



ENRIQUECIMIENTO DE PANES SIN GLUTEN CON MEZCLAS PROTEICAS

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2017/18

Alumno: Thaís Sader de Melo

**Tutores: Manuel Gómez Pallarés
Ángela Bravo Núñez**

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

ÍNDICE

Resumen	3
Abstract	3
1. Introducción	4
2. Materiales y métodos	8
2.1. Materiales.	8
2.2. Métodos	8
2.2.1. Elaboración de los panes.	8
2.2.2. Volumen específico.....	9
2.2.3. Modelización de la humedad para cada elaboración.....	10
2.2.4. Propiedades de la masa a humedad óptima.....	11
2.2.5. Propiedades de los panes optimizados.....	11
2.2.6. Análisis estadístico.	11
3. Resultados y discusión	12
3.1. Modelización de humedad y volumen específico de los panes.....	12
3.2. Características de las masas.....	13
3.3. Propiedades de los panes.....	13
3.3.1. Medida del color de los panes.	13
3.3.2. Medida de textura de los panes.....	16
4. Conclusiones	19
5. Agradecimientos	20
6. Referencias bibliográficas	20

Resumen

El presente estudio trata sobre el efecto de diferentes niveles de hidratación de las masas en el volumen específico de panes sin gluten enriquecidos proteicamente (30%), los cuales se elaboraron con proteínas de guisante y/o clara de huevo y almidón de maíz. El objetivo de esta modelización fue encontrar cual debería ser el nivel de hidratación de cada muestra para conseguir un determinado volumen específico. En este estudio el volumen a conseguir fue de 5 cm³/g. Los panes resultantes a dicho volumen fueron evaluados en términos de reología de las masas y textura, color y apariencia de los panes. La masa más consistente fue la control, mientras que la masa enriquecida solo con proteína de clara de huevo (con menores valores de G' y G''), fue la menos consistente. Los panes con mayor proporción de proteína de clara de huevo presentaron migas con un alveolado más cerrado, cortezas menos oscuras y panes con mayor dureza.

Palabras clave: Panes, gluten free, celiacía, almidón de maíz, proteína.

Abstract

The present study deals with the effect of different dough hydration levels on the specific volume of protein enriched (30%) gluten-free breads elaborated with pea and/or egg white proteins and maize starch. The aim of this modelling was to find which would be the hydration level for each sample in order to achieve a certain specific volume. In this study the target volume was 5 cm³/g. The resulting breads were evaluated in terms of rheology of the doughs and texture, colour and appearance of the breads. The most consistent dough was the control, while the dough with only egg white protein (with lower values of G' and G''), was the least consistent. Although, the breads with a higher proportion of eggs had crumbs with a more closed alveolate, lighter crusts and breads of higher hardness.

Key words: Breads, Gluten free, celiac disease, corn starch, protein.

1. Introducción

La enfermedad celiaca (EC) es considerada como una enfermedad crónica. Según Maureen *et al.* (2017) es una enteropatía inmunológica del intestino delgado, que se inicia por la exposición al gluten en individuos genéticamente predispuestos. Los síntomas clásicos de la enfermedad celiaca son distensión abdominal, anorexia, diarrea crónica o recurrente, pérdida de peso, vómitos, pérdida de masa muscular, fatiga y crisis celíaca (Catassi y Fasano, 2008). Según la Federación de Asociaciones de Celíacos de España (FACE, 2018), se estima que entre el 1% y 3% de la población mundial posee la enfermedad. En España el porcentaje es similar, siendo aproximadamente 450.000 las personas afectadas y más recurrente en mujeres que en hombres, con una proporción 2:1. El mayor problema relacionado a la enfermedad celíaca es que cerca de 75% de las personas que la sufren no están diagnosticadas, y su único tratamiento es la restricción de esta proteína en la dieta (FACE, 2018). Además de la enfermedad celiaca, existen otros problemas relacionados con el gluten como la sensibilidad al gluten no celiaca (Reig-Otero *et al.*, 2017). Por otro lado, encontramos la alergia al trigo, una respuesta inmunológica adversa a ciertas células específicas de las proteínas del trigo y su reacción se presenta en un corto tiempo después de la ingestión del trigo. Los síntomas propios de esta alergia son anafilaxia, hinchazón o picazón de la boca, garganta y piel, congestión nasal; ojos llorosos y dificultad respiratoria. La alergia al trigo es más común en los niños, con una prevalencia del 2% al 9%; en los adultos la prevalencia es del 0,5% al 3%. En todos los casos, el único tratamiento a la enfermedad actualmente conocido consiste en la eliminación del gluten de la dieta (Maureen *et al.*, 2017). Actualmente hay una creciente demanda de productos sin gluten. Según Calle (2017), esto puede deberse bien al crecimiento de la enfermedad celiaca y otras reacciones alérgicas referentes al gluten, o bien a la creencia de que una dieta sin gluten más saludable, o adecuada para adelgazar. Hay también una parte de la sociedad que manifiesta mejoría de varios síntomas que les aquejan cuando se disminuye o se quita el gluten de su alimentación, o manifiestan otros desórdenes relacionados con la ingestión de gluten que desaparecen con una dieta libre de gluten. Según la FACE (2018), ese aumento creciente es positivo para el colectivo de personas que poseen la enfermedad celíaca (EC) ya que, cuanto mayor sea la demanda, más atractivo se vuelve este mercado para las empresas y más competencia se consigue, aumentando así en variedad y calidad la oferta. De acuerdo con los estudios de la FACE, las ventas de productos sin gluten en todo el mundo ascienden a unos 2.900 millones de euros, con tendencia a llegar hasta los 4.000 millones de euros en 2020.

Molina-Rosell (2013) nos indica que el gluten representa casi un 80% de las proteínas que se encuentran en el trigo y que es el que confiere a la harina sus propiedades elásticas y tiene gran contribución en la consistencia y esponjosidad al pan. Su composición es mayoritariamente proteica y está formada por gluteninas y gliadinas. Las gliadinas contribuyen en las propiedades viscosas y en la extensibilidad de la masa panadera, mientras que las gluteninas confieren elasticidad y fuerza a la masa (Rivera, 2015; Molina-Rosell, 2013). Las proporciones de cada una de ellas afectan directamente a las propiedades funcionales de las masas de pan, así que su eliminación de las formulaciones da lugar a masas líquidas y que generan panes con textura desagradable y con otros defectos de calidad sensorial (color y sabor) y nutricional (Molina-Rosell, 2013). Eso ocurre porque, cuando las materias primas básicas (agua, levadura y harinas sin gluten) se mezclan, la suspensión resultante de aire retenido de la mezcla y el dióxido de carbono obtenido de la fermentación de levadura no puede quedar atrapada en la red de gluten, no permitiendo que la masa se expanda (Onyango *et al.*, 2011). De este modo, la mayoría de los gases se escapan demasiado pronto y se forman burbujas irregulares e inestables, lo que contribuye a la obtención de panes con volumen reducidos, falta de estructura celular y una textura seca, desmenuzable y granulosa.

Las formulaciones estudiadas y diseñadas para la elaboración de productos libres de gluten poseen en su composición, principalmente, harinas de arroz o maíz combinadas con almidones de trigo, patata o maíz (Gallagher *et al.*, 2004; Gujral y Rosell, 2004; Sabanis *et al.*, 2009; Demirkesen *et al.*, 2010; Pagliarini *et al.*, 2010; Torbica *et al.*, 2010; Brites *et al.*, 2010; Sciarini *et al.*, 2010; Crockett y Vodavotz, 2011). Teniendo en cuenta que esas matrices dan lugar a masas más líquidas y que generan panes con deficientes características organolépticas, hay diversos estudios que presentan propuestas de mejora para ese tipo de producto. Según Bonet *et al.* (2006), incorporar proteínas en la industria alimentaria es una práctica muy común en formulaciones de distintos productos sin gluten y tiene como objetivo mejorar sus características de sabor, textura y calidad nutricional. Además presenta otras propiedades funcionales importantes, tales como, capacidad de retención de agua, unión de grasa, formación de espuma y gelificación, que hacen que se conviertan en una materia prima potencial para el desarrollo de una amplia variedad de productos alimenticios (Boye *et al.*, 2010). Markets & Markets (2017) nos enseña en su estudio que los alimentos enriquecidos en proteínas han crecido en los últimos años de acuerdo con el avance de la industria alimentaria y que se conseguirá un aumento del 6% en los próximos años a partir de 2018.

Kenny *et al.* (2001) y Gallaguer *et al.* (2003) estudiaron la incorporación de proteína de leche durante la formación de la masa de pan sin gluten y percibieron que hubo un aumento de la capacidad de retención de agua, disminución de la pegajosidad de la

masa (haciéndola más plástica) y mejora en la apariencia general y sensorial de los panes. Horstmann *et al.* (2017) caracterizaron las propiedades de proteínas de guisante, patata, soja, lupino y algarrobo, con la finalidad de vincular tales propiedades con las características de calidad del pan sin gluten elaborado en su estudio. Moore *et al.*, (2006) han evaluado la influencia de diferentes proteínas en combinación con los diferentes niveles de adición de transglutaminasa en la calidad del pan sin gluten. Los resultados que obtuvieron fueron aumento en el volumen del pan sin gluten, así como un incremento del número de poros gracias a la adición de huevo entero en polvo. También se concluyó que es posible formar una red de proteínas en pan sin gluten con la adición de la transglutaminasa, pero, su eficacia depende tanto de la fuente de proteína utilizada como del nivel de concentración de la enzima. Otros estudios de incorporación de proteínas en masas panaderas sin gluten han sido realizados por Gujral y Rosell (2004) y Marco *et al.*, (2007), al añadir proteínas (albúmina de huevo, suero de leche) o aislados proteicos (soja y guisantes) con intención de obtener panes con mejor calidad tecnológica y nutricionalmente enriquecidos.

Según los estudios de Bird *et al.* (2017), la adición de harina de garbanzo en proporciones bajas (2% p / p) aumentó el volumen de pan en un 20% y redujo la dureza de miga en un 40%. Se concluyó que esto fue debido a una mayor retención de gas y a una mayor homogeneidad de la red de almidón y proteína. En otro estudio, Horstmann *et al.* (2017), buscó correlacionar las propiedades de las proteínas de patata, guisante, algarroba, altramuz y soja con las características del pan, a partir de pruebas de solubilidad, emulsificación, formación de espuma y propiedades de hidratación del agua. Los resultados obtenidos fueron que la adición de proteína de patata y de soja resultó en el volumen más bajo con una estructura de miga densa y un bajo puntaje de aceptación del consumidor. Sin embargo, el altramuz, el guisante y la algarroba generaron un pan con volumen específico más alto y una estructura de miga más suave y menos densa. La solubilidad de la proteína y sus propiedades espumantes resultaron ser las propiedades proteínicas más importantes con correlaciones significativas con las propiedades de la masa y la calidad del pan.

Para determinar los efectos de las proteínas alternativas en un sistema de masa sin gluten tratado con hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), Crockett y Vodavotz (2011) añadieron aislado de proteína de soja al 1%, 2% y 3%, y también sólidos de clara de huevo al 5% 10% y 15%. Fue posible concluir que la adición de aislado de proteína de soja y clara de huevo en polvo (al 5% y 10%) redujo la estabilidad de la masa, lo cual disminuyó el agua disponible, debilitando las interacciones HPMC con la matriz de almidón y reduciendo la estabilidad de la espuma. Sin embargo, con un 15% de adición,

la clara de huevo se superaron las interacciones negativas con HPMC y mejoraron el volumen del pan.

En el estudio de Alvarez-Jubete *et al.* (2010) se estudiaron las propiedades de horneado de panes sin gluten añadidos de trigo sarraceno, amaranto, quinua y alforfón. Se encontraron aumentos significativos para el pan de trigo sarraceno y quinua, además de obtenerse un efecto más suave en la textura de la miga.

Un factor muy importante a tener en cuenta en la elaboración de productos sin gluten (principalmente en panes) es la cantidad de agua que se incorpora en la formulación. Renzetti y Arendt (2009) sugieren que una disminución en la consistencia de la masa mejora su desarrollo debido a una menor resistencia a la expansión durante la fermentación. Mientras tanto, Marco y Rosell (2008) sostienen que mayores consistencias conllevan a panes con mayor volumen, ya que un aumento en la viscosidad de la masa o batido aumenta la capacidad de retención del CO₂ formado durante la fermentación. Schober (2009) nos demuestra en su estudio que contenidos de agua (en base harina y/o almidón) de 70-80% producen masas de textura suave, pero con falta de elasticidad y extensibilidad, mientras que las masas elaboradas con contenidos de agua superiores a 90% producen masas de consistencia similar a un batido y dan lugar a panes muy densos y de escaso desarrollo. De este modo, se puede concluir que para obtener un pan de calidad parece clave la cantidad de agua añadida y que ha de ser cuidadosamente ajustada para obtener una consistencia de masa o batido adecuada. Establecer el contenido óptimo de agua para una formulación de pan sin gluten es importante ya que el contenido de agua, junto con las características de las harinas y el hidrocoloide añadido, determinarán los parámetros reológicos de las masas resultantes (Ronda *et al.*, 2013; Schober, 2009). Sin embargo, ninguno de los estudios sobre incorporación de proteínas explicados anteriormente tiene en cuenta este aspecto. Por lo tanto, queda un campo abierto para la investigación del efecto de proteínas de diferentes fuentes en la incorporación en panes sin gluten. Sahagún y Gomez (2018), ya estudiaron el efecto del nivel de hidratación en panes sin gluten enriquecidos con diferentes aislados proteicos (guisante, arroz, clara de huevo y suero). En su estudio se observaron diferentes comportamientos entre las proteínas animales y las proteínas vegetales, principalmente guisante y clara de huevo. En base a estos resultados, puede ser interesante estudiar el efecto sinérgico de ambas proteínas. Por tanto, el objetivo de este trabajo es:

-Estudiar el efecto de diferentes niveles de hidratación de las masas en el volumen de panes sin gluten enriquecidos con altos niveles (30%) de mezclas proteicas (guisante y clara de huevo).

-Estudiar las características de las masas y panes optimizados para un volumen específico de 5 cm³/g.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales.

Los ingredientes usados para la elaboración de los panes fueron almidón de maíz (Tereos, Zaragoza, España). Otros ingredientes fueron: azúcar refinado (AB Azucarera Iberia, Valladolid, España), aceite de girasol (Langosta, Ciudad Real, Spain), sal, HPMC 4KM JRS, Rosenberg, Alemania), proteína de guisante Nutralys F85M (Roquette, Leutrem, Francia), proteína de huevo (EPS S.P.A, Occhiobello, Italy), levadura y a(Dosu Maya Mayacilik A.Ş, Istanbul, Turkey) gua de la red local.

2.2. Métodos

2.2.1. Elaboración de los panes.

La fórmula utilizada para la elaboración de los panes se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Formulación base de la masa para la elaboración de los panes, medidos en g/100g de almidón o mezcla.

Ingredientes	Gramos
Almidón de maíz/ mezclas almidón-proteína	100
Azúcar	5
Aceite	6
HPMC	2
Sal	1,8
Levadura	3
Agua	variable

Todas las formulaciones fueron preparadas usando la misma proporción de ingredientes excepto para el agua, la cual fue añadida para para conseguir una modelización del volumen específico en función del nivel de hidratación. El almidón fue sustituido en un 30% por proteínas según las proporciones indicadas en la Tabla 2.

Tabla 2: Porcentajes de cada ingrediente en las mezclas almidón-proteína.

Mezclas	Almidón de maíz (%)	Proteína de guisante (%)	Proteína de clara de huevo (%)
CONTROL	100	0	0
100G	70	30	0
100H	70	0	30
50G50H	70	15	15
75G25H	70	22.5	7.5
25G75H	70	7.5	22.5

Para la elaboración de los panes, en primer lugar, se hidrató la levadura con el agua. El resto de los ingredientes (almidón, proteínas, sal, aceite, azúcar y hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) se batieron en una batidora Kitchen Aid Profesional 5KPM150 (Kitchen Aid, St. Joseph, Michigan, USA) durante 1 minuto a velocidad 2. Posteriormente, se añadió la mezcla de agua y levadura preparada anteriormente, y se continuó batiendo durante 8 minutos, a velocidad 4, con “raspado” intermedio. Este raspado es necesario ya que la masa se pega en los bordes de la batidora y no se queda totalmente homogeneizada. A continuación, se colocaron 150 g de masa en moldes de aluminio de dimensiones 126x76x39 mm, que se dejaron fermentar en una cámara fermentadora a 30°C y 90% de humedad durante 60 minutos. Al terminar la fermentación los panes se hornearon durante 40 min a 190 °C en un horno eléctrico SALVA. Tras el horneado, se dejaron enfriar a temperatura ambiente 1 hora para posteriormente guardarlos en bolsas de polietileno y almacenarlos 24 horas en una cámara atemperada a 30°C. Se realizaron dos elaboraciones por cada formulación.

2.2.2. Volumen específico

Para la obtención del volumen específico se midió el peso y el volumen de 6 panes de cada elaboración. El volumen se midió utilizando el analizador de volumen Volscan Profiler 300 (Microsystems, Surrey, UK). Una vez obtenido el peso y el volumen del pan se obtuvieron los volúmenes específicos (mL/g) utilizando la siguiente formula:

$$\text{Volumen específico} \left(\frac{\text{cm}^3}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Volumen (cm}^3\text{)}}{\text{Masa (g)}}$$

2.2.3. Modelización de la humedad para cada elaboración

Se realizó un barrido de humedades para cada formulación para modelizar el volumen específico frente a la humedad de las masas.

Para ello, se realizaron pruebas de humedad por cada 10% de agua añadida en la fórmula de los panes, hasta que se comprobase una caída de volumen. Luego, se hacía dos pruebas: una con 5% a más de agua y otra con 5% a menos, a fin de comprobar el volumen máximo del pan. De cada elaboración fueron medidos los volúmenes específicos de 6 panes y hecha una media de los valores. En base a esta modelización se calculó la humedad necesaria (humedad óptima) para cada formulación para obtener un volumen específico de $5 (\pm 0.5) \text{ cm}^3/\text{g}$. Todas las pruebas fueron hechas por duplicado.

2.2.4. Propiedades de la masa a humedad óptima.

El comportamiento reológico de las masas (sin levadura) se estudió con un reómetro de esfuerzo controlado Thermo Scientific Haake RheoStress1 (Thermo Fisher Scientific, Schwerte, Alemania). Las medidas fueron monitorizadas con el programa informático Rheowin Pro Job Manager (Thermo Fisher Scientific, Schwerte, Alemania) y para el análisis de datos se empleó el programa informático Rheowin Pro Data Manager (Thermo Fisher Scientific, Schwerte, Alemania). Para la medición se utilizó una geometría de platos paralelos de titanio de 60 mm de diámetro (PP60 Ti), de superficie rugosa, y un espacio entre platos de 3 mm. Con el objetivo de evitar la desecación de las muestras, se cubrió la superficie de masa expuesta al aire con vaselina Panreac (Panreac Química SA, Castellar del Vallés, España). La medición reológica de las masas, realizada a 25°C, consta de un ensayo de deformación y un ensayo de frecuencia. En primer lugar, se realizó un barrido de deformación de 0,1 a 100 Pa a una frecuencia de 1 Hz, con el fin de determinar la región viscoelástica lineal en cada muestra. Una vez definida la zona viscoelástica lineal se escogió un valor de esfuerzo dentro de la misma para realizar el barrido de frecuencias de 10 a 0,1 Hz. Para ambos barridos la masa se dejó reposar durante 300 segundos antes de iniciar el ensayo para eliminar las posibles tensiones residuales. Para caracterizar las diferentes masas se obtuvieron los valores de: módulo elástico (G' [Pa]), módulo viscoso (G'' [Pa]), tangente δ (G'/G'') para distintos valores de frecuencia (f [Hz]). Además, se emplea el valor de G^* , que se corresponde con el módulo complejo y es de grande importancia para que se conozca la consistencia de las masas.

2.2.5. Propiedades de los panes optimizados

La textura de la miga y de la corteza se determinaron utilizando un texturómetro TA-XT2 (Microsystems, Surrey, UK) con el software "Texture Expert". Una sonda de aluminio cilíndrica de 25 milímetros de diámetro fue utilizada para el ensayo de "Texture Profile Analysis" (TPA). Se realizó una prueba de compresión doble con una penetración al 50% de la profundidad de la muestra, una velocidad de 2 mm/s y un retardo de 30 segundos entre la primera y la segunda compresión. Dureza, elasticidad, cohesión, masticabilidad y resiliencia se calcularon a partir del gráfico TPA. Las mediciones se realizaron midiendo dos rebanadas centrales (con un grosor de 30 mm) de dos panes de cada elaboración. La textura se midió a las 24 horas y a los 5 días, con el objetivo de comparar los parámetros medidos y entender los cambios de textura con el paso del tiempo.

El color de los panes se midió a través del espectrofotómetro Minolta CN-508i (Minolta, Co. LTD, Tokio, Japón). Los resultados se obtuvieron usando un iluminador estándar D65 y observador estándar 2°, y se expresaron en el espacio de color CIE L*a*b*. El color de la corteza fue medido en dos puntos diferentes de dos panes de cada elaboración. El color de la miga se midió en el punto central de 2 rebanadas de cada pan, midiendo dos panes por cada elaboración. Todas las medidas constituyen la media integrada por una conjunción de 5 datos proporcionados por el equipo.

2.2.6. Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos fueron tratados estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA simple). El método utilizado para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel de significación del 95% ($p < 0,05$). Se empleó el software Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, USA).

3. Resultados y discusión

3.1. Modelización de humedad y volumen específico de los panes

En la Figura 1 se observan las curvas del volumen específico de los panes elaborados a medida que se modifica la hidratación de las masas. A partir de lo observado en la gráfica, es posible concluir que cada tipo de proteína utilizada tiene una capacidad de hidratación distinta, así como las mezclas en diferentes proporciones. Se observó también que las muestras control y las masas con mayores porcentajes de guisante presentaron curvas de volumen específico que bajan de manera pronunciada cuando se reduce el porcentaje de humedad en relación al volumen óptimo.

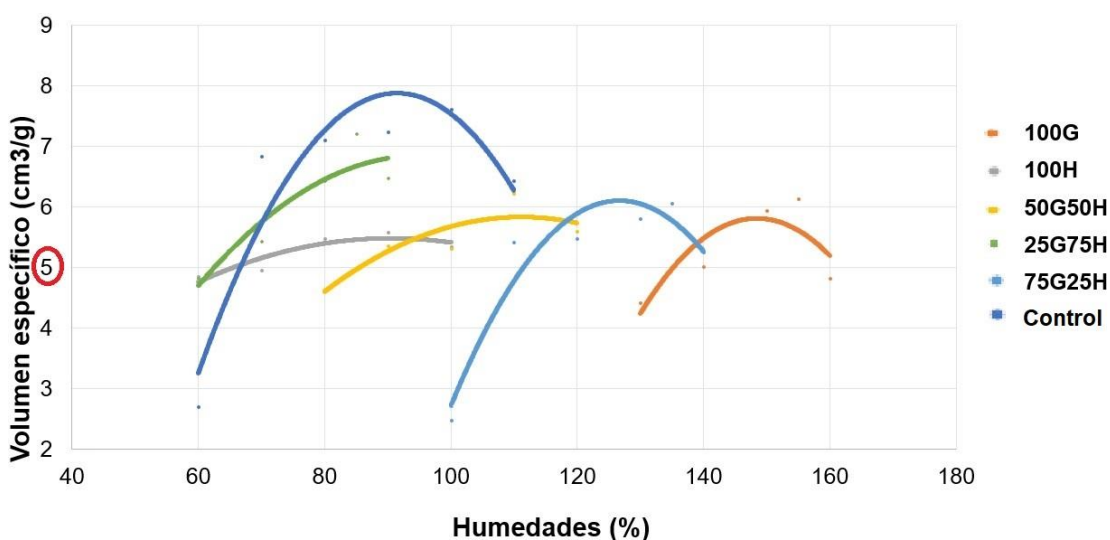


Figura 1. Modelización del volumen específico en función del nivel de hidratación de las formulaciones.

También se observa que a medida que se incrementa el porcentaje de proteína de guisante, mayores son las hidrataciones necesarias para conseguir el volumen óptimo, reduciéndose estas necesidades cuando predomina la proteína de huevo. Moore *et al.* (2006) informaron la formación de una fuerte red proteica al incorporar huevo en polvo en formulaciones libres de gluten y atribuyeron esta capacidad a las propiedades espumantes y emulsionantes que poseen las proteínas del huevo. Salazar *et al.*, 2004, proponen que esas propiedades emulsificantes aceleran el grado de gelatinización y solubilización de los almidones. Mientras las que contienen mayor proporción de proteína de guisante admiten más agua, las que tienen más proporción de proteína de huevo presentan un óptimo de hidratación similar entre ellas. Destaca la mezcla de 25% de guisante y 75% de huevo, ya que entre las mezclas proteicas es la que obtiene un

mayor volumen. Estas observaciones fueron consistentes con los estudios de Wang *et al.* (2002) y Gómez *et al.*, (2003).

3.2. Características de las masas.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la reología de las masas con la hidratación necesaria para conseguir un volumen específico óptimo de $5(\pm 0.5)$ cm³/g. Es posible observar que los valores de G' y G'' más altos corresponden al control, seguidos de las muestras con el 100% de proteína de guisante (100G). A medida que se aumenta el porcentaje de proteína de huevo descienden los valores de G' y G'', sin que haya diferencias significativas entre las masas con porcentajes de proteína de huevo superiores al 25% para la G' y el 50% para la G''. También se observa que a medida que se incrementa el porcentaje de proteína de huevo se incrementa el valor de Tg delta y que la masa de menor consistencia (G*) fue la muestra con 100% de proteína de huevo.

Tabla 3. Resultados reológicos de las masas de los panes elaborados.

MUESTRA	G' (Pa)	G'' (Pa)	G*	tg δ
Control	29771,3±26,5c	10837,5±24,7d	31877,5±17,7c	0,3±0,1a
100G	5678,0±152,8b	2231,2±481,2c	6251,5±1804,5b	0,4±0,1a
100H	48,3±29,6a	57,1±4,3a	62,5±48,9a	2,5±0,2d
50G50H	49,5±7,1a	45,3±2,1a	68,3±8,3a	0,9±0,1c
75G25H	1592,0±340,0b	617,9±136,8b	1708,2±367,3b	0,4±0,1 a
25G75H	711,9±4,9a	496,8±50,6ab	871,6±32,6a	0,7±0,1b

G': Módulo elástico. G'': Módulo viscoso. G: Módulo consistencia. tg δ: Tangente de pérdida. Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no presentan diferencias significativas (p<0,05).*

3.3. Propiedades de los panes.

3.3.1. Medida del color de los panes.

Los parámetros de color observados en ese estudio fueron: L*, a* y b*. La coordenada L* recibe el nombre de luminosidad y a* y b* son las coordenadas colorimétricas que forman un plano perpendicular a la luminosidad, siendo, a su vez, perpendiculares entre sí (Figura 2). El corte del eje L* con el plano que forman a* y b* es el punto acromático. El valor a* es una medida de la intensidad de color rojo, hacia valores positivos se

observan los colores rojos y para valores negativos, los verdes. El valor b^* es una medida de la intensidad de color amarillo, hacia valores positivos se observan los amarillos, y para valores negativos, los azules (Figura 2).

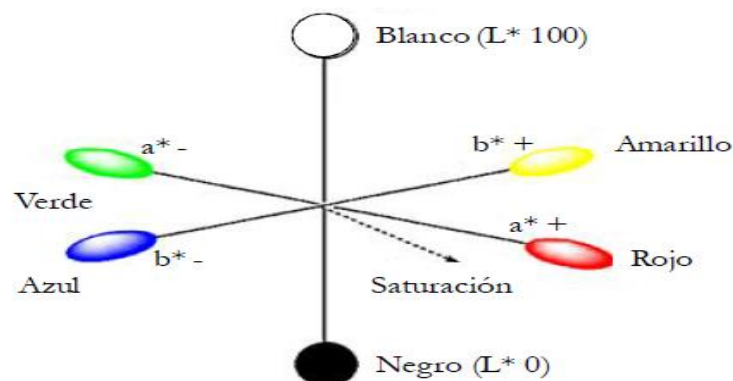


Figura 2. Representación gráfica del espacio CIE Lab.

En cuanto a la luminosidad (L^*) de las cortezas fue modificado por la incorporación de las proteínas de los panes (tabla 4). Se observa que el pan con mayor valor de ese parámetro es el control, con diferencias significativas con todos los otros panes, mientras que a^* aumentó bien cómo se puede comprobar apreciándose la Figura 3. Este efecto podría ser debido a las reacciones de Maillard y de caramelización producidas en el horneado, las cuales están influidas por la distribución del agua y las reacciones (Kent y Evers, 1994). El oscurecimiento global como resultado de la incorporación de las proteínas es un efecto deseable, ya que los panes libres de gluten -ricos en arroz o almidones- tienen valores de L^* mayores que los panes de trigo ($L^*=38$) (Gallagher et al., 2003). Por otro lado, se aprecia que a medida que se aumenta la cantidad de proteína de huevo, crece también el valor de la luminosidad del pan, sin haber diferencias significativas entre las muestras con mayores porcentajes (100H y 25G75H). Es posible observar también que, a partir de 50% de proteína de guisante añadida, se aumenta también la luminosidad de la corteza, sin que haya diferencias significativas entre ellas. En el parámetro b^* se aprecia que no hay diferencias significativas entre ninguna de las muestras.

Tabla 4. Parámetros de color de la corteza de los panes elaborados con distintas mezclas proteicas. L*: luminosidad; a*: coordenadas rojo/verde; b*: coordenadas amarillo/azul.

MUESTRA	L*c	a*c	b*c
Control	86,3±2,7c	1,8±1,3a	16,5±2,6a
100G	44,6±1,7ab	12,5±0,2bc	15,1±1,7a
100H	47,3±0,71b	14,7±1,9bc	13,5±0,7a
50G50H	42,5±0,2a	12,1±1,1b	9,99±2,2a
75G25H	41,9±1,0a	13,8±0,7bc	11,3±0,1a
25G75H	46,6±0,3b	14,9±0,1c	16,6±0,5a

Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$).

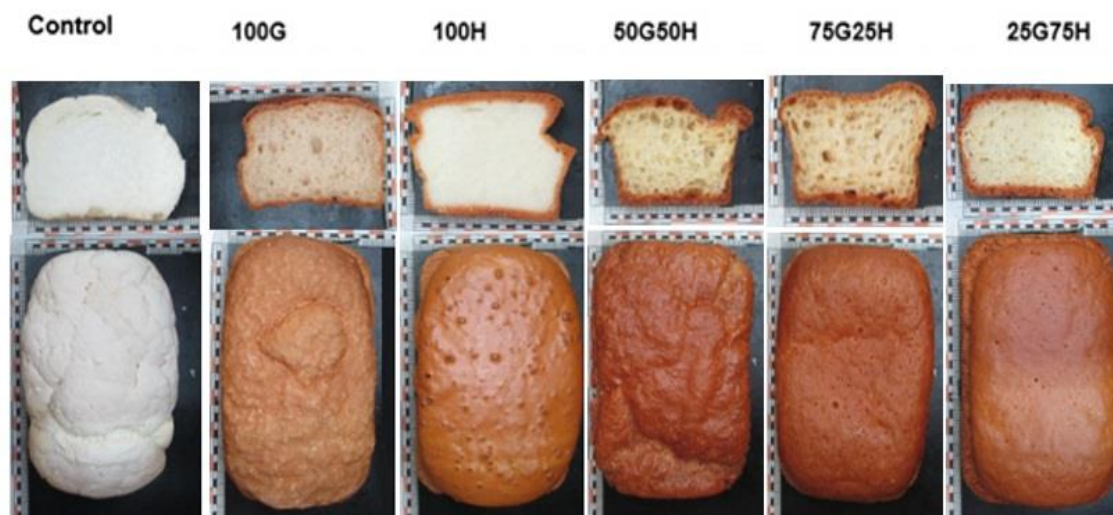


Figura 3. Fotos de los 6 panes elaborados y sus respectivas migas.

La Tabla 5 muestra los resultados de color de la miga de los panes obtenidos. El valor L* resultó mayor en el control y en los panes 25G75H y 100H, sin diferencias significativas entre ellos. Mientras que as muestras con mayor contenido de proteína de guisante (100G y 75G25H) poseen menor valor cuanto al mismo parámetro, también sin diferencias significativas entre ellas. La misma tendencia se observó con el valor a*, también sin diferencias significativas entre ellas. En el caso de esos panes se puede decir que se acercaron más al color rojo, basándose en la representación gráfica del espacio CIE Lab (Figura 2). Por otro lado, las muestras 75G25H, 50G50H y 100G no

tienen diferencias significativas para el parámetro b^* y se percibe una intensidad mayor del color amarillo, también basándose en Figura 2. En general el color de la miga está relacionado con el color de las harinas (Gómez et al., 2011). Eso porque en las migas de los panes no se producen reacciones de Maillard ya que la temperatura alcanzada en el interior del pan es menor de la propia a la que ocurren estas reacciones. Por ello, las diferencias de color en la miga entre los panes se deben fundamentalmente al color de los propios ingredientes (Gómez et al., 2003).

Tabla 5. Parámetros de color de la miga de los panes elaborados con distintas mezclas proteicas. L^* : luminosidad; a^* : coordenadas rojo/verde; b^* : coordenadas amarillo/azul.

MUESTRA	L^*m	a^*m	b^*m
Control	80,5±1,4c	-1,5±0,1bc	5,2±1,4a
100G	64,1±1,3b	1,6±0,1d	12,6±1,8bc
100H	76,3±1,5bc	-2,7±0,3a	11,3±1,3b
50G50H	54,1±1,5a	-0,7±0,2cd	9,5±1,5ab
75G25H	59,4±1,7ab	-0,4±0,1d	11,2±0,9b
25G75H	71,8±1,6c	-1,6±0,2b	16,2±0,3c

Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$).

3.3.2. Medida de textura de los panes.

Por lo general la dureza de los panes sin gluten es mayor a su elasticidad lo que limita la posibilidad de migas esponjosas (Rivera, 2015). En cuanto a la dureza de los panes (tabla 6) se observa que los panes más duros son los obtenidos con proteína de huevo, descendiendo la dureza a medida que se incrementa el porcentaje de proteína de guisante. Según Moore *et al.* (2006), eso puede ocurrir por la fuerte red proteica que se forma al se incorporar proteínas de huevo en formulaciones libres de gluten. Es el estudio de ellos se añadió juntamente con el huevo la transglutaminasa como enzima polimerizante, pero todavía se percibió la formación de una red proteica antes mismo de la incorporación de la enzima y que esta capacidad se debe a las propiedades espumantes y emulsionantes de las proteínas del huevo. El control presenta mayor dureza que los panes con proteína de guisante al 100%, pero similar al de las mezclas 50G50H y 75G25H (no hay diferencias estadísticamente significativas). Los panes con 100% de proteína de huevo también destacan por ser más cohesivos y elásticos que los otros, y por tener mayor resiliencia, sin que existan diferencias significativas entre los demás. El hecho de que el pan con mayor contenido de proteína de huevo sea el más

elástico está asociado a que se necesite mayor esfuerzo para causar una deformación, mientras que la baja elasticidad de los de proteína de guisante se sabe es causa de su fácil deformación (Rivera, 2015). La masticabilidad es mayor en los panes elaborados con mayor contenido de proteína de huevo, 100H y 25G75H, mientras que no hay diferencias significativas entre los otros 4 panes. Se aprecia que a medida que se aumenta el porcentaje de proteína de huevo, crece los valores de masticabilidad (25% < 50% < 75% < 100% de proteína).

Tabla 6. Parámetros de textura de la miga de los panes, a 24h de la elaboración.

MUESTRA	Dureza/24h (N)	Elasticidad/ 24h	Cohesividad/ 24h	Masticabilidad/ 24h	Resiliencia/24h
Control	9,0±1,5bc	0,9±0,1a	0,5±0,1a	417,5±50,6a	0,3±0,1ab
100G	1,4±0,4a	0,96±0,1a	0,5±0,1a	66,9±12,1a	0,2±0,1ab
100H	22,1±1,7a	1,33±0,1b	0,6±0,1b	1887,2±121,8b	0,3±0,1b
50G50H	9,6±0,8c	0,98±0,1a	0,4±0,01a	390,8±14,9a	0,2±0,1a
75G25H	5,0±0,7ab	1,02±0,1a	0,4±0,1a	215,2±44,6a	0,2±0,1a
25G75H	28,6±3,2e	1,13±0,3ab	0,5±0,1a	1630,5±723,6b	0,2±0,1a

Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$).

A los 5 días de almacenamiento (tabla 7) también se observa que los panes con proteína de guisante son los más blandos, y que la presencia de proteína de huevo incrementa la dureza. Según Sciarini (2012), el aumento de la dureza de la miga con el pasar del tiempo es un fenómeno en el que influyen diversos factores. La pérdida de humedad de la miga junto con las interacciones almidón-almidón que se establecen con el tiempo son dos de los mecanismos admitidos como básicos. Para conocer el efecto de las proteínas sobre el endurecimiento del pan, Gerrard *et al.* (2001) evaluaron la incorporación de distintos niveles y tipos de proteínas sobre panes elaborados a base de almidón de trigo, a un volumen específico comparable. Los resultados obtenidos fueron que la velocidad de endurecimiento no se veía afectada por la concentración ni por el tipo de proteína incorporada. Así, concluyeron que el proceso de endurecimiento no es afectado de manera crítica por las proteínas añadidas. Por lo contrario, Mezaize *et al.* (2009) estudió que la incorporación de huevo afectó la dureza de la miga, aumentándola respecto al pan control. Estos resultados concuerdan con nuestro estudio.

Sin embargo, los panes más elásticos, cohesivos y resilientes son los del control, aunque sin diferencias significativas frente a los de 100H para la cohesividad y

resiliencia y a los de 50G50H para la elasticidad; sin que existan diferencias significativas para el resto de las muestras en estos parámetros. El perfil de masticabilidad ha cambiado al cabo de 5 días de almacenamiento, donde la muestra con 75% de proteína de huevo tiene el mayor valor, con diferencias significativas con los otros panes.

Tabla 7. Parámetros de textura de la miga de los panes, a 5 días de la elaboración.

Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no presentan diferencias significativas

MUESTRA	Dureza/ 5días	Elasticidad/ 5días	Cohesividad/ 5días	Masticabilidad / 5días	Resiliencia/ 5días
Control	16,2±0,6b	1,4±0,2c	0,7±0,1c	1426,2±155,1c	0,3±0,1c
100G	2,7±0,9a	0,9±0,1ab	0,3±0,1a	84,5±21,7a	0,1±0,1a
100H	39,8±0,2c	0,9±0,1ab	0,6±0,1bc	1097,0±104,1c	0,3±0,1bc
50G50H	15,7±0,4b	1,1±0,2bc	0,3±0,1a	567,3±115,5b	0,2±0,1ab
75G25H	6,3±1,1a	0,9±0,1ab	0,4±0,1a	182,7±33,4ab	0,1±0,1a
25G75H	58,0±3,2d	0,7±0,1a	0,5±0,2ab	2051,9±345,9d	0,3±0,1a

(p<0,05).

En la Figura 4 se observa que los panes que poseen alveolos más pequeños y numerosos son los de proteína de huevo al 100%, aumentándose el tamaño de los alveolos a medida que se incrementa el porcentaje de proteína de guisante. Todavía, se aprecia también que el pan con 100% de proteína de guisante no sigue la misma característica de las mezclas y presenta un alveolado más fino, similar al del control. Durante el almacenamiento, el pan tiende a perder gradualmente su frescura, y las alteraciones más perceptibles incluyen la pérdida de la característica crujiente de la corteza, el aumento de la dureza y la disminución de la elasticidad de la miga. Esto coincide con lo observado en los resultados obtenidos. El desarrollo de la dureza de la miga con el tiempo es un fenómeno en el que influyen diversos factores y la pérdida de humedad de la miga junto con la recristalización de la amilopectina del almidón (asociaciones entre las cadenas) son dos de los mecanismos más aceptados (Kulp y Ponte, 1981; Gray y BeMiller, 2003).

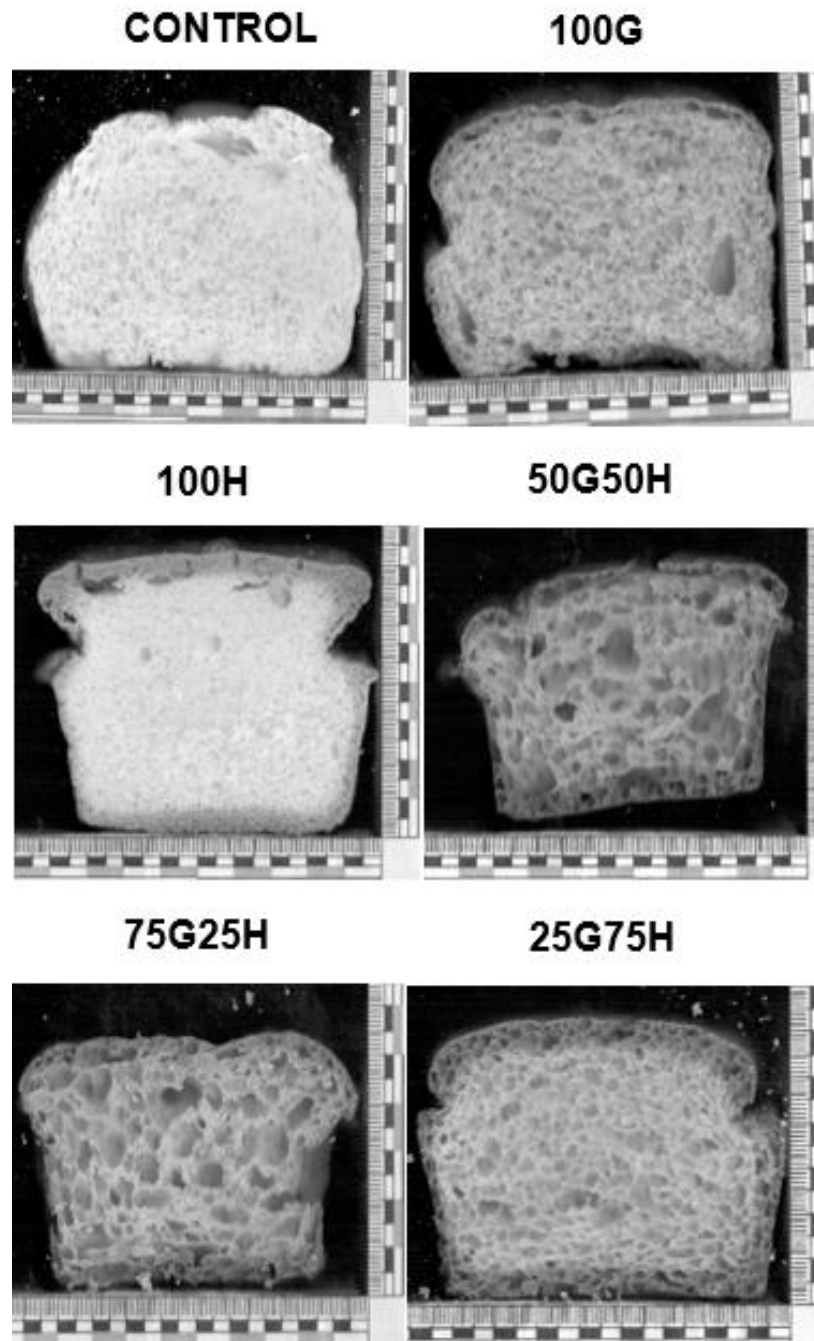


Figura 4. Estructura interna de las migas de los panes elaborados.

4. Conclusiones

El desarrollo de nuevos productos, y concretamente de panes sin gluten de calidad, sigue siendo un reto tecnológico. A partir de los resultados obtenidos, se puede concluir que el nivel de hidratación tiene un efecto considerable en el volumen de los panes. Además, diferentes formulaciones requieren diferentes niveles de hidratación, lo cual es un aspecto muy a tener en cuenta a la hora de elaborar panes sin gluten. Por otro lado,

en este estudio también se ha observado que cuando se añaden mezclas proteicas de proteínas de guisante y clara de huevo en panes sin gluten, dichas proteínas presentan un comportamiento sinérgico. Así, los efectos de cada proteína son compensados y nos permite obtener panes con una dureza similar al control (cuando el nivel de ambas proteínas es el mismo).

5. Agradecimientos

Quiero aprovechar estas líneas para agradecer a todas las personas que me han ayudado y me han apoyado a lo largo de estos meses por la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de Palencia. También agradecer a mis compañeros de clase que me han ayudado en todo lo posible y que desde el principio me han acogido muy bien. No quería pasar por alto la oportunidad de agradecer a todos los profesores que he tenido durante el curso del Máster, con una mención especial para mi tutor, Sr. Manuel Gómez Pallarés y para las doctorandas que tanto me ayudarán por todo el camino hasta aquí: Marta Sahagún Carabaza, Ángela Bravo Núñez y Mayara Lopes da Silva Belório. Un agradecimiento especial a mis amigos Cecilia Madrona y Danilo Gonçalves, que me incentivaron y no me dejaron renunciar a mis metas en un ningún momento, gracias por el apoyo. Por todo esto quiero daros las gracias.

6. Referencias bibliográficas

Alvarez-Jubete, L., Auty, M., Arendt, E., Gallagher E. (2010). Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *European Food Research and Technology*, 230, 437–445.

Báscones, G. (2017). Estudio de enriquecimiento proteico de bizcochos (Trabajo fin de máster). Universidad de Valladolid, España.

Berry, T. K., Yang, X., & Foegeding, E. A. (2009). Foams prepared from whey protein isolate and egg white protein. *Journal of Food Science*, 74, E269-E277.

Bird, L., Pilkington, L., Saputra, A., Serventi, L. (2017). Products of chickpea processing as texture improvers in gluten-free bread. *Food Science and Technology International*, 8, 23.

Bonet, A., Blaszczyk, 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. I., Zare, F., Pletch, A. (2010). Pulse proteins: processing, characterization, functional, properties and applications in food and feed. *Food Research International* 43, 414-31.

Brites, C., Trigo, M.J., Santos, C., Collar, C., Rosell, C.M. (2010). Maize-based gluten-free bread: Influence of processing parameters on sensory and instrumental quality. *Food Bioprocess and Technology* 3, 707-715.

Calle, Jennahara. (2017) Sobre las "bondades" de los alimentos sin gluten. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 27, 483-487.

Catassi, C. & Fasano, A. (2008). Celiac disease. *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*, 6, 1–27.

Chou, D. H., & Morr, C. V. (1979). Protein-water interactions and functional properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56, A53-A62.

Crockett, R., Vodavotz, Y. (2011). Effects of soy protein isolate and egg white solids on the physicochemical properties of gluten-free bread. *Food Chemistry* 129, 84–91

Demirkesen, I., Mert, B., Sumnu, G., Sahin, S. (2010). Rheological properties of gluten-free bread formulations. *Journal of Food Engineering* 96, 295- 303.

Dickinson, E. (2017). Biopolymer-based particles as stabilizing agents for emulsions and foams. *Food Hydrocolloids*, 68, 219-231.

Elton, G. (1969). Some quantitative aspects of bread staling. *Baker's Digest*, 43, 24-27.

Federación de Asociaciones de Celíacos de España (FACE). Acceso en 10 de junio de 2018. (<https://www.celiacos.org/enfermedad-celiaca.html>)

Gallagher, E., Gormley, T.R., Arendt, A.K. (2003). Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering*, 56, 153-161.

Gallagher, E., Kunkel, A., Gormley, T.R., Arent, E.K. (2003). The effect of dairy and rice powder addition on loaf and crumb characteristics, and shelf life (intermediate and long-term) of gluten-free stored in a modified atmosphere. *European Food Research and Technology*, 218, 44-48.

Gerrard, J.A., Abbot, R.C., Newberry, M.P., Gilpin, M.J., Ross, M., Fayle, S.E. (2001). The effects of non-gluten proteins on the staling of bread. *Starch/Stärke*, 53, 278-280.

Gómez, M., Jiménez, S., Ruiz, E., Oliete, B. (2001). Effect of extruded wheat bran on dough rheology and bread quality. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 2231-2237.

Gómez, M., Ronda, F., Blanco, C., Caballero, P. (2003). Effect of dietary fibre on dough rheology and bread quality. *European Food Research and Technology*, 216, 51-56.

Gray, J.A., BeMiller, J.N. (2003). Bread staling: Molecular basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 1-20.

Gujral, H., Haros, M., Rosell, C.M. (2004). Improving the texture and delaying staling in rice flour chapati with hydrocolloids and alfa amylase. *Journal Food Engineering* 65, 89-94.

Gujral, H., Rosell, C.M. (2004). Functionality of rice flour modified by microbial transglutaminase. *Journal Cereal Science* 39, 225-230.

Horstmann, S. W., Foschia, M., Arendt, E. K. (2017). Correlation analysis of protein quality characteristics with gluten-free bread properties. *Food & Function*, 7, 7-8.

Inglett, G.E., Xu, J., Stevenson, D.G., & Chen, D. (2009). Rheological and pasting properties of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) flours with and without jet-cooking. *Cereal Chemistry*, 86, 1–6.

Jaekel, L.Z., Schons, P.F., Rodrigues, R.S., Silva, L.H. (2004). Caracterização físico-química e avaliação sensorial de biscoito tipo “cookies” com grãos de soja. En: *Congresso de Iniciação Científica*, 8.

Kenny, S., Wehrle, K., Auty, M., Arendt, E.K. (2001). Influence of sodium caseinate and whey protein on baking properties and rheology of frozen dough. *Cereal Chemistry*, 78, 458-463.

Kent, N.L., Evers, A.D. (1994). Bread-baking technology. *Kent's technology of Cereals*, 4, 191-217.

Kohajdová, Z., Karovičová, J., & Magala, M. (2013). Rheological and qualitative characteristics of pea flour incorporated cracker biscuits. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 5, 11-17.

Krupa, U., Rosell, C.M., Sadowska, J., Soral-Śmietana, M. (2010). Bean starch as ingredient for gluten free bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34, 501-518.

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

Marco, C., Pérez, G., Ribotta, P., Rosell, C.M. (2007). Effect of microbial transglutaminase on the protein fractions of rice, pea and their blends. *Journal of Science Food Agriculture*, 87, 2576–2582.

Marco, C., Rosell, C. M. (2008). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227, 1205-1213.

Markets & Markets (2017). <http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/protein-ingredients-market-114688236.html> (Consultado el 23/06/2018).

Matos, M. E. (2013). Formulación y desarrollo de productos horneados libres de gluten a base de harina de arroz enriquecidos con proteínas (Tesis doctoral). Universidad Politècnica de València, España.

Maureen, M., Sapone, A., Catassi, C., Fasano, A. (2017) Enfermedad celiaca y sensibilidad al gluten no celiaca *JAMA* 318, 647-656.

McCarthy, D.F., Gallagher, E., Gormley, T.R., Schober, T.J., Arendt, E.K. (2005). Application of response surface methodology in the development of gluten-free bread. *Cereal Chemistry*, 82, 609-615.

Mezaize, S., Chevallier, S., Le Bail, A., de Lamballerie, M. (2009). Optimization of glutenfree formulations for french-style breads. *Journal of Food Science*, 74, 140-146.

Molina-Rosell C. (2013). Alimentos sin gluten derivados de cereales. Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca. *Omnia Science*, 1, 447-461.

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.

Moore, M.M., Schober, T.J., Dockery, P., Arendt, E.K., (2004). Textural comparison of gluten free and wheat-based doughs, batters and breads. *Cereal Chemistry*, 81, 567-575.

Onyango, C., Mutungi, C., Unbehend, G., Lindhauer, M. G, (2011). Modificación de la pasta y el pan de sorgo sin gluten usando almidón de maíz, papa, yuca o arroz. *Food Sci Technol* 44, 681 – 686.

Pagliarini, E., Laureati, M., Lavelli, V. (2010). Sensory evaluation of glutenfree breads assessed by a trained panel of celiac assessors. *European Food Research and Technology* 231, 37-46.

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.

Purlis, E. (2010). Browning development in bakery products—A review. *Journal of Food Engineering*, 99, 239-249.

Renzetti, S., Arendt, E. K. (2009). Effect of protease treatment on the baking quality of brown rice bread: From textural and rheological properties to biochemistry and microstructure. *Journal of Cereal Science* 50, 22-28.

Rivera, J. O. (2015). Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten (Trabajo fin de máster). Universidad de Valladolid, España.

Rodríguez, P. (2015). Elaboración de galletas sin gluten con mezclas de harina de arroz - almidón-proteína (Trabajo fin de máster). Universidad de Valladolid, España.

Ronda, F., Pérez-Quirce, S., Angioloni, A., Collar, C. (2013). Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behaviour of gluten-free formulated rice doughs: A fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids* 32, 252-262.

Rosell, C., Rojas, J., Benedito, C. (2001). Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids* 15:75.

Sabanis, D., Lebesi, D., Tzia, C. (2009). Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread. *Food Science and Technology* 42, 1380 –1389.

Sahagún, M., Bravo-Núñez, Á., Báscones, G., & Gómez, M. (2018). Influence of protein source on the characteristics of gluten-free layer cakes. *LWT*, 94, 50–56.

Sahagún, M., & Gómez, M. (2018). Assessing influence of protein source on characteristics of gluten-free breads optimising their hydration level. *Food and Bioprocess Technology*.

Salazar, E., Álvarez, L. (2001). Características objetivas y subjetivas en la evaluación de panes elaborados con harinas compuestas de trigo (*Tricicum vulgare*), yuca dulce (*Manihot esculenta*) y subproductos amiláceos del maíz (*Zea mays*). *SABER*, 13, 50-54.

Salazar, E., Salazar, D., Fleming, A. (2004). Effect of corn starch and egg albumin on the rheological, functional and nutritional properties of wheat/ bitter cassava flour baking mixtures. *SABER*, 16, 45-50.

Sciarini, L.S., Ribotta, P.D., León, A.E., Pérez, G.T. (2010). Influence of glutenfree flours and their mixtures on batter properties and bread quality. *Food Bioprocess Technology* 3, 577–585.

Schober, T.J. (2009) Manufacture of gluten-free specialty breads and confectionery products. *Gluten-free food science and technology*: 130-180.

Sciarini, L.S., Ribotta, P.D., León, A.E., Pérez, G.T. (2012). Influence of enzyme active and inactive soy flours on cassava and corn starch properties. *Starch/Stärke*: 64, 126-135.

Sluimer, P. (2005). *Principles of Breadmaking*, AACC, St. Paul.

Storck, C. R., da Rosa Zavareze, E., Gularte, M.A., Elias, M.C., Rosell, C. M., Dias, A. (2013). Protein enrichment and its effects on gluten-free bread characteristics. *LWT-Food Sci Technol* 53, 346–54.

Torbica, A., Hadnadev, M., Dapčević, T. (2010). Rheological, textural and sensory properties of gluten-free formulations based on rice and buckwheat flour. *Food Hydrocolloids* 24, 626-632.

Toews, R., Wang, N. (2013). Physicochemical and functional properties of protein concentrates from pulses. *Food Research International* 52, 445-51.

Wang, J., Rosell, C., Benedito, C. (2002). Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, 79, 221–226.

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