas con los demás ingredientes del bizcocho, observando su comportamiento en la mezcla de la harina, en el batido, tras su horneado y una semana después del mismo. Después de hacer estas comprobaciones, se obtuvieron las siguientes conclusiones. En cuanto a las propiedades de hidratación, las proteínas vegetales aumentaron la capacidad de retención de agua, al contrario de lo que sucedió en las de origen animal. En el caso del comportamiento viscoso, los batidos con proteína de huevo presentaron una viscosidad similar a la muestra control, seguido de las proteínas de suero, arroz y por último, las de guisante. Respecto a la luminosidad del color, en la corteza no se obtuvieron diferencias significativas en relación al control con las proteínas de origen vegetal. Sin embargo, con las de origen animal, se disminuyó el valor de forma similar en las de huevo y en las de suero. En lo que corresponde a la dureza, la proteína de arroz se comportó de manera más similar al control, observándose relevantes diferencias con un porcentaje del 45 %. No obstante, las muestras que más acusaron la evolución de la dureza después de una semana fueron las de proteína de suero y huevo, seguidas de la de arroz, y por último, la de guisante. Como colofón, en la cata realizada, la muestra control fue la que obtuvo una mayor puntuación en la valoración global, a continuación la de suero, seguida de la de guisante, y finalmente, la de huevo y arroz.

## **Abstract**

The aim of this study is to investigate the interactions of the different proteins with the other ingredients of the sponge cake, observing their behavior in the flour-protein mixtures, in the butter, after baking and after a week. For the hydration properties, the vegetal proteins increased the water absorption capacity, while animal proteins decreased it. Regarding the butter viscosity, the samples with egg proteins presented a viscosity similar to the control sample, followed by the ones of whey protein, rice protein and finally, pea protein. As for the crust color, the addition of vegetal proteins did not modify the luminance values respect to the control since they did not present significant differences. However, the samples with animal proteins showed lower values than control. Regarding the hardness cake, the rice protein was the one which presented a similar behavior to the control sample, observing significant differences with a percentage of 45%. The samples in which their hardness increased. Significantly after a week were the ones with whey protein and egg white protein, followed by the one with rice protein and pea protein. In the sensory evaluation, the control samples obtained the highest punctuation in the global valuation, followed by the one with whey protein, pea protein, egg protein and rice protein.

## 1. Introducción

Los alimentos enriquecidos en proteínas han crecido en los últimos años de acuerdo con el avance de la industria alimentaria y se prevé que el crecimiento sea aún mayor en los próximos años con un aumento del 6 % a partir de 2017 (Markets & Markets, 2017). Una práctica muy común en la industria alimentaria es la incorporación de proteínas en la formulación de diferentes productos con el objetivo de mejorar sus cualidades, tales como, el sabor, la textura y su conservación en el tiempo (Bonet et al., 2006). Además, las proteínas son unos de los principales elementos para conferir atributos de textura, siendo la agregación de ellas, un mecanismo importante para conseguir las propiedades mecánicas deseables (Gerrard, 2002). Las proteínas tienen un efecto termogénico y saciante, por lo que se trata de un nutriente interesante para mantener la masa corporal, ya que promueve la salud muscular (Arentson-Lantz et al., 2015). Las propiedades fisicoquímicas de las proteínas van a depender de la estructura de las mismas así como de las condiciones a las que se expongan (Kristo et al., 2015). Asimismo, la interacción agua-proteína va a influir en la capacidad de hidratación, solubilidad, retención de agua, viscosidad, emulsión y espumado (Chou & Morr, 1979). Investigadores como Karaca & Nickerson (2011), Peng et al., (2016) y Ladjal-Ettoumi et al., (2016) estudiaron, por otro lado, las proteínas de guisante para su aplicación en el desarrollo de emulsiones. En cuanto a la proteína de arroz, es reconocida como de tipo vegetal de alta calidad con un balance razonable de aminoácidos (Wang et al., 2007). En lo referido a las proteínas de suero, hay que destacar que tienen muy buenas propiedades, tales como, alta solubilidad, capacidad de formar espumas, de absorción de agua, propiedades emulsionantes (Mulvihill & Fox, 1989), y además, unas buenas propiedades nutricionales, funcionales y bioactivas (García-Garibay et al., 2008). Por último, las proteínas del huevo actúan en los productos horneados como mejorante de la textura, como estabilizadores, ayudan a la retención de agua (Berry et al., 2009) y gracias a su capacidad para formar espumas, son buenos emulsionantes, gelificantes y retenedores de aire (Mine, 1995).

Según Shive & Matthews (1988) el requerimiento de proteína se define como la cantidad necesaria que forma parte de una dieta nutricionalmente adecuada para el crecimiento y mantenimiento óptimo de las personas, para ello, la cantidad de Ingesta Diaria Recomendada (RDA) para la proteína es de 0,8g/kg en el caso de una persona media adulta con baja actividad física. Sin embargo, se considera que esta ingesta es baja para los ancianos (Fulgoni, 2008). Aproximadamente, entre el 10 y el 25% de los ancianos, consumen menos proteína de la recomendada, y esta proporción aumenta en aquellos con enfermedades crónicas o agudas (Volpi et al., 2013). Por otro lado, el

consumo de proteínas en deportistas es considerado hoy en día como un componente nutricional clave para el éxito, especialmente en deportes de resistencia (Tipton & Wolfe, 2004; Lemon, P. W. 1991). La ingesta adecuada es fundamental para la homeostasis de los músculos. El consumo de aminoácidos esenciales reemplazan los que se pierden por diferentes condiciones, como el ayuno o la enfermedad a través de las vías catabólicas (Guarnieri et al., 1986), por ello, el consumo de proteínas es muy importante para evitar la pérdida muscular en enfermedades críticas como el cáncer o una enfermedad pulmonar (Biolo et al., 2002). El envejecimiento está asociado a la insuficiente capacidad para estimular la síntesis de proteínas de los músculos por una alimentación inadecuada (Katsanos et al., 2005). Paddon-Jones & Rasmussen (2009) llegaron a la conclusión de que esto se asocia a la falta de proteínas en la dieta.

La enfermedad celiaca (EC) es una intolerancia a ciertas secuencias de aminoácidos que se encuentran en la fracción de prolamina en algunos cereales como trigo, centeno y cebada principalmente (Malalgoná & Simsek, 2016). En personas susceptibles a estas secuencias se producen daños en la mucosa intestinal al producirse una inflamación de las vellosidades que recubren el intestino delgado, conduciendo a una mala absorción de los nutrientes (Narula et al., 2009). No existe tratamiento para curar esta enfermedad, por lo que la única solución es llevar una dieta libre de gluten (Catassi & Fasano, 2008). Sin embargo, los productos horneados sin gluten que existen en el mercado tienen muy bajo contenido en proteínas y un alto contenido en grasas (Segura & Rosell, 2011), pero el consumo de estos, cada vez es mayor debido a que se ha observado una tendencia creciente del número de celíacos diagnosticados. De hecho, hoy en día, 1 de cada 100 personas sufre la enfermedad celiaca en el mundo (Mustalahti et al., 2010). Por lo citado anteriormente, los alimentos ausentes de gluten se han convertido en una gran tendencia alimentaria en los últimos años y según los últimos estudios de las agencias de tendencias alimentarias, seguirán floreciendo nuevas innovaciones (Lammacchia et al., 2014). El arroz es uno de los principales sustitutos del trigo en la elaboración de productos horneados sin gluten, se caracteriza por tener un sabor suave, color blanco, fácil digestibilidad y ser hipoalérgico (Clerici et al., 2009). Además tiene bajo contenido en sodio y alto contenido en carbohidratos fácilmente digeribles (Marco y Rosell, 2008b). Uno de los puntos débiles son los bajos niveles en nutrientes y micronutrientes, como algunas proteínas, vitamina B, calcio, vitamina D, Hierro, magnesio y fibra (Kupper, 2005).

Entender las interacciones que se producen entre las proteínas y el resto de ingredientes de los productos horneados es muy importante. El efecto de la adición de proteínas en productos a base de cereales ya ha sido estudiado por diversos autores,

sobre todo con la incorporación de proteínas procedentes de la leche y de leguminosas (proteínas de suero y proteínas de guisante). Esto se ha estudiado en bizcochos con gluten, utilizando las proteínas en sustitución del huevo, como es el caso de Lin et al., (2017a), que utilizó proteína de soja en un 3,3% para compensar la función emulgente del huevo, Lin et al., (2017b), en el que utilizaron proteína de guisante en un 3,48%, Jyotsna et al., (2007), usaron proteína de suero en concentraciones de 10, 20 y 30 % con harina de trigo, estudiando las propiedades reológicas de los productos obtenidos, Wilderjans et al., (2008), probaron la incorporación de gluten en diferentes porcentajes, desde el 5 al 95 %, con el objetivo de establecer el papel del gluten en los bizcochos y Majzoubi et al., (2014) que estudiaron la incorporación de proteína de soja en porcentajes de 0, 5, 10, 15, 20 y 30% .

También se han realizado estudios en bizcochos sin gluten como el de Ronda et al.; (2011) en el que se estudió el efecto de usar diferentes fuentes de almidones (arroz, maíz, patata y trigo) con proteína de soja y de trigo a bajos porcentajes (0 %, 10 % y 20 %), Gularte et al., (2012), estudiaron la incorporación de proteína mediante la adición de harinas de leguminosas (garbanzos, guisantes, lenteja y soja), en un 50 %, sobre harina de arroz, Matos et al., (2014) probaron la incorporación de diferentes proteínas por separado (guisante, huevo, caseína y gluten de trigo) en un 13 %, Shevkani et al., (2015) estudiaron la incorporación de proteínas de plantas de la familia de los guisantes en proporciones de 4, 8 y 12 %, con harina de arroz y Shevkani et al., (2014) que analizaron la incorporación de proteínas de alubia, guisante y amaranto en porcentajes del 10 % en bizcochos elaborados a base de almidón de maíz. Además se ha estudiado la incorporación de proteínas en otros productos como panes, Marco & Rosell, (2008a) utilizaron un 13 % de proteína de soja junto con un 4% de HPMC y un 1 % de transglutaminasa, Ziobro et al., (2013), aplicaron albumina, colágeno, guisante, altramuza y soja en un 4,5 % y Moore et al., (2012), utilizaron harina de garbanzo, guisante, de germen de algarroba y soja, con un porcentaje final de proteína en el pan del 1,5%. En galletas Mancebo et al., (2016) analizaron la incorporación de proteínas de guisante en diferentes porcentajes (0 %, 10 % y 20 %), sobre harina de arroz y Sarabhai et al., (2015) utilizaron harina de arroz y un 10 % de proteína de soja y de suero.

Se han estudiado las interacciones de diferentes fuentes de proteínas con diferentes harinas. En su gran mayoría, los estudios existentes se han centrado en incorporar uno o dos tipos de proteínas, y en casi todos los casos, suelen ser con proteínas de origen vegetal y en bajos porcentajes. Sin embargo, las interacciones de proteínas de origen animal (suero y huevo) y de origen vegetal (proteínas de arroz y proteínas de guisante), con harina de arroz en bizcochos sin gluten y las diferencias

entre unas y otras, no han sido estudiadas aún. Por lo tanto, queda un campo abierto para la investigación con proteínas de diferentes fuentes en la incorporación de este tipo de productos.

## **2. Objetivo y plan de trabajo**

En el presente proyecto se pretende comparar la influencia de diferentes tipos de proteínas de origen vegetal (arroz y guisante) y animal (suero lácteo y huevo) en bizcochos tipo layer elaborados con harina de arroz, donde la harina será sustituida en tres porcentajes: 15, 30 y 45%. El objetivo consiste en entender el comportamiento de las diversas proteínas en diferentes porcentajes tanto en las masas batidas como en el bizcocho final, para que a partir de ahí se puedan seguir desarrollando nuevos productos que satisfagan las necesidades y demandas del mercado actual.

En el estudio se evaluarán las propiedades de hidratación de las mezclas harina-proteína, las características del batido (pH, densidad y viscosidad) y del bizcocho (volumen, pérdida de peso, color, simetría y textura), así como la aceptabilidad del producto final por parte del consumidor.

## **3. Materiales y métodos.**

### **3.1. Materiales.**

A la hora de la elaboración de los bizcochos tipo layer del presente estudio, se emplearon los siguientes ingredientes: harina de arroz suministrada por Harinera la Castellana S.L. (Medina del Campo, Valladolid, España), dos proteínas de origen vegetal que son, arroz de la marca Beneo Remypro N80 + G, Remy industries, (Leuven Wijnmaal, Bélgica) y guisante de la marca Roquette Nutralys F85F (Lesterm, Francia), y por otro lado, dos de origen animal, que son, suero de la marca Glabia nutritionals (Kilkenny, Ireland) y huevo de la marca Egg Powder Specialist S.P.A. (Occhiobello, Italia). Además de los anteriores, también azúcar blanco de la azucarera Iberia .S.L.U., aceite de girasol refinado de la marca Langosta, leche entera President Profesional, huevo pasteurizado Ovopak e impulsor comercial de Puratos S.A, Sils, (Gerona, España) compuesto por gasificantes (E- 500 ii, E- 450i), antiapelmazantes (E-170, E-470b) y almidón de maíz.

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Humedad

La humedad de las mezclas se determinó utilizando una termobalanza de precisión modelo Sartorius MA150, (Sartorius AG, Alemania). Los datos obtenidos se utilizaron posteriormente para corregir la humedad de las mezclas de las harinas obtenidas, añadiendo agua para conseguir masas más estables para la elaboración de bizcochos.

### 3.2.2. Propiedades de hidratación

En cuanto a las propiedades de hidratación, se midieron tres parámetros: la capacidad de retención de agua (WHC), la capacidad de fijación de agua (WBC) y el volumen de hinchamiento (SV). Esta medición sigue el método AACC 56,30-01 y AACC 88-04, (AACC 2010).

WHC, se define como la cantidad de agua retenida por la muestra sin estar sometida a ninguna tensión. Para ello, se añadieron 100 ml de agua destilada a 5 g de cada una de las muestras en una probeta y se dejaron reposar durante 24 horas. A continuación, se retiró el agua sobrante y se pesaron las muestras hidratadas. La fórmula para calcularlo fue la siguiente:

$$\text{WHC} = \frac{\text{gramos de agua retenida}}{\text{gramos de muestra seca}}$$

SV, se define como el incremento de volumen de la muestra después de la adicción de agua. El procedimiento llevado a cabo es el mismo que para las WHC. La fórmula para calcularlo fue la siguiente:

$$\text{SV} = \frac{\text{volumen de la muestra hidratada}}{\text{gramos de muestra seca}}$$

WBC, se define como la cantidad de agua retenida por la muestra sometida a una centrifugación a velocidad baja. Para ello se añadieron 25 ml de agua destilada a 5 g de cada una de las muestras en un tubo Falcon de 50 ml y se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 minutos. La fórmula para calcularlo fue la siguiente:

$$\text{WBC} = \frac{\text{gramos de agua retenida}}{\text{gramos de muestra seca}}$$

### **3.2.3. Proceso de elaboración de los bizcochos**

En primer lugar, la humedad de las mezclas se ajustó al 13 % que es la correspondiente a la harina. Después, se mezclaron los ingredientes de la siguiente manera: se añadieron primero los sólidos y luego los líquidos a excepción del impulsor, que se incorporó en último lugar para evitar que empiece a actuar antes de tiempo. De esta manera, se mezcló la harina de arroz con el azúcar, seguidamente se añadió la leche entera, el huevo pasteurizado y el aceite de girasol, y por último, se introdujo el impulsor. Una vez pesados todos los ingredientes, se mezclaron en una batidora (Kitchen Aid, st. Joseph, Michigan, USA) y se batieron durante un minuto a velocidad 4, y después nueve minutos a velocidad 6.

A continuación se vertieron 185 g de batido en moldes desechables (159x119x35 mm) con una capacidad de 395 cm<sup>3</sup>, que previamente fueron impregnados con aceite en la base para evitar que se pegue a la hora de desmoldar el bizcocho. Estos se colocaron en las bandejas y se introdujeron al horno modular modelo NXE (salva, Guipúzcoa) durante 25 minutos a una temperatura de 190 °C. Una vez sacados del horno, pasado el tiempo de enfriamiento se pasó a desmoldar. Después, se dejaron en reposo una hora antes de guardarlo en bolsas herméticas debidamente etiquetadas con la fecha y tipo de bizcocho para realizar el análisis de seguimiento el día 1 y 7.

### **3.2.4. Medición de las masas batidas**

#### **3.2.4.1. Medida de la densidad del batido**

La densidad del batido se midió mediante el método AACC55-50.01 (AACC, 2010) a una temperatura de 20°C, utilizando un picnómetro aforado de acero inoxidable (elcometer) de 100cm<sup>3</sup>. La densidad se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Peso del batido} = \text{Peso del picnómetro con batido} - \text{Peso del picnómetro vacío.}$$

$$\text{Densidad} = \frac{\text{Peso del batido}}{\text{volumen del picnómetro}}$$

La densidad se midió por duplicado para cada una de las muestras.

#### **3.2.4.2. Viscosidad del batido**

Se midió el comportamiento viscoso de todos los batidos mediante el método AACC 61-02.01 (AACC, 2010) utilizando un RVA (Newport Scientific Pty. Ltd., Warriewood, Australia). Para ello se añadieron 25 g de batido en recipientes de aluminio. Se introdujeron en este equipo los siguientes parámetros para la obtención de la viscosidad, 30 °C a velocidad constante (160 rpm) durante 4 minutos. El análisis de viscosidad se realizó por duplicado para cada una de las muestras.

### **3.2.4.3. Medida del pH de los batidos**

Se midió el pH de los batidos con un pH-metro (Crison Hach Lange. S.L.U., Barcelona). Este parámetro se midió por duplicado y para evitar el efecto del tiempo, todas las masas se midieron 5 minutos después de su elaboración.

### **3.2.4.4. Distribución de las burbujas en el batido**

La distribución de las burbujas de aire en el batido se determinó tomando microfotografías con el microscopio electrónico DM750 (Leica Microsystems, wetzlar, Alemania) que incorpora una cámara EC3 (leica Microsystem, Wetzlar, Alemania), mediante un software LAS EZ (leica Microsystem, Wetzlar, Alemania). Para ello se prepararon unas muestras de aproximadamente 1 g en un portaobjetos sobre el cual se colocó un cubreobjetos y se aplicó una presión mediante un peso de 1 Kg durante una hora para homogeneizar la muestra. Se tomaron cuatro fotos de cada batido, dos con 40 aumentos y otras dos con 100.

### **3.2.5. Análisis del bizcocho**

#### **3.2.5.1. Pérdida de peso**

La pérdida de peso se determinó utilizando una balanza Sartorius TE 6101 (AG GERMANY) en base a la siguiente fórmula:

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = \frac{\text{Peso del batido(día0)} - \text{Peso del bizcocho(día 1)}}{\text{Peso del batido (día 0)}} \times 100.$$

La pérdida de peso se determinó por duplicado midiendo dos bizcochos por repetición.

#### **3.2.5.2. Volumen del bizcocho**

El volumen específico se determinó siguiendo el método (AACC 55-50.01) (AACC 2010) mediante un medidor de volumen modelo Volscan Porfiler (Stable Micro Systems, UK). Este equipo funciona mediante la utilización de un vástago en el que se coloca el bizcocho para que gire sobre su eje 360 ° y un sensor laser, el cual realiza la medida. Este parámetro se midió el día siguiente a la elaboración con dos piezas de cada prueba realizando dos repeticiones.

#### **3.2.5.3. Simetría y uniformidad del bizcocho**

El índice de simetría y la uniformidad del bizcocho se determinaron siguiendo el método AACC 10-91.01 (AACC, 2010). Para ello se midió la altura de las rebanadas de bizcocho (2cm de grosor) en 5 puntos diferentes (Figura 1) con un calibre digital (Powerfix, profi+, Neckarsulm, Alemania). Las fórmulas utilizadas para calcular cada parámetro fueron las siguientes:

$$\text{Índice de simetría (mm)} = 2C - B - D$$

*Uniformidad (mm)* = B – D Las medidas se realizaron por duplicado.

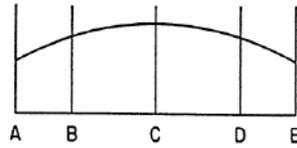


Figura 1: Puntos de medida de simetría y uniformidad.

#### 3.2.5.4. Color del bizcocho

El color AACC, 14-22,01 (AACC, 2010) se midió mediante un colorímetro modelo CN 508i (Minolta, Japón). Se evaluó tanto el color de la corteza como el de la miga. Para ello, se realizaron 4 medidas en cada prueba para la corteza y otras 4 para la miga. El ensayo se realizó por duplicado. Con estas medidas se calcularon las medias aritméticas para el posterior tratamiento estadístico. Los resultados se obtuvieron usando un iluminador estándar D65 y un observador estándar 2°, expresándose en el espacio de color CIE L\* a\* b\*. En el espacio de color CIE L\* a\* b\*, el parámetro L\* (0,100) representa la luminosidad, mientras que a\* y b\* son las coordenadas cromáticas (-60, +60), siendo la +a\* la coordenada de color rojo, -a\* la verde, +b\* es la coordenada de color amarillo y -b\* la de color azul. Estas últimas van a informar de la cromaticidad.

#### 3.2.5.5. Propiedades texturales del bizcocho

Para el análisis de textura AACC, 74-10,02 (AACC, 2010) se empleó un texturómetro modelo TA-XT2 (Stable Micro Systems, UK), con la sonda de aluminio P/25a, de 25 mm de diámetro y un área de contacto de 490,87 mm<sup>2</sup>. A cada muestra se le aplicó un ciclo de compresión con una velocidad de 5mm/s, hasta penetrar en la muestra 10mm. Se midió la dureza, adhesividad, elasticidad y cohesividad de los bizcochos. La textura se midió al día siguiente de la elaboración (día 1) y a la semana (día 7) para después calcular la evolución de la dureza utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Evolución dureza} = \frac{\text{Dureza día 7} - \text{Dureza día 1}}{\text{Dureza día 1}}$$

### **3.2.5.6. Aspectos visuales**

Se tomaron fotos de dos bizcochos y de una rebanada central de cada uno para llevar a cabo este análisis. Las muestras se colocaron sobre un fondo negro con una escala para tener una referencia de las dimensiones y poder realizar una comparación visual. Las fotografías se tomaron el día siguiente a la elaboración de los bizcochos. Para la realización de las fotos se ha utilizado una cámara fotográfica digital modelo SX410IS Powershot (cannon, China) empleando un trípode para conseguir que todas las fotografías estén a la misma distancia, además de un foco de luz para conseguir una iluminación homogénea.

### **3.2.6. Evaluación sensorial**

A la hora de realizar la evaluación sensorial se utilizaron los bizcochos con 30% de proteína y el control con el objetivo de no sobresaturar a los catadores. En total se cataron 5 bizcochos, los cuales se presentaron en porciones de unos 5cm de largo, 5cm de ancho y 3cm de alto envueltos en papel de plata para conservar sus características durante toda la prueba. Se entregaron en platos de plástico que se marcaron con códigos para identificar cada porción de bizcocho. El panel de cata estuvo compuesto por 100 consumidores habituales de bizcochos de entre 16 y 24 años.

#### **3.2.6.1. Cata**

La cata se realizó a lo largo de la mañana del 23 de marzo en una sala de catas estandarizada. A cada catador se le entregó una porción de todas las muestras acompañada de un formulario, en el cual se adjuntó una tabla con los códigos que representaban a cada bizcocho y los parámetros a evaluar. La puntuación oscilaba entre 1 y 9 según el grado de satisfacción. Se elaboraron 4 formularios diferentes en los cuales se alteró el orden de los códigos. De esta manera, se evitó que todos los catadores probaran las muestras en el mismo orden para impedir que afectara en el resultado final. También se limitó el que los catadores pudieran influirse unos a otros. El análisis comenzó por el aspecto visual, para ello, se expuso de cada tipo, un bizcocho entero sobre un plato marcado con su código de identificación. A continuación, se evaluó el olor, textura y sabor. A los participantes se les proporcionó un plato con porciones de las diferentes muestras marcadas con su código de identificación. Por último, se realizó una valoración global de cada muestra. Al final de cada parte se añadió un apartado de observaciones. Resultó positivo que los catadores expusieran sus opiniones y sugerencias por escrito o hicieran alguna referencia a algo que les llamó la atención.

## 4. Resultados y discusión

### 4.1. Propiedades de hidratación de las harinas

Los resultados obtenidos en los ensayos de hidratación se pueden consultar en la Tabla 1. En general, la capacidad de retención de agua (WHC) y la capacidad de fijación de agua (WBC) aumentó con la adición de proteínas vegetales coincidiendo con los estudios realizados por Marcoa & Rosell (2008b) en el que se estudiaron las mezclas de proteínas de guisante, soja, huevo y suero en harina de arroz. Esto se puede deber a que las proteínas de origen vegetal estudiadas se constituyen por un equilibrio de componentes hidrófilos-hidrófobos tales como cadenas laterales polares que mejoran la capacidad de absorción de agua (Hodge & Osman, 1976).

Tabla 1: Resultados de las propiedades de hidratación de las mezclas de harina de arroz y diferentes proteínas.

	WHC	WBC	SV
<b>CONTROL</b>	1,87b ± 0,04	1,09f ± 0,01	0,91c ± 0,01
<b>P. ARROZ 15%</b>	2,15d ± 0,21	1,28g ± 0,01	0,86abc ± 0,01
<b>P. ARROZ 30%</b>	2,53g ± 0,16	1,45gh ± 0,06	0,83abc ± 0,01
<b>P. ARROZ 45%</b>	2,50g ± 0,04	1,61i ± 0,04	0,92c ± 0,01
<b>P. GUISANTE 15%</b>	1,91bc ± 0,01	1,28g ± 0,08	0,79ab ± 0,06
<b>P. GUISANTE 30%</b>	2,18de ± 0,10	1,40gh ± 0,13	0,88bc ± 0,06
<b>P. GUISANTE 45%</b>	2,45g ± 0,07	1,51hi ± 0,04	0,81ab ± 0,01
<b>P. SUERO 15%</b>	2,41fg ± 0,10	0,87e ± 0,08	0,77a ± 0,11
<b>P. SUERO 30%</b>	2,17de ± 0,04	0,56c ± 0,01	0,79ab ± 0,06
<b>P. SUERO 45%</b>	2,36efg ± 0,01	0,27a ± 0,01	0,92c ± 0,04
<b>P. HUEVO 15%</b>	2,24def ± 0,04	0,95e ± 0,01	0,84abc ± 0,04
<b>P. HUEVO 30%</b>	2,09cd ± 0,02	0,71d ± 0,08	0,81abc ± 0,04
<b>P HUEVO 45%</b>	1,29a ± 0,03	0,40b ± 0,01	1,05d ± 0,01

WHC (capacidad de retención de agua).WBC (Capacidad de fijación de agua). SV (Volumen de hinchamiento). Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Se observaron diferentes tendencias entre las proteínas vegetales y animales. En el caso de las proteínas vegetales, a medida que se aumentó la cantidad de proteína adicionada la capacidad de retención de agua incrementó. En el caso de las proteínas animales sucedió lo contrario, incluso se pudo llegar a observar como un exceso de proteína de huevo redujo la capacidad de retención de agua por debajo de la muestra control.

Los resultados obtenidos tras las investigaciones nos llevaron a concluir que no todas las proteínas se comportaron de la misma manera. De esta manera, no solo una mayor cantidad de proteína aumentó la capacidad de retención de agua como sucedió en el estudio de Chinma et al., (2013) con la proteína de soja, sino que el tipo o fuente de proteína también pudo ser un factor que diferencie su comportamiento, como es el caso del estudio de Marco & Rosell (2008b) comparando proteínas de guisante, soja,

huevo y suero. El diferente comportamiento de estas pudo tener relación con la estructura de las mismas, que afecta a la solubilidad de las mezclas (Chinma et al., 2013).

Si nos fijamos en el volumen de hinchamiento (SV), no se puede decir que siga una tendencia clara. Sin embargo, todas las mezclas en sus diferentes proporciones se mantuvieron constantes a excepción de la realizada con huevo al 45 %, la cual sufrió un incremento significativo. Esto pudo deberse a la baja capacidad de retención de agua en porcentajes elevados de proteína.

#### 4.2. Propiedades de los batidos

Los datos de las propiedades de los batidos enriquecidos con las proteínas a estudiar se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Resultados de las propiedades del batido en función de las mezclas de harina de arroz y diferentes proteínas.

	DENSIDAD	PH	VISCOSIDAD
<b>CONTROL</b>	0,99ef ± 0,01	7,55c ± 0,17	2349,00a ± 80,61
<b>P. ARROZ 15%</b>	0,93cd ± 0,01	7,17b ± 0,01	2428,00ab ± 70,71
<b>P. ARROZ 30%</b>	0,90bc ± 0,01	6,98a ± 0,06	3097,50bcd ± 6,36
<b>P. ARROZ 45%</b>	0,88b ± 0,01	6,91a ± 0,01	3662,50de ± 532,97
<b>P. GUISANTE 15%</b>	0,99ef ± 0,00	7,42c ± 0,01	3193,50cd ± 304,76
<b>P. GUISANTE 30%</b>	1,01f ± 0,01	7,49c ± 0,04	5447,50f ± 635,69
<b>P. GUISANTE 45%</b>	0,99ef ± 0,02	7,41c ± 0,01	8375,00g ± 601,04
<b>P. SUERO 15%</b>	1,08g ± 0,00	7,44c ± 0,14	2180,50a ± 50,20
<b>P. SUERO 30%</b>	1,00f ± 0,03	7,22b ± 0,02	2802,00abc ± 67,88
<b>P. SUERO 45%</b>	0,58a ± 0,05	7,41c ± 0,01	3981,50e ± 232,64
<b>P. HUEVO 15%</b>	0,96de ± 0,00	7,41c ± 0,01	2483,50abc ± 125,16
<b>P. HUEVO 30%</b>	0,93cd ± 0,02	7,39c ± 0,13	2787,50abc ± 78,49
<b>P HUEVO 45%</b>	0,90bc ± 0,02	7,18b ± 0,04	3963,00e ± 562,86

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que la viscosidad de los batidos aumentó con la cantidad de proteína adicionada. Además, las mezclas con el menor porcentaje de proteína, excepto con proteína de guisante, presentaron valores de viscosidad muy próximos al de la muestra control. Esto pudo ser debido al aumento de la capacidad de absorción de agua por parte de las proteínas de origen vegetal, las cuales obtuvieron una correlación positiva ( $r = 0,617$  para  $p < 0,05$ ), así como la gran capacidad espumante de las proteínas de guisante (Lin et al., 2017b). Por otro lado, en el caso de las proteínas animales, el aumento de la viscosidad también pudo estar influenciado por su alta capacidad emulsionante. De hecho, tanto las proteínas de suero como las de huevo son ampliamente utilizadas por dichas propiedades como se resaltó en los estudios realizados por Hsieh et al., (1993) y Ziobro et al., (2013). En cuanto al

pH, se observó una ligera acidificación de los batidos pero sin existir apenas diferencias significativas. Por ello, no se pudo relacionar la adición de proteínas con modificaciones en el pH.

Coincidiendo con los estudios realizados por Ronda et al., (2011) con proteína de soja, la densidad de los batidos disminuyó con proteína de arroz, de huevo, incluso en la de suero en porcentajes superiores al 30 %. En el caso de la proteína de guisante se mantuvo constante, siendo próxima a  $1 \text{ g/cm}^3$ . Por lo general, los batidos con menos densidad suelen tener una mayor cantidad de aire incorporado (Martínez-Cervera et al., 2011), lo cual resulta deseable para la elaboración de bizcochos. El aire es atrapado físicamente en el interior del batido por la estabilización debido a la interacción con las proteínas. Estas, por su naturaleza anfifílica, afectan a las propiedades superficiales de las moléculas de gas. Esto se debe a que en cantidades suficientes cubren completamente la superficie de las moléculas de aire (Keller et al., 1997).

#### **4.3. Microscopia**

Las estructuras interiores de los batidos se muestran en la Figura 2, donde se pudo observar que el número de burbujas que se forman en el batido, tanto en la proteína de huevo como en la de suero, fue en aumento a medida que se incrementó la proporción de proteína. Además, se formó una mayor película de aceite alrededor de las burbujas proporcionando una mayor estabilidad. Se pudo ver cómo en los bizcochos elaborados con proteína de suero, las burbujas resultan más homogéneas. Por el contrario, en los que se utilizó proteína de huevo se generaron algunas burbujas de gran tamaño. Esto se puede deber a que las de suero presentaron una mejor solubilidad en el batido. Una reducción del tamaño de burbuja podría ser la consecuencia de una consistencia inferior de los batidos (de la Hera et al., 2013). Si comparamos los resultados obtenidos a partir de proteínas de origen vegetal y animal, nos damos cuenta de que en las de origen vegetal las burbujas de aire llegan a romperse debido a que la capa exterior de aceite que las rodea era de menor tamaño que en las de las proteínas animales.

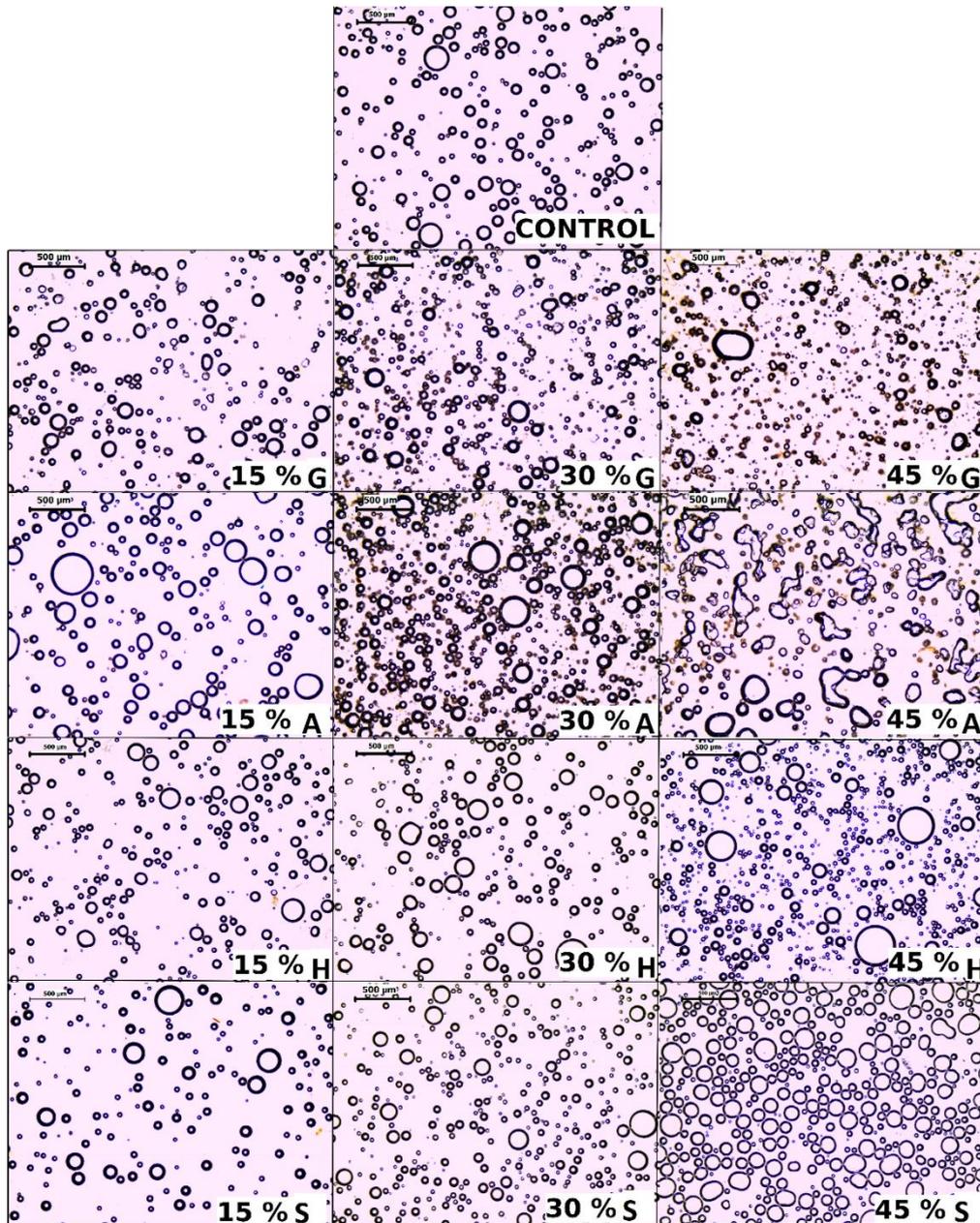


Figura 2: (x10) microscopía de bizcochos tipo Layer elaborado con diferentes porcentajes de proteína de arroz y guisante.

Con la adición de proteínas de arroz, guisante y suero a concentraciones de 15 y 30 %, se generaron más burbujas y de menor tamaño. A medida que se incrementa el tamaño de las burbujas, son más inestables en la matriz del batido. En cuanto a la distribución del gas en el batido, se consiguen mejores resultados cuanto más pequeñas y homogéneas son las burbujas (Gómez et al., 2011). Este hecho evita la coalescencia de las burbujas e impide el escape del gas al exterior (Stauffer, 1990). Así las muestras con proteína de suero y huevo se observó que las burbujas tendieron a juntarse, esto puede ser debido al fenómeno de coalescencia, según el estudio realizado por Boye et al., (2010).

#### 4.4. Color

##### 4.4.1. Color de la corteza

Los parámetros que definen el color de la corteza de los bizcochos elaborados se presentan en la Tabla 3. El color característico de la corteza de bizcochos se debe fundamentalmente a las altas temperaturas que se consiguen en la superficie del mismo durante el proceso de horneado. La modificación del color se produce debido a las reacciones de Maillard y caramelización de los azúcares (Purlis, 2010).

Tabla 3: Resultados del color de la corteza de los bizcochos elaborados con mezclas de harinas de arroz y diferentes proteínas.

	L* (LUMINOSIDAD)	A*	B*
<b>CONTROL</b>	67,49e ± 1,57	7,69ab ± 1,58	30,94b ± 0,99
<b>P. ARROZ 15%</b>	66,06e ± 0,78	8,19ab ± 1,81	31,03b ± 4,28
<b>P. ARROZ 30%</b>	68,45e ± 0,97	6,17a ± 2,52	29,61b ± 1,42
<b>P. ARROZ 45%</b>	63,70de ± 2,48	10,92b ± 3,01	28,62b ± 0,99
<b>P. GUISANTE 15%</b>	63,72de ± 2,50	11,00bc ± 2,58	28,87b ± 2,86
<b>P. GUISANTE 30%</b>	63,47cde ± 1,68	11,46bcd ± 2,16	25,55ab ± 1,93
<b>P. GUISANTE 45%</b>	57,37abcd ± 3,60	15,02de ± 1,78	25,19ab ± 4,27
<b>P. SUERO 15%</b>	53,98a ± 5,94	16,60e ± 1,55	28,04b ± 3,81
<b>P. SUERO 30%</b>	52,14a ± 4,56	16,61e ± 1,68	18,50a ± 5,75
<b>P. SUERO 45%</b>	62,44bcde ± 1,75	14,95cde ± 1,02	27,98b ± 1,45
<b>P. HUEVO 15%</b>	52,69a ± 6,95	16,50e ± 0,99	26,66ab ± 9,08
<b>P. HUEVO 30%</b>	55,43ab ± 1,87	17,78e ± 0,77	27,04b ± 0,14
<b>P HUEVO 45%</b>	55,80abc ± 5,17	17,90e ± 0,19	22,74ab ± 1,01

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Se observaron diferencias significativas entre los bizcochos elaborados con proteína de origen vegetal y animal. En el estudio de Brewer et al., (1992) los bizcochos enriquecidos con proteína de soja bajaron la luminosidad, mientras que en el presente estudio los bizcochos elaborados con proteína de arroz (15 %, 30 %, 45 %) y guisante (15 %, 30 %) no mostraron diferencias significativas, en cambio, sí con proteína de guisante con un 45 %. En cambio, los elaborados con proteínas de suero y huevo presentaron valores menores con diferencias relevantes respecto al control a excepción de la proteína de suero al 45 %. El parámetro a\* (eje verde-rojo) presentó la tendencia contraria a la luminosidad reflejada con una correlación negativa ( $r = -0,861$  para  $p < 0,001$ ), en el que las proteínas de origen vegetal no mostraron diferencias significativas a excepción de la de guisante al 45 %, mientras que las de origen animal, en este caso, aumentaron su valor de forma significativa a excepción del suero al 45 %. Las muestras que más fuertemente modificaron este parámetro fueron las de huevo y suero seguidas de las de guisante y, por último, las de arroz. En el parámetro b\* (eje azul-amarillo) no se observaron diferencias significativas excepto en la proteína de suero al 30 %.

#### 4.4.2. Color de la miga

Los parámetros que definen el color de la miga de los bizcochos elaborados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Resultados del color de la miga de los bizcochos elaborados con mezclas de harinas de arroz y diferentes proteínas.

	L* (LUMINOSIDAD)	a*	b*
<b>CONTROL</b>	80,14efg ± 0,11	-0,38cd ± 0,05	16,61bc ± 0,21
<b>P. ARROZ 15%</b>	77,49cde ± 0,75	-0,04d ± 0,09	19,03de ± 0,48
<b>P. ARROZ 30%</b>	75,22bc ± 0,22	1,19e ± 0,35	22,41gh ± 1,73
<b>P. ARROZ 45%</b>	75,04bc ± 0,10	1,68f ± 0,02	23,66h ± 0,17
<b>P. GUISANTE 15%</b>	76,19bcd ± 0,08	1,46ef ± 0,18	18,21cd ± 0,35
<b>P. GUISANTE 30%</b>	73,53ab ± 0,82	3,05g ± 0,20	20,44efg ± 0,05
<b>P. GUISANTE 45%</b>	71,53a ± 1,27	3,78h ± 0,09	21,22fg ± 1,96
<b>P. SUERO 15%</b>	79,12def ± 0,90	-0,63c ± 0,33	15,97b ± 1,04
<b>P. SUERO 30%</b>	82,75gh ± 0,52	-0,50c ± 0,11	15,18b ± 0,68
<b>P. SUERO 45%</b>	83,56hi ± 0,01	-0,66c ± 0,06	12,39a ± 0,36
<b>P. HUEVO 15%</b>	81,90fgh ± 0,18	-0,80bc ± 0,31	18,64cde ± 0,43
<b>P. HUEVO 30%</b>	86,05i ± 1,31	-1,20ab ± 0,33	19,92def ± 1,31
<b>P HUEVO 45%</b>	86,43i ± 4,32	-1,24a ± 0,10	19,48def ± 1,25

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

En el parámetro de luminosidad se observaron tendencias contrarias entre las proteínas de origen vegetal y animal. Las de origen vegetal redujeron la L\* a medida que aumentamos la concentración, entretanto, los valores de las de origen animal aumentaron en relación a la concentración de proteína. Esto podría atribuirse al propio color aportado por las proteínas, ya que no se producen reacciones de Maillard al alcanzarse menores temperaturas que en la corteza durante el horneado (de la Hera et al., 2012). Para explicar las diferencias encontradas se midieron los valores L, a\* y b\* de las proteínas utilizadas.

Tabla 5: Resultados del color de la harina de arroz y de las diferentes proteínas utilizadas.

	L* (LUMINOSIDAD)	a*	b*
<b>H. ARROZ</b>	29,85c ± 0,22	0,81c ± 0,02	4,37b ± 0,04
<b>P.ARROZ</b>	19,35b ± 0,17	1,48d ± 0,07	18,82e ± 0,15
<b>P.GUISANTE</b>	16,88a ± 0,20	5,30e ± 0,10	15,72d ± 0,33
<b>P.SUERO</b>	30,17d ± 0,08	0,04b ± 0,04	3,11a ± 0,15
<b>P.HUEVO</b>	30,49e ± 0,04	-1,32a ± 0,02	15,06c ± 0,08

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Los tres parámetros que se observan en la tabla superior siguieron la misma tendencia que en la medida del color de la miga del bizcocho formado. Este resultado es de esperar, ya que lo único que cambió en la formulación de una muestra a otra es la proteína y su proporción respecto a la harina. Al igual que sucedió en el estudio realizado por Jarpa-Parra et al., (2017) en el que utilizaron proteína de huevo y de lenteja

al 0, 50 y 75 % en sustitución de la leche para elaborar bizcochos, cuanto mayor porcentaje de proteína lleve la formulación mayor será el efecto del color sobre la miga.

El parámetro a\* (eje verde-rojo) aumentó con el enriquecimiento de los bizcochos en el caso de las proteínas de origen vegetal, en la del huevo se redujo, mientras que en el suero se mantuvo constante.

El parámetro b\* (eje azul-amarillo) aumentó en el caso de los bizcochos enriquecidos con proteínas de arroz, guisante y huevo. No obstante, en el caso de las proteínas de suero, no se mantuvo constante, excepto para una concentración del 45%.

#### 4.5. Simetría y volumen

Los parámetros geométricos y el volumen específico de los bizcochos se muestran en la Tabla 6. El índice de simetría es un indicador del contorno de la superficie, de tal manera que los valores más altos nos indican que tienen mayor altura en el centro que en los lados (Rahmati & Mazaheri, 2015). Para la obtención de un bizcocho óptimo el índice de uniformidad debe de ser cero, mientras que los valores más altos indican que un lado de la pieza es más alto que el otro (Shelke et al., 1992). Asimismo, el volumen específico se calcula dividiendo el volumen del producto por su peso (Lee et al., 1982).

Tabla 6: Resultados de simetría y uniformidad de los bizcochos elaborados con mezclas de harinas de arroz y diferentes proteínas.

	ÍNDICE DE SIMETRÍA	UNIFORMIDAD	VOLUMEN ESPECÍFICO
<b>CONTROL</b>	5,46b ± 0,40	2,50a ± 2,33	2,20abc ± 0,06
<b>P. ARROZ 15%</b>	6,22b ± 0,06	1,33a ± 0,04	2,30bcd ± 0,03
<b>P. ARROZ 30%</b>	5,41b ± 0,72	1,16a ± 0,63	2,04a ± 0,27
<b>P. ARROZ 45%</b>	4,47b ± 1,21	0,87a ± 1,08	1,99a ± 0,01
<b>P. GUISANTE 15%</b>	6,74b ± 3,24	3,19a ± 2,75	2,31bcd ± 0,03
<b>P. GUISANTE 30%</b>	9,84bc ± 5,16	1,09a ± 1,49	2,08ab ± 0,07
<b>P. GUISANTE 45%</b>	5,99b ± 0,59	1,98a ± 0,98	2,03a ± 0,15
<b>P. SUERO 15%</b>	6,95b ± 1,65	2,61a ± 2,65	2,44de ± 0,06
<b>P. SUERO 30%</b>	23,78e ± 4,44	6,91b ± 1,08	2,56e ± 0,05
<b>P. SUERO 45%</b>	-7,44a ± 2,18	0,58a ± 0,66	3,45f ± 0,14
<b>P. HUEVO 15%</b>	10,15bc ± 3,40	1,91a ± 1,65	2,13ab ± 0,06
<b>P. HUEVO 30%</b>	16,65d ± 1,42	1,87a ± 1,97	2,39cde ± 0,07
<b>P. HUEVO 45%</b>	13,14cd ± 4,51	1,60a ± 1,90	2,43cde ± 0,13

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes (p<0,05).

En el caso de los bizcochos enriquecidos con proteína de suero y huevo, el índice de simetría aumentó de manera significativa en porcentajes mayores del 15 %. Sin embargo, con las proteínas de arroz y guisante no se observaron diferencias significativas con el control o entre porcentajes y se observó que, en el caso de la proteína de suero, con un porcentaje del 45 %, se llegó a obtener un valor negativo. Esto nos indica que la pieza tiene menor volumen en el centro que en los lados. El descenso del volumen se produjo durante el enfriamiento de la pieza horneada. En el índice de uniformidad no se observaron diferencias significativas salvo en la muestra de proteína de suero al 30 %, que coincidió con el valor más alto en el índice de simetría. Esto se puede ver en la Figura 3, en la cual se observó un fuerte crecimiento en la parte central de la pieza. En cuanto al volumen específico, la única que produjo un aumento del volumen específico fue la proteína de suero, encontrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto al control. Esto puede ser debido a la alta capacidad emulsionante de las proteínas de suero y huevo (Ziobro et al., 2013) y a la gran capacidad de estas para retener aire tanto en el batido como en el horneado (Yang & Foegeding, 2010). Este hecho recuerda al estudio realizado por Sahi & Alava, (2003) que relacionó el volumen específico con la cantidad y el tamaño de burbujas de manera que el volumen específico aumenta cuanto más pequeñas sean y mayor cantidad haya.



Figura 3: Vista lateral de los bizcocho. A 15 (Proteína de arroz 15 %), G 15 (Proteína de guisante al 15 %), S 15 (Proteína de suero al 15 %), H 15 (Proteína de huevo al 15%), C (Control).

#### 4.6. Textura

El efecto de las diferentes proteínas en la textura de la miga del bizcocho se refleja en las Tablas 7 y 8. Este análisis consistió en la evaluación de las características mecánicas cuando el bizcocho se somete a una fuerza controlada, a partir de la cual se genera una curva de deformación. Las propiedades de textura fueron evaluadas mediante los siguientes parámetros: dureza, adhesividad, elasticidad, cohesividad.

*Tabla 7: Resultados de dureza, adhesividad, elasticidad y cohesividad, de los bizcochos elaborados con mezclas de harinas de arroz y diferentes proteínas.*

	<b>DUREZA</b>	<b>ADHESIVIDAD</b>	<b>ELASTICIDAD</b>	<b>COHESIVIDAD</b>
<b>CONTROL</b>	6,38ab ± 0,21	-0,79f ± 0,14	0,88d ± 0,02	0,54e ± 0,01
<b>P. ARROZ 15%</b>	4,62a ± 0,04	-1,79cdef ± 0,48	0,85c ± 0,01	0,45c ± 0,01
<b>P. ARROZ 30%</b>	5,49a ± 0,23	-2,28cd ± 0,14	0,81b ± 0,03	0,39b ± 0,02
<b>P. ARROZ 45%</b>	8,34bc ± 0,90	-3,89a ± 1,03	0,74a ± 0,02	0,33a ± 0,02
<b>P. GUISANTE 15%</b>	5,52a ± 0,01	-1,31def ± 0,44	0,86cd ± 0,00	0,49d ± 0,00
<b>P. GUISANTE 30%</b>	9,81cd ± 1,60	-2,56bc ± 0,29	0,87cd ± 0,02	0,42c ± 0,03
<b>P. GUISANTE 45%</b>	12,29de ± 2,44	-3,69ab ± 0,13	0,85c ± 0,02	0,38b ± 0,00
<b>P. SUERO 15%</b>	11,26d ± 0,30	-0,93ef ± 0,39	0,94e ± 0,00	0,67f ± 0,01
<b>P. SUERO 30%</b>	20,63f ± 2,79	-1,27def ± 0,81	0,94e ± 0,00	0,66f ± 0,01
<b>P. SUERO 45%</b>	14,39e ± 1,27	-1,09ef ± 0,16	0,93e ± 0,02	0,65f ± 0,03
<b>P. HUEVO 15%</b>	24,57g ± 1,54	-1,10ef ± 0,54	0,94e ± 0,00	0,74g ± 0,00
<b>P. HUEVO 30%</b>	36,21h ± 0,08	-1,98cde ± 0,49	0,94e ± 0,00	0,76g ± 0,01
<b>P. HUEVO 45%</b>	53,90i ± 0,29	-1,34ef ± 0,95	0,93e ± 0,00	0,75g ± 0,00

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Para los resultados de dureza se observó que las proteínas animales aumentaron significativamente. Este parámetro, aumentó a medida que incrementó la cantidad de proteína siendo este aumento más elevado con la proteína de huevo. En el caso de las proteínas vegetales solo hubo un aumento significativo para niveles de sustitución del 30 y 45 % para la proteína de guisante, y del 45 % para la proteína de arroz. Este aumento de la dureza con relación a la presencia de proteína concuerda con las observaciones de Díaz-Ramírez (2016), el cual enriqueció bizcochos con proteína de suero, y de Marco & Rosell (2008a), que enriquecieron con proteína de soja un pan sin gluten. La incorporación de proteínas en este estudio produjo un aumento de la dureza a medida que se incrementó el porcentaje de proteína. La dureza se pudo comparar con el alveolado del producto final, de tal forma que, como se muestra en la Figura 4, a medida que se observó un alveolado más fino aumento este parámetro.

En cuanto a la adhesividad, se pudo ver que aumentó en el caso de las proteínas de origen vegetal a partir de un 30 %. En el caso de las de origen animal, no se observaron diferencias significativas salvo en el caso de la proteína de huevo al 30%.

En lo que respecta a la elasticidad, que informa de la tasa a la que un material deformado regresa a su condición inicial después de retirar la fuerza deformante, se puede observar que se produjeron comportamientos muy diferentes atendiendo al tipo de proteína. En el estudio realizado por Matos et al., (2014) en el que incorporó proteínas en magdalenas, las proteínas de soja y guisante no presentaron diferencias significativas, mientras que las del huevo aumentaron la elasticidad. En el presente estudio se observaron unas respuestas similares. Las de huevo y suero aumentaron el valor de dicho parámetro por igual, entretanto, la proteína de arroz lo disminuyó y la de guisante lo mantuvo sin diferencias significativas respecto al control.

Referido a la cohesividad, que es la resistencia de la estructura interna de un alimento, la cual se relaciona con la deformación sufrida por el este antes de romperse, se observó que las proteínas de origen vegetal siguieron una tendencia inversa a las de origen animal. Por otro lado las de arroz y guisante redujeron de una forma similar este parámetro y las de suero y huevo lo aumentaron. Esto puede deberse a la rotura de las burbujas de aire que se produce con las proteínas de origen vegetal como se puede ver en la Figura 2, siendo las de huevo las que proporcionaron una mayor diferencia al igual que sucedió en el estudio de Matos et al., (2014).

En general, los bizcochos elaborados a partir de proteínas de origen animal fueron más elásticos y cohesivos que los elaborados a partir de origen vegetal. Los resultados del estudio revelaron una gran diferencia respecto a la calidad de la textura en los bizcochos elaborados a partir de harina de arroz y enriquecidos con diferentes fuentes de proteínas.

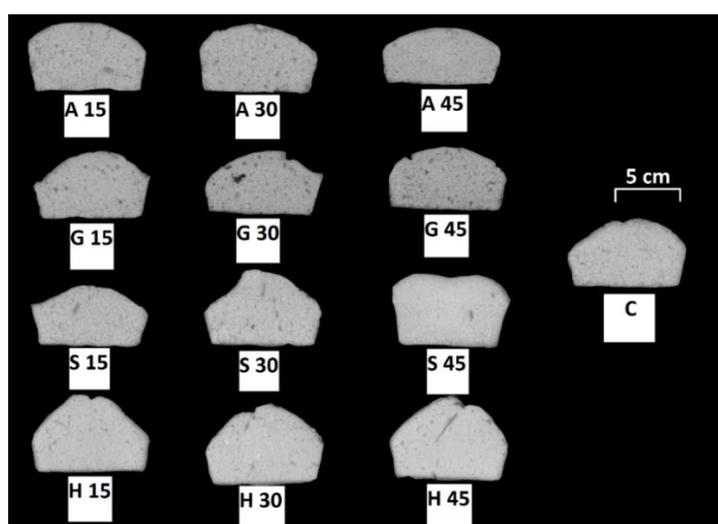


Figura 4: escáner de un corte de la parte central de cada uno de los bizcochos elaborados. A 15 (Proteína de arroz 15 %), G 15 (Proteína de guisante al 15 %), S 15 (Proteína de suero al 15 %), H 15 (Proteína de huevo al 15%), C (Control).

#### 4.7. Envejecimiento

La variación del peso y de la dureza al séptimo día de envejecimiento respecto a los valores del bizcocho fresco se puede observar en la Tabla 8.

Tabla 8: Evolución de los bizcochos a los 7 días de su elaboración.

	PERDIDA DE PESO	EVOLUCIÓN DE LA DUREZA
<b>CONTROL</b>	10,51cd ± 0,19	1,96ab ± 1,47
<b>P. ARROZ 15%</b>	11,78de ± 0,99	3,13bcd ± 0,40
<b>P. ARROZ 30%</b>	10,35cd ± 2,25	4,55d ± 1,20
<b>P. ARROZ 45%</b>	10,24cd ± 0,11	9,57f ± 0,06
<b>P. GUISANTE 15%</b>	10,62cd ± 0,73	2,47bc ± 0,83
<b>P. GUISANTE 30%</b>	9,811bc ± 0,42	4,11cd ± 0,17
<b>P. GUISANTE 45%</b>	10,19cd ± 0,34	7,04e ± 0,29
<b>P. SUERO 15%</b>	9,03abc ± 0,08	4,87d ± 1,32
<b>P. SUERO 30%</b>	8,24ab ± 0,11	0,13a ± 0,01
<b>P. SUERO 45%</b>	12,89e ± 0,11	12,59g ± 0,11
<b>P. HUEVO 15%</b>	9,30abc ± ,076	4,97d ± 0,24
<b>P. HUEVO 30%</b>	7,70a ± 0,19	10,07f ± 0,27
<b>P HUEVO 45%</b>	7,95a ± 0,61	11,48fg ± 0,50

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

En general, los valores de pérdida de peso no se pudieron relacionar con la adición de proteínas. Sin embargo, la evolución de la dureza sí que tuvo una tendencia a aumentar conforme se incrementan las proteínas. Este comportamiento ya ha sido referido por Marco & Rosell (2008a) con proteína de soja en panes sin gluten. En el presente estudio, las que más afectaron a este parámetro fueron las de suero y huevo, seguidas de las de arroz y, por último, las de guisante, con una excepción, los bizcochos que fueron elaborados con proteína de suero al 30 %, en los cuales se observó que apenas se produjo un aumento de la dureza a los 7 días de la elaboración. Esto se debe a que la dureza del bizcocho al día 1 de la elaboración ya es muy alta.

#### 4.8. Cata

En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos de la cata realizada con los bizcochos que se muestran en la Figura 5.

Tabla 9: Resultados de la cata hedónica.

BIZCOCHO	ASPECTO VISUAL	OLOR	TEXTURA	SABOR	VALORACIÓN GLOBAL
<b>CONTROL</b>	6,83b ± 1,19	6,80d ± 1,31	6,74d ± 1,68	6,65e ± 1,50	7,02d ± 1,42
<b>P.ARROZ 30 %</b>	5,72a ± 1,67	4,55a ± 2,03	4,86b ± 2,19	3,49a ± 1,93	4,09a ± 1,85
<b>P.GUISANTE 30%</b>	5,78a ± 1,64	5,34b ± 1,83	6,02c ± 1,84	4,73c ± 1,95	5,33b ± 1,71
<b>P.SUERO 30%</b>	6,79b ± 1,47	6,01c ± 1,51	5,62c ± 1,78	6,07d ± 1,82	6,07c ± 1,59
<b>P.HUEVO 30%</b>	6,94b ± 1,17	4,78a ± 1,61	3,71a ± 1,75	4,02b ± 1,89	4,45a ± 1,64

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

En cuanto al aspecto visual, los catadores reconocieron como mejores aquellos elaborados con proteínas de origen animal sin presentar diferencias significativas con respecto al control. No obstante, en las de origen vegetal la puntuación fue considerablemente menor. Esto pudo deberse al volumen específico y color del bizcocho, ya que presentaron colores más claros y con menor volumen específico, así como la simetría en la que se observó un mayor crecimiento en el centro de la pieza en el caso de las proteínas animales.

Respecto al olor, la tendencia general fue negativa en relación a la adición de proteínas. Las muestras con menores puntuaciones fueron aquellas con proteína de arroz y huevo, seguidas de guisante y, finalmente, las de suero. Las que peor valoración obtuvieron fueron las de arroz seguidas de las de huevo, guisante y, por último, la de suero, que fue la que más se aproximó a la muestra control.

En lo que se refiere a la textura, la proteína de huevo dio lugar al bizcocho con peor valoración. Esto parece estar relacionado con los resultados obtenidos en la medición de la dureza, ya que los bizcochos con proteína de huevo fueron los que presentaron los valores mayores. El aumento de la dureza en bizcochos se relaciona con puntuaciones más bajas en las evaluaciones sensoriales (Psimouli & Oreopoulou, 2013).

En cuanto al sabor, la tendencia general fue que la adición de proteínas afectó negativamente. En este caso, la muestra peor valorada fue aquella con proteína de arroz seguida de la de huevo y guisante.

En la valoración global, la muestra control fue la mejor valorada seguida del bizcocho con proteína de suero, guisante, huevo y, por último, arroz. El descenso en la puntuación generalizada al añadir un 30 % de proteína en la formulación coincide con el estudio realizado por Majzoobi et al., (2012) en el que utilizó proteína de soja para la elaboración de bizcochos. Los catadores rechazaron porcentajes por encima del 20 %.

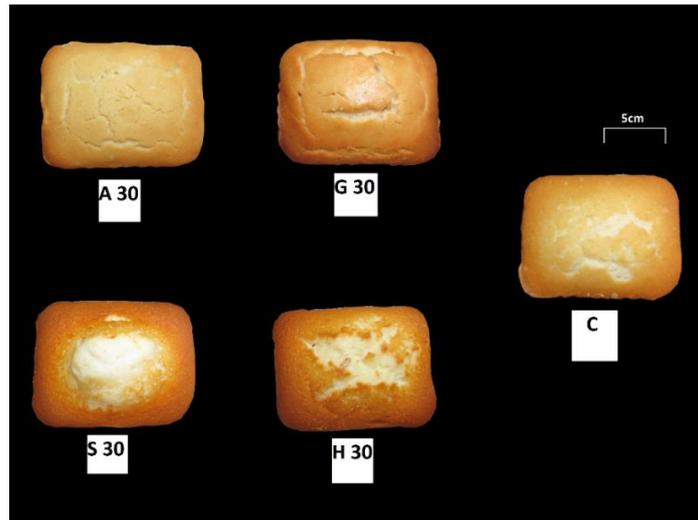


Figura 5: Bizcochos escogidos para la realización de la cata. A 30 (Proteína de arroz 30 %), G 30 (Proteína de guisante al 30 %), S 60 (Proteína de suero al 30 %), H 30 (Proteína de huevo al 30%), C (Control).

## 5. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que cada proteína tiene un comportamiento distinto e interaccionan con los demás ingredientes de forma diferente. Además, influye en gran medida el porcentaje añadido. Las principales diferencias se han observado entre las proteínas de origen vegetal y las de origen animal. Estas diferencias se deben fundamentalmente a la capacidad emulgente y de retener aire, tanto en el batido como en el horneado de las de origen animal, lo cual proporciona una mayor cohesividad en el bizcocho, así como una mayor dureza. En el caso de las proteínas de suero se observó un aumento del volumen específico y una alta capacidad de retener agua de las de origen vegetal consiguiendo un producto final más suave y frágil.

En términos generales, se puede concluir que cada proteína tiene unas características intrínsecas que la diferencian de las demás, dejando la puerta abierta a futuras investigaciones con diferentes tipos de proteínas, incluso con la mezcla de varias de ellas, ya que en muchos parámetros se observaron efectos contrarios. De esta forma se podrían mezclar diferentes proporciones de distintas proteínas para dar un producto más similar al control y, por lo tanto, de mayor aceptación.

## 6. Bibliografía

- AACC (2010). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists, methods 46-30.01 (protein), 88-04 (WHC), 30-01 (WBC), 10-91.01 (cake symmetry and volume index), 55-50.01 (Specific volume), 61-02.01 (Determination of the Pasting Properties of Rice with the Rapid Visco Analyser), 74-10.02 (Measurement of Bread Firmness—Compression Test), 14-22.01 (Colour of Pasta—Reflectance Colorimeter Method), 11st ed. St. Paul: American Association of Cereal Chemists.
- Arentson-Lantz, E., Clairmont, S., Paddon-Jones, D., Tremblay, A., & Elango, R. (2015). Protein: A nutrient in focus 1. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 40(8): 755-761.
- Barac, M., Cabrilo, S., Pesic, M., Stanojevic, S., Zilic, S., Macej, O., & Ristic, N. (2010). Profile and functional properties of seed proteins from six pea (*Pisum sativum*) genotypes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(12): 4973-4990.
- 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.
- Biolo, G., Fleming, R. D., Maggi, S. P., Nguyen, T. T., Herndon, D. N., & Wolfe, R. R. (2002). Inverse regulation of protein turnover and amino acid transport in skeletal muscle of hypercatabolic patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(7): 3378-3384.
- Bonet, A., Blaszczak, W., & Rosell, C. M. (2006). Formation of homopolymers and heteropolymers between wheat flour and several protein sources by transglutaminase-catalyzed cross-linking. *Cereal Chemistry*, 83: 655-662.
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2): 414-431.
- Brewer, M. S., Potter, S. M., Sprouls, G., & Reinhard, M. (1992). Effect of soy protein isolate and soy fiber on color, physical and sensory characteristics of baked products. *Journal of Food Quality*, 15(4): 245-262.
- Catassi, C., & Fasano, A. (2008). Celiac disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 24(6): 687-691.
- Chinma, C. E., Ariahu, C. C., & Abu, J. O. (2013). Chemical composition, functional and pasting properties of cassava starch and soy protein concentrate blends. *Journal of Food Science and Technology*, 50(6): 1179-1185.
- Chou, D. H., & Morr, C. V. (1979). Protein-water interactions and functional properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56(1): A53-A62.
- Clerici, M. T. P. S., Airoldi, C., & El-Dash, A. A. (2009). Production of acidic extruded rice flour and its influence on the qualities of gluten-free bread. *LWT-Food Science and Technology*, 42(2): 618-623.

- Damodaran, S. (2008). Amino acids, peptides, and proteins (Vol. 4, pp. 217-329). CRC Press: Boca Raton, FL.
- de la Hera, E., Martínez, M., Oliete, B., & Gómez, M. (2013). Influence of flour particle size on quality of gluten-free rice cakes. *Food and Bioprocess Technology*, 6(9): 2280-2288.
- de la Hera, E., Ruiz-París, E., Oliete, B., & Gómez, M. (2012). Studies of the quality of cakes made with wheat-lentil composite flours. *LWT-Food Science and Technology*, 49(1): 48-54.
- Díaz-Ramírez, M., Calderón-Domínguez, G., García-Garibay, M., Jiménez-Guzmán, J., Villanueva-Carvajal, A., de la Paz Salgado-Cruz, M., & Del Moral-Ramírez, E. (2016). Effect of whey protein isolate addition on physical, structural and sensory properties of sponge cake. *Food Hydrocolloids*, 61: 633-639.
- Drummond, M. J., Dickinson, J. M., Fry, C. S., Walker, D. K., Gundermann, D. M., Reidy, P. T., & Volpi, E. (2012). Bed rest impairs skeletal muscle amino acid transporter expression, mTORC1 signaling, and protein synthesis in response to essential amino acids in older adults. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 302(9): E1113-E1122.
- Fulgoni, V. L. (2008). Current protein intake in America: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2004. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(5): 1554S-1557S.
- García-Garibay, M., Jiménez-Guzmán, J., & Hernández-Sánchez, H. (2008). Whey proteins: bioengineering and health. *Food Engineering: Integrated Approaches*: 415-430.
- Gerrard, J. A. (2002). Protein–protein crosslinking in food: methods, consequences, applications. *Trends in Food Science & Technology*, 13(12): 391-399.
- Gómez, M., Ruiz, E., & Oliete, B. (2011). Effect of batter freezing conditions and resting time on cake quality. *LWT-Food Science and Technology*, 44(4): 911-916.
- Guarnieri, G., Toigo, G., Situlin, R., Del Bianco, A., Crapesi, L., Zanettovich, A. & Mocavero, G. (1986). Muscle-Biopsy Studies on Protein Metabolism in Traumatized Patients<sup>1</sup>. In *Clinical Nutrition and Metabolic Research* (pp. 28-39). Karger Publishers.
- Gularte, M. A., Gómez, M., & Rosell, C. M. (2012). Impact of legume flours on quality and in vitro digestibility of starch and protein from gluten-free cakes. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8): 3142-3150.
- Hodge, J. E., & Osman, E. M. (1976). *Principles of Food Science Part 1. Food Chemistry*. by O. R. Fennema, Marcel Dekker Inc., New York, Basel.
- Hsieh, Y. L., Regenstein, J. M., & Rao, M. A. (1993). Gel point of whey and egg proteins using dynamic rheological data. *Journal of Food Science*, 58(1): 116-119.

- Huiyuan, W. Z. L. W. Y. (2007). Characteristics and Structure of Thermal Denatured Rice Proteins ( I ): Solubility and Amino Acid Composition of Rice Proteins [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2: 001.
- Jarpa-Parra, M., Wong, L., Wismer, W., Temelli, F., Han, J., Huang, W & Chen, L. (2017). Quality characteristics of angel food cake and muffin using lentil protein as egg/milk replacer. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(7): 1604-1613.
- Ji, Y., Zhu, K., Qian, H., & Zhou, H. (2007). Staling of cake prepared from rice flour and sticky rice flour. *Food Chemistry*, 104(1): 53-58.
- Jyotsna, R., Sai Manohar, R., Indrani, D., & Venkateswara Rao, G. (2007). Effect of whey protein concentrate on the rheological and baking properties of eggless cake. *International Journal of Food Properties*, 10(3): 599-606.
- Karaca, A. C., Low, N., & Nickerson, M. (2011). Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*, 44(9): 2742-2750.
- Katsanos, C. S., Kobayashi, H., Sheffield-Moore, M., Aarsland, A., & Wolfe, R. R. (2005). Aging is associated with diminished accretion of muscle proteins after the ingestion of a small bolus of essential amino acids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82(5): 1065-1073.
- Keller, R. C. A., Orsel, R., & Hamer, R. J. (1997). Competitive adsorption behaviour of wheat flour components and emulsifiers at an air–water interface. *Journal of Cereal Science*, 25(2): 175-183.
- Kupper, C. (2005). Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology*, 128(4): S121-127.
- Ladjal-Ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., & Romero, A. (2016). Pea, Chickpea and Lentil Protein Isolates: Physicochemical Characterization and Emulsifying Properties. *Food Biophysics*, 11(1): 43-51.
- Lamacchia, C., Camarca, A., Picascia, S., Di Luccia, A., & Gianfrani, C. (2014). Cereal-based gluten-free food: How to reconcile nutritional and technological properties of wheat proteins with safety for celiac disease patients. *Nutrients*, 6(2): 575-590.
- Lee, C. C., & Hosney, R. C. (1982). Development of a laboratory-scale single-stage cake mix. *Cereal Chemistry*.
- Lemon, P. W. (1991). Effect of exercise on protein requirements. *Journal of Sports Sciences*, 9(S1): 53-70.
- Lin, M., Tay, S. H., Yang, H., Yang, B., & Li, H. (2017a). Replacement of eggs with soybean protein isolates and polysaccharides to prepare yellow cakes suitable for vegetarians. *Food Chemistry*, 229: 663-673.

- Lin, M., Tay, S. H., Yang, H., Yang, B., & Li, H. (2017b). Development of eggless cakes suitable for lacto-vegetarians using isolated pea proteins. *Food Hydrocolloids*, 69, 440-449.
- Majzoobi, M., Darabzadeh, N., & Farahnaky, A. (2012). Effects of percentage and particle size of wheat germ on some properties of batter and cake. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(4): 827-836.
- 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(3): 1164-1170.
- Malalgoda, M., & Simsek, S. (2016). Celiac disease and cereal proteins. *Food Hydrocolloids*.
- 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.
- Marco, C., & Rosell, C. M. (2008a). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227(4): 1205-1213.
- Marco, C., & Rosell, C. M. (2008b). Effect of different protein isolates and transglutaminase on rice flour properties. *Journal of Food Engineering*, 84(1): 132-139.
- Markets & Markets (2017). <http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/protein-ingredients-market-114688236.html> (Consultado el 17/04/2017).
- Martínez-Cervera, S., de la Hera, E., Sanz, T., Gómez, M., & Salvador, A. (2013). Effect of nutriose on rheological, textural and sensorial characteristics of Spanish muffins. *Food and Bioprocess Technology*, 6(8): 1990-1999.
- Martínez-Cervera, S., Salvador, A., Muguerza, B., Moulay, L., & Fiszman, S. M. (2011). Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins. *LWT-Food Science and Technology*, 44(3): 729-736.
- Matos, M. 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.
- Mine, Y. (1995). Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 6(7): 225-232.
- Mnif, I., Besbes, S., Ellouze, R., Ellouze-Chaabouni, S., & Ghribi, D. (2012). Improvement of bread quality and bread shelf-life by *Bacillus subtilis* biosurfactant addition. *Food Science and Biotechnology*, 21(4): 1105-1112.
- 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(1): 28-36.
- Mulvihill, D. M., & Fox, P. F. (1989). Physico-chemical and functional properties of milk proteins. *Developments in Dairy Chemistry*, 4: 131-172.

- Mustalahti, K., Catassi, C., Reunanen, A., Fabiani, E., Heier, M., McMillan, S., & Mäki, M. (2010). The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Annals of Medicine*, 42(8): 587-595.
- Narula, P., Porter, L., Langton, J., Rao, V., Davies, P., Cummins, C. & Protheroe, S. (2009). Gastrointestinal symptoms in children with type 1 diabetes screened for celiac disease. *Pediatrics*, 124(3): e489-e495.
- Paddon-Jones, D., & Rasmussen, B. B. (2009). Dietary protein recommendations and the prevention of sarcopenia: Protein, amino acid metabolism and therapy. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 12(1): 86.
- Peng, W., Kong, X., Chen, Y., Zhang, C., Yang, Y., & Hua, Y. (2016). Effects of heat treatment on the emulsifying properties of pea proteins. *Food Hydrocolloids*, 52: 301-310.
- Psimouli, V., & Oreopoulou, V. (2013). The effect of fat replacers on batter and cake properties. *Journal of Food Science*, 78(10):, C1495-C1502.
- Purlis, E. (2010). Browning development in bakery products—A review. *Journal of Food Engineering*, 99(3): 239-249.
- Rahmati, N. F., & Mazaheri Tehrani, M. (2015). Replacement of egg in cake: Effect of soy milk on quality and sensory characteristics. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6): 574-582.
- 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(3): 272-277.
- Sahi, S. S., & Alava, J. M. (2003). Functionality of emulsifiers in sponge cake production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(14): 1419-1429.
- Sarabhai, S., Indrani, D., Vijaykrishnaraj, M., Kumar, V. A., & 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.
- Segura, M. E. M., & Rosell, C. M. (2011). Chemical composition and starch digestibility of different gluten-free breads. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(3): 224.
- Shelke, K., Hosney, R. C., Faubion, J. M., & Curran, S. P. (1992). Age-related changes in the cake-baking quality of flour milled from freshly harvested soft wheat. *Cereal Chemistry (USA)*.
- 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 & Technology*, 49(10): 2237-2244.

- 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(2): 927-933.
- Shive, W., & Matthews, K. S. (1988). Nutritional requirements for growth of human lymphocytes. *Annual Review of Nutrition*, 8(1): 81-97.
- Stauffer, C. E. (1990). Functional additives for bakery foods (pp. 250–258). New York: Van Nostrand Reinhold.
- Tipton, K. D., & Wolfe, R. R. (2004). Protein and amino acids for athletes. *Journal of Sports Sciences*, 22(1): 65-79.
- Volpi, E., Campbell, W. W., Dwyer, J. T., Johnson, M. A., Jensen, G. L., Morley, J. E., & Wolfe, R. R. (2013). Is the optimal level of protein intake for older adults greater than the recommended dietary allowance?. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 68(6): 677-681.
- Walker, D. K., Dickinson, J. M., Timmerman, K. L., Drummond, M. J., Reidy, P. T., Fry, C. S., & Rasmussen, B. B. (2011). Exercise, amino acids and aging in the control of human muscle protein synthesis. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 43(12): 2249.
- Wilderjans, E., 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(4): 909-915.
- Yang, X., & Foegeding, E. A. (2010). Effects of sucrose on egg white protein and whey protein isolate foams: factors determining properties of wet and dry foams (cakes). *Food Hydrocolloids*, 24(2): 227-238.
- Ziobro, R., Witczak, T., Juszcak, 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.

Universidad de Valladolid