



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**  
**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA**  
**AGROINDUSTRIAL**

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE GOMA DE SEMILLA DE  
TAMARINDO Y SU FUNCIONALIDAD COMO ESTABILIZANTE EN  
EMULSIONES**

**TESIS**

**Que como requisito parcial  
para obtener el grado de:**

**Doctor en Ciencias Agroalimentarias**

**Presenta:**

**Guadalupe Crispín Isidro**



**DIRECCION GENERAL ACADEMICA  
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**

**Bajo la supervisión de: Dra. Consuelo S. O. Lobato Calleros**



**DCA**

Doctorado en Ciencias Agroalimentarias

Chapingo, Estado de México, mayo de 2019

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE GOMA DE SEMILLA  
DE TAMARINDO Y SU FUNCIONALIDAD COMO  
ESTABILIZANTE EN EMULSIONES**

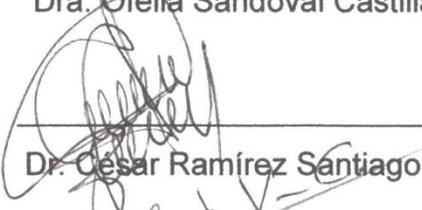
Tesis realizada por (**GUADALUPE CRISPÍN ISIDRO**) bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS**

DIRECTORA:   
Dra. Consuelo S. O. Lobato Calleros

CO-DIRECTORA:   
Dra. Landy Hernández Rodríguez

ASESORA:   
Dra. Ofelia Sandoval Castilla

ASESOR:   
Dr. César Ramírez Santiago

LECTOR EXTERNO:   
Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter

## CONTENIDO

INDICE DE CUADROS.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
<b>1. INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1 <i>Tamarindus indica</i> L.....	3
2.2 Goma de semilla de tamarindo: composición y estructura .....	4
2.3 Semilla de tamarindo y su pericarpio: contenido de antioxidantes	6
2.4 Métodos de extracción de la goma de semilla de tamarindo .....	7
2.5 Purificación de gomas .....	7
2.6 Propiedades fisicoquímicas de la goma de semilla de tamarindo.	8
2.7 Propiedades reológicas de la goma de semilla de tamarindo.....	9
2.8 Emulsiones .....	10
2.9 Capacidad emulsificante de la goma de semilla de tamarindo ....	11
2.10 Literatura citada.....	12
<b>3. INFLUENCIA DE LA PURIFICACIÓN SOBRE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y EMULSIFICANTES DE GOMA DE SEMILLA DE TAMARINDO .....</b>	<b>16</b>
3.1 Resumen .....	16
3.2 Abstract.....	17
3.3 Introducción.....	18
3.4 Materiales y métodos .....	20
3.4.1 Materiales .....	20
3.4.2 Extracción de la goma de semilla de tamarindo. ....	20
3.4.3 Rendimiento de la GST.....	23
3.4.4 Caracterización fisicoquímica de la GST .....	23

<b>Composición química.....</b>	<b>23</b>
<b>Color de la GST.....</b>	<b>23</b>
<b>Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (IFTR) .....</b>	<b>24</b>
<b>Análisis termogravimétrico (ATG).....</b>	<b>24</b>
<b>Potencial Zeta (<math>\zeta</math>) y tamaño de partícula.....</b>	<b>24</b>
<b>Mediciones de viscosidad.....</b>	<b>25</b>
<b>Ángulo de contacto y tensión interfacial.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4.5 Preparación de las emulsiones.....</b>	<b>26</b>
<b>3.4.6 Caracterización de las emulsiones.....</b>	<b>26</b>
<b>3.4.7 Análisis de datos.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5 Resultados y discusión.....</b>	<b>28</b>
<b>3.5.1 Composición química y rendimiento de las gomas.....</b>	<b>28</b>
<b>3.5.2 Color.....</b>	<b>30</b>
<b>3.5.3 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (IFTR) .....</b>	<b>31</b>
<b>3.5.4 Análisis termogravimétrico (ATG).....</b>	<b>35</b>
<b>3.5.5 Potencial Zeta (<math>\zeta</math>) y diámetro hidrodinámico .....</b>	<b>36</b>
<b>3.5.6 Viscosidad aparente .....</b>	<b>37</b>
<b>3.5.7 Humectabilidad de películas de GST .....</b>	<b>39</b>
<b>3.5.8 Tamaño de gota de emulsiones y viscosidad aparente. ....</b>	<b>42</b>
<b>3.6 Conclusiones .....</b>	<b>48</b>
<b>3.7 Literatura citada.....</b>	<b>49</b>

## **INDICE DE CUADROS**

<b>Cuadro 1.</b> Rendimiento y características fisicoquímicas de la goma de semilla tamarindo (base seca) sometida a diferentes procesos de purificación.....	30
<b>Cuadro 2.</b> Valores máximos y contenido relativo de los componentes de la estructura secundaria de la proteína presente en las gomas de semillas de tamarindo, obtenidas de la deconvolución espectral de la región amida I .....	33
<b>Cuadro 3.</b> Valores medios de los parámetros del modelo de Ellis de goma de semilla de tamarindo.....	39
<b>Cuadro 4.</b> Velocidad de cremado, potencial $\zeta$ y viscosidad de emulsiones .....	45

---

**INDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> a) Fruto y b) semillas del árbol de tamarindo.....	4
<b>Figura 2.</b> Estructura de la goma de la semilla de tamarindo (Khounvilay & Sittikijyothin, 2012).....	6
<b>Figura 3.</b> Diagrama de flujo mostrando las diferentes etapas de este estudio.....	22
<b>Figura 4.</b> Color de las gomas de semilla de tamarindo (GST) en polvo de acuerdo a su grado de purificación; GST <sub>PB</sub> (purificación baja), GST <sub>PM</sub> (purificación media) y GST <sub>PA</sub> (purificación alta).....	31
<b>Figura 5.</b> Espectro IFTR de las gomas de semilla de tamarindo (GST) de acuerdo a su grado de purificación; GST <sub>PB</sub> (purificación baja), GST <sub>PM</sub> (purificación media) y GST <sub>PA</sub> (purificación alta).....	32
<b>Figura 6.</b> Deconvolución del área de la amida I de las gomas de semilla de tamarindo (GST), a) GST <sub>PB</sub> (purificación baja), b) GST <sub>PM</sub> (purificación media) y c) GST <sub>PA</sub> (purificación alta).....	34
<b>Figura 7.</b> Termograma ATG de las gomas de semilla de tamarindo (GST); GST <sub>PB</sub> (purificación baja), GST <sub>PM</sub> (purificación media) y GST <sub>PA</sub> (purificación alta).....	35
<b>Figura 8.</b> Dependencia de la viscosidad aparente- tasa de corte de soluciones de la goma de semilla de tamarindo (GST); GST <sub>PB</sub> (purificación baja), GST <sub>PM</sub> (purificación media) y GST <sub>PA</sub> (purificación alta), a 1.5 y 2.0 % de concentración.....	38
<b>Figura 9.</b> Dinámica de absorción de tensión interfacial en la interface aceite-agua de gomas de semilla de tamarindo (GST), GST <sub>PB</sub> (purificación baja), GST <sub>PM</sub> (purificación media) y GST <sub>PA</sub> (purificación alta) a 0.1 % de concentración.....	41
<b>Figura 10.</b> Morfología inicial y distribución de tamaño de gota de emulsiones (E) con goma de semilla de tamarindo (GST) como agente emulsificante; E <sub>PB</sub> (emulsión con GST de purificación baja), E <sub>PM</sub> (emulsión con GST de purificación	

media) y E<sub>PA</sub> (emulsión con GST de purificación alta), a 1.5 y 2.0 % de concentración. Ampliación de 100 x. Barra de escala =10  $\mu\text{m}$ .....44

**Figura 11.** Variación media del tamaño de gota de las emulsiones durante 21 días de almacenamiento a 4 °C adicionadas con goma de semilla de tamarindo (GST) como agente emulsificante; E<sub>PB</sub> (emulsión con GST de purificación baja), E<sub>PM</sub> (emulsión con GST de purificación media) y E<sub>PA</sub> (emulsión con GST de purificación alta), a 1.5 y 2.0 % de concentración.....46

## LISTA DE ABREVIATURAS

GST	Goma de semilla de tamarindo
GST <sub>PA</sub>	Goma de semilla de tamarindo con grado de purificación alta
GST <sub>PM</sub>	Goma de semilla de tamarindo con grado de purificación media
GST <sub>PB</sub>	Goma de semilla de tamarindo con grado de purificación baja
GSP	Goma de semillas de plantas
SIAP	Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera
E <sub>PA</sub>	Emulsión elaborada con GST con grado de purificación alta
E <sub>PM</sub>	Emulsión elaborada con GST con grado de purificación media
E <sub>PB</sub>	Emulsión elaborada con GST con grado de purificación baja
DE	Desviación estándar
mg	miligramos
CTP	Contenido total de polifenoles
CTF	Contenido total de flavonoides
CTT	Contenido total de taninos
EAG	equivalentes de ácido gálico
g	gramos
MBS	materia en base seca
Q	quercetina
AT	ácido tánico
C	catequina
IFTR	Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier
ATG	análisis termogravimétrico
CE	capacidad emulsificante
CIH	cromatografía de interacción hidrofóbica

## DEDICATORIAS

“El esfuerzo en conjunto rinde más frutos”

¡Dedicado a mi familia, amig@s, compañer@s que me apoyaron  
incondicionalmente!

¡A ti pequeña niña que siempre me motivas a seguir adelante!

**¡Te amo, Angy!**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter por su apoyo incondicional y confianza brindada.

A la Dra. Consuelo Lobato Calleros por sus sabios consejos y apoyo en todo momento.

A mis asesores: Dra. Landy Hernández Rodríguez, Dra. Ofelia Sandoval Castilla y al Dr. Cesar Ramírez Santiago, por sus valiosas contribuciones a este trabajo de investigación.

En especial, agradezco a la Dra. Angélica Román Guerrero, por su apoyo y amabilidad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca otorgada para los estudios de Doctorado.

¡A mi padre y madre, quien siempre fueron mis ejemplos a seguir!

A quienes hicieron posible que yo pudiera seguir estudiando, gracias a que cumplieron conmigo la difícil tarea de ser madre, gracias tías (Vicky, Silvia, Lupita y Ruth).

¡A mis hermanos (Silvia, Raúl, Agustín, Miguel, José Luis y José de Jesús (la niñera del fin de semana), que haría sin ellos!

A Alex Martínez y Daniel Trujillo, con todo respeto, por su amistad, apoyo y enseñanzas a lo largo de mi trabajo de investigación.

A mis compañer@s del laboratorio de Alimentos Funcionales del Departamento de Preparatoria Agrícola, por hacer más amenos mis días.

A mis compañer@s del Laboratorio W-107 de la Universidad Autónoma Metropolitana –Iztapalapa, por su amistad, apoyo y enseñanzas (Dany Gómez, Ely, Isabel, Samuel, Yazury, Clementina y Cesar). Así como a mis compañeros de Laboratorio R-003 de la UAM-Iztapalapa (Elvia, Abraham, Dra. Nancy Alonso, Karlita, Marianita y al Dr. Francisco Sosa).

A mis compañeras del Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, por compartir sus cuatro años en esta fabulosa aventura (Bety, Irene y Dianita). ¡Con todo cariño!

## **DATOS BIOGRÁFICOS**

### **Datos personales**

Nombre: Guadalupe Crispín Isidro

Fecha de nacimiento: 14 de mayo de 1980

Lugar de nacimiento: Los Reyes, La Paz, Estado de México.

CURP: CIIG800514MMCRSD00

Profesión: Ingeniero Agroindustrial

Cédula profesional: 5984431

### **Desarrollo académico**

Preparatoria: Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo (1995-1998)

Licenciatura: Ingeniería Agroindustrial, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo (1998-2002)

Maestría: Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo (2009-2012)

## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El tamarindo (*Tamarindus indica* L.) es un árbol nativo de África, el cual se cultiva en varias regiones del mundo con clima tropical seco. Los países productores más importantes son: India, Tailandia, México, Indonesia, Filipinas, Brasil, Guatemala, Costa Rica, Nicaragua, y otros países de América Central y Sudamérica (El-Siddig et al. 2006). En México, del árbol de tamarindo, se aprovecha principalmente el fruto, cuya disponibilidad es estacional pero que puede encontrarse en el mercado todo el año. Del fruto se obtiene la pulpa, la cual se emplea para la elaboración de bebidas refrescantes a nivel industrial o como parte de la gastronomía tradicional (Viveros et al., 2012). La semilla de tamarindo es un subproducto derivado de la obtención de la pulpa. En otros países, se ha utilizado para producir semilla de tamarindo en polvo (Marathe, Annapure, Singhal y Kulkarni, 2002). En Japón se ha permitido el uso de la semilla de tamarindo en polvo, refinada y purificada en la industria de los alimentos como agente gelificante, espesante o estabilizante, (Nishinari, Yamatoya y Shirakawa, 2000).

Los métodos de extracción de goma, generalmente dan como resultado soluciones que contienen una mezcla de componentes, que pueden someterse a diferentes métodos de purificación. El grado de pureza de los extractos de goma tiene una importante relación con sus propiedades fisicoquímicas, funcionales y reológicas (Kaewmanee et al., 2014; Razmkhah, Razavi y Mohammadifar, 2016). En los últimos años, se han publicado diversos trabajos sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la goma de semilla de tamarindo GST, sin embargo, estos estudios pierden importancia debido al uso de diferentes métodos de extracción y purificación en la obtención de la GST. Por ejemplo, Khounvilay y Sittikijyothin (2012), y Alpizar et al. (2017a) obtuvieron GST

solubilizando semillas molidas en agua caliente y secando el sobrenadante. Los primeros estudiaron el cizallamiento constante y las propiedades viscoelásticas dinámicas de las soluciones acuosas de GST a diferentes concentraciones (0.22 a 6.82 %), mientras que los segundos autores consideraron las propiedades de flujo en función de la temperatura (25 a 65 °C), pH (2.0 a 8.0) y la concentración de sal en las dispersiones. Alpizar et al. (2017 b) estudiaron la entropía integral mínima, la absorción de humedad y la transición vítrea de la GST seca. Choi et al. (2009) y Bansal y Kumar (2014) extrajeron GST con agua caliente seguido de precipitación en etanol absoluto. Los primeros autores investigaron el rendimiento, las características morfológicas, peso molecular promedio y la actividad antioxidante, mientras que los últimos autores determinaron el comportamiento de flujo, el índice de hinchamiento y la capacidad de formación de gel de las soluciones acuosas. Choi et al. (2009) irradiaron granos de tamarindo con rayos gamma y haz de electrones antes del procedimiento de extracción / purificación. Marathe et al. (2002) obtuvieron GST a partir de polvo de grano de tamarindo desgrasado por extracción con alcohol, evaluando sus propiedades gelificantes en combinación con pectina. De lo anterior, no se puede inferir el efecto de la purificación en las propiedades de la GST. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue investigar la influencia que ejerce el grado de purificación de la GST en el rendimiento, la composición química proximal, las propiedades fisicoquímicas (potencial  $\zeta$ , tamaño de partícula, ángulo de contacto, viscosidad y color) y emulsionantes, y contribuir a la selección del procedimiento de purificación adecuado para obtener las propiedades funcionales deseadas de acuerdo al sistema alimenticio al que se incorpore.

El documento consta de 3 capítulos: el capítulo uno presenta una introducción general acerca de la importancia de la goma de semilla de tamarindo GST; el capítulo dos ofrece el estado del arte acerca de la goma de semilla de tamarindo en cuanto a su capacidad emulsificante, finalmente el capítulo tres está conformado por un artículo científico en el cual se detalla la evaluación de la capacidad emulsificante de la GST con distinto grado de purificación.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 *Tamarindus indica* L

El tamarindo (*Tamarindus indica* L.), pertenece a las leguminosas, es un cultivo de fácil adaptación, resistente a la sequía y no tolerante a las heladas. Es originario de África tropical, y actualmente se encuentra en 54 países (El-Siddig et al., 2006). El tamarindo ha sido plantado y cosechado extensamente en Bangladesh, India, Myanmar, Malasia, Sri Lanka, Tailandia, Australia y varios países africanos, centroamericanos y sudamericanos (Saideswara & Mary, 2012). Los países productores más importantes de tamarindo son: la India, México, Brasil, Belice, Guatemala, Costa Rica y otros países de América Central, Sudamérica, Asia y África, donde los climas son cálidos semiáridos o húmedos. En la República Mexicana el tamarindo se encuentra en 21 entidades federativas, tanto en forma silvestre como en cultivo, principalmente en las costas del Pacífico y del Golfo de México (Orozco, 2001). El principal productor de tamarindo en México es Jalisco, con una producción de 23 125.53 toneladas, lo cual representa el 46 % de la producción total nacional. En segundo lugar se encuentra Colima con 13 149.26 t, Guerrero con 7 671.94 t, Michoacán con 3 586.63 t y Veracruz con 920.5 t (SIAP, 2019).

El tamarindo (*Tamarindus indica* L.) es un árbol que puede alcanzar una altura de 30 m. Este árbol es mejor conocido por la pulpa de la vaina (aproximadamente 40 %), rico en vitamina C, ácido tartárico, málico, cítrico y azúcares (Saideswara & Mary, 2012). La principal parte del árbol que se aprovecha es el fruto, cuya disponibilidad es estacional pero que puede encontrarse en el mercado todo el año, éste es utilizado para la elaboración de agua fresca desde la época de la colonia y constituye un insumo de la gastronomía nacional. Las hojas, corteza y raíces son utilizadas como afrodisiacos y otros usos medicinales en países de

África (Gustad, Dhillion y Sidibé, 2004). El fruto y las hojas tienen aplicación en la industria por sus cualidades como goma espesante y polisacárido (Leakey, 1999), también existe una diversidad de productos a base de tamarindo como son bebidas, polvo para preparar bebidas, tamarindo en polvo como condimento y dulces (Zhao, Yang y Li, 2005).

Las semillas son indehiscentes, ovaladas, comprimidas lateralmente, lisas, con la testa café lustrosa, de 1 cm de largo y unidas entre sí, carecen de endospermo como reserva nutritiva (Fig. 1), presentan un par de cotiledones gruesos y la radícula es pequeña y recta.

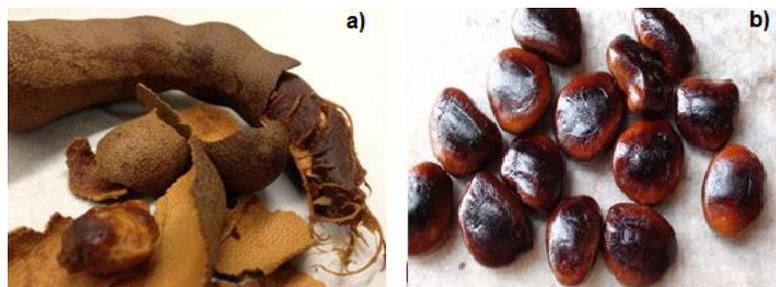


Figura 1. a) Fruto y b) semillas del árbol de tamarindo

La semilla de tamarindo es un subproducto disponible de la industria de pulpa de tamarindo, que contiene hasta un 72 % en peso de polisacáridos (Khounvilay & Sittikijyothin, 2012).

## **2.2 Goma de semilla de tamarindo: composición y estructura**

Las semillas de tamarindo son fuente de polisacáridos, proteínas y aceite. Su composición química está integrada aproximadamente por: agua 11.3 %, proteína 13.3 %, grasa 5.4 %, carbohidratos 57.1 %, ceniza 4.1 % y fibra cruda 8.8 %. La semilla o núcleos de tamarindo son un subproducto de la industria de la pulpa de tamarindo. Los núcleos de tamarindo se utilizan generalmente para obtener polvo de semilla de tamarindo. El polvo de núcleos se dispersa e hidrata rápidamente en agua fría, pero no alcanza la viscosidad máxima a menos que se caliente durante 20 a 30 min. La solución exhibe propiedades típicas de flujo no

newtonianas comunes a la mayoría de otros hidrocoloides (Rao & Srivastava, 1973). Es un importante material para textiles, es utilizado como estabilizador de suelos, una rica fuente de proteínas y aminoácidos, buena fuente de polisacáridos gelificantes llamados "poliosas" y con propiedades para la formación de películas (Gliksman, 1986). El polisacárido de semilla de tamarindo tiene una excelente estabilidad en el intervalo de pH ácido y tiene la capacidad de formar geles en presencia de azúcar o alcohol (Rao & Srivastava, 1973).

La goma de semilla de tamarindo, el extracto crudo, es rica en polisacáridos (65-72 %) (Kumar & Bhattacharya, 2008), contiene unidades de glucosa, xilosa y galactosa, en una relación molecular de 3:2:1 (Freitas et al., 2005; Patel et al., 2008; Wang, Ellis, Ross y Burchard, 1997) (Fig. 2). Su estructura se basa en un esqueleto de  $\beta(1\rightarrow4)$ -D-glucano, sustituido en la posición 6 de las unidades de glucopiranosil principalmente por residuos de  $\alpha$ -D-xilopiranosil, así como por cadenas laterales de disacáridos compuestas por residuos de  $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-xilopiranosil (Patel et al. 2008). Además, la goma de semilla de tamarindo es un polisacárido de alto peso molecular (720 - 880 kDa) (Freitas et al., 2005; Sims et al., 1998; Wang et al., 1997), que forma soluciones viscosas cuando se disuelve en agua. Particularmente en la industria alimentaria en Japón, la goma de semilla de tamarindo refinada se ha permitido su uso como aditivo alimentario y se ha utilizado para modificar la textura como agente espesante, estabilizante y gelificante (Nishinari, Yamatoya y Shirakawa, 2000).

De acuerdo a Khounvilay y Sittikijyothin 2012, la goma de semilla de tamarindo es rica en polisacáridos (80.66 %) y proteínas (13.51 %). El contenido de monosacáridos, que se analizó por GC - FID (cromatografía de gases con detector de ionización de flama), mostró una relación de glucosa, xilosa y galactosa de 2.61:1.43:1.00, lo que concuerda con informes anteriores (Freitas et al., 2005; Wang et al., 1997).

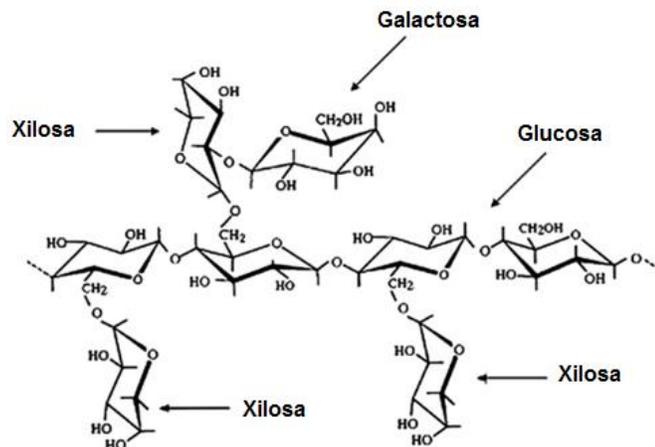


Figura 2. Estructura de la goma de la semilla de tamarindo (Khounvilay & Sittikijyothin, 2012).

### 2.3 Semilla de tamarindo y su pericarpio: contenido de antioxidantes

Las semillas de tamarindo contienen antioxidantes fenólicos, tales 2-hidroxi-3',4'-dihydroxiacetofenona, 3,4-dihydroxi benzoato de metilo, 3,4-dihydroxifenil acetato y epicatequina, los extractos con los anteriores componentes exhiben un potencial antioxidante al reducir la peroxidación lipídica in vitro (Tsuda et al. 1994). Pumthong (1999) describió la actividad antioxidante en extractos de pericarpio de tamarindo e informó la presencia de taninos principalmente poliméricos y procianidinas oligoméricas, sin embargo, estos no se identificaron ni cuantificaron.

Sudjaroen et al. (2005) evaluaron los compuestos polifenólicos en semillas de tamarindo, a partir de los extractos obtenidos en metanol. Los fenóles totales fueron 6.54 y 2.82 g/kg (peso seco) en las semillas y pericarpio, respectivamente. El perfil (%) de los polifenoles en el pericarpio de tamarindo estuvo dominado por varias formas de proantocianidinas (73.4), (-) - catequina (2.0), procianidina B2 (8.2), (-) - epicatequina (9.4), trímero de procianidina (11.3), tetrámero de procianidina (22.2), pentámero de procianidina (11.6), hexámero de procianidina (12.8), taxifolina (7.4), apigenina (2.0), eriodictiol (6.9), luteolina (5.0) y naringenina (1.4), respectivamente. El contenido en las semillas de tamarindo

comprendió únicamente las procianidinas, representadas (%) principalmente por tetrámeros de procianidina oligomérica (30.2), hexámero de procianidina (23.8), trímero de procianidina (18.1), pentámero de procianidina (17.6) con menores cantidades de procianidina B2 (5.5) y (-) - epicatequina (4.8).

#### **2.4 Métodos de extracción de la goma de semilla de tamarindo**

La goma de semilla de tamarindo, de acuerdo a diversos autores, se ha extraído mediante diferentes metodologías. Por ejemplo, Khounvilay y Sittikijyothin (2012) y Alpizar et al. (2017a) obtuvieron GST solubilizando semillas molidas en agua caliente y secando el sobrenadante, el último autor obtuvo rendimientos de  $29.83 \pm 1.32$  %. Choi et al. (2009), y Bansal y Kumar (2014) extrajeron GST con agua caliente seguido de precipitación en etanol absoluto. Cabe mencionarse que Choi et al. (2009) irradiaron los granos de tamarindo con rayos gamma, un haz de electrones antes del procedimiento de extracción/purificación. Marathe et al. (2002) obtuvieron GST a partir de polvo de grano de tamarindo desgrasado por extracción con alcohol de un extracto acuoso acidificado obteniendo 50 % de rendimiento.

#### **2.5 Purificación de gomas**

Los métodos de extracción de goma generalmente dan como resultado soluciones que contienen una mezcla de componentes, que requieren de un mayor grado de purificación para obtener el polisacárido específico de interés. La purificación de polisacáridos elimina sabores, impurezas y enzimas endógenas inaceptables de las gomas crudas y las gomas purificadas dan soluciones más claras y estables (Razmkhah, Razavi y Mohammadifar, 2016). Se han utilizado diversos procedimientos basados en diferencias de solubilidad o precipitaciones selectivas para separar diferentes polisacáridos como la precipitación con etanol, isopropanol, metanol, complejos de cobre o bario y otros (Bouzouita et al., 2007; Cui, 2005; Da Silva & Gonçalves, 1990). Da Silva y Gonçalves (1990) investigaron la purificación de la goma de algarrobo por precipitación con isopropanol. Con el procedimiento de purificación utilizado, se redujeron

drásticamente, grasas, fibras, cenizas y proteínas de la muestra comercial. Las gomas purificadas exhibieron relaciones de manosa/galactosa más altas, y fueron casi totalmente solubles. Las soluciones resultantes fueron más claras y estables que las obtenidas con la goma inicial. Los mismos resultados se informaron para la purificación de la goma de algarrobo (precipitación con isopropanol) de diferentes poblaciones en Túnez por Bouzouita et al. (2007). Cunha, Paula y Feitosa (2007) purificaron goma guar comercial mediante diferentes métodos: (I) hidrólisis enzimática con pancreatina porcina, (II) acetona y etanol, (III) solución de Fehling y (IV) el método combinado II y III. Los investigadores encontraron que todos los métodos de purificación llevaron a una reducción en el contenido de proteínas, mono y oligo polisacáridos, viscosidad intrínseca, masa molar, y las gomas guar purificadas mostraron diferentes estabilidades térmicas. Se han realizado diversos estudios para investigar la purificación de hidrocoloides por diferentes métodos y los resultados indicaron que las gomas purificadas presentaban diferentes propiedades fisicoquímicas y funcionales (Amid & Mirhosseini, 2012; Kök, 2007; Lubambo et al., 2013; Youssef, Wang, Cui y Barbut, 2009).

## **2.6 Propiedades fisicoquímicas de la goma de semilla de tamarindo**

Alpizar et al. (2017a) evaluaron las propiedades fisicoquímicas del mucilago de semilla de tamarindo obtenido mediante el secado por aspersion, evidenciando que la solubilidad, capacidad de retención de agua, índice de hinchamiento y el pH se incrementaron cuando aumentaba la temperatura. La capacidad emulsificante aumentó y la estabilidad emulsificante disminuyó cuando se incrementó la proporción de mucilago de tamarindo/volumen de aceite debido al efecto de la tensión superficial. La capacidad de formación de espuma y la estabilidad de la espuma aumentaron a medida que aumentaba el porcentaje en la relación mucilago/volumen de la dispersión.

Alpizar et al. (2017a) realizaron análisis termogravimétricos al mucilago de semilla de tamarindo secado por aspersion y encontraron que las partículas de mucilago eran termoestables hasta 175 °C y la medición de calorimetría

diferencial de barrido mostró dos picos, el primero a 97.67 °C presentó un evento endotérmico y el segundo a 310.86 °C se relacionó con un evento exotérmico. Los patrones de difracción de rayos X confirmaron la naturaleza amorfa de las partículas de mucílago de semillas de tamarindo. En la microscopia electrónica de barrido, las partículas de mucílago de semilla de tamarindo mostraron paredes continuas sin fisuras, grietas o interrupciones con una estructura de partícula con apariencia polimérica.

## **2.7 Propiedades reológicas de la goma de semilla de tamarindo**

Las propiedades reológicas de la GST varían en función a su pureza, concentración y al solvente donde se encuentre dispersa la goma. Por ejemplo, en sistemas gelificados, Marathe et al. (2002) evaluaron el comportamiento gelificante de la poliosa en comparación con la pectina y las mezclas de pectina en soluciones de sacarosa a 65 °Brix en función del pH y la concentración. La pectina en una concentración del 1.00 % (p/p), proporcionó una buena firmeza al gel, mientras que las mezclas 80:20 y 60:40 de pectina/poliosa dieron un gel firme a 1.5 y 2.0 % (p/p), respectivamente. De los valores de fuerza del gel, se encontró que el 2 % (p/p) de poliosa extraída del polvo de núcleos de semilla de tamarindo, sustituyó adecuadamente al 1 % (p/p) de pectina en formulaciones de jalea listas para su consumo. Por otra parte, Khounvilay y Sittikijyothin, (2012) investigaron las propiedades de soluciones de GST a diferentes concentraciones en función de la tasa de corte y viscoelasticidad dinámica. Las soluciones de GST exhibieron un comportamiento de flujo de adelgazamiento al corte a altas tasas de corte y la región newtoniana ocurrió a intervalos de bajas tasas de corte, sin embargo, a concentraciones mayores a 2.30 % (p/p), se observó un adelgazamiento pronunciado al corte.

Sharma, Mondal, Mukesh y Prasad (2014) utilizaron la goma de la semilla de tamarindo para preparar geles iónicos en combinación con líquidos iónicos sintéticos (cloruro 1-butil-3-metilimidazolio y bromuro 1-butil-3-metilimidazolio) y líquidos iónicos de base biológica (acrilato de colina, caproato de colina y caprilato de colina). Dichos autores evidenciaron que los geles presentaron

adecuada estabilidad térmica y exhibieron comportamiento tixotrópico. Los geles iónicos mostraron adecuada adherencia a los músculos y piel del dedo humano. Los geles preparados con líquidos iónicos sintéticos podrían tener aplicaciones en electroquímica y los geles preparados con líquidos iónicos de base biológica podrían ser utilizados en aplicaciones biomédicas.

## **2.8 Emulsiones**

Las emulsiones son ampliamente utilizadas en la formulación de productos alimenticios, farmacéuticos y cosméticos. En la industria alimentaria, muchos productos alimenticios están en forma de emulsiones de aceite en agua (o/w) que consisten en pequeñas gotas de lípidos dispersas en una fase acuosa, como aderezos para ensaladas, salsas, leche, crema, batidos, bebidas y postres. Por otro lado, la emulsificación es uno de los pasos importantes en la tecnología de microencapsulación (Jafari, He y Bhandari, 2006). En la última década, la producción de emulsiones con un tamaño mínimo de gota (0.1 - 20  $\mu\text{m}$ , Aranberri & Binks, 2010) y una distribución estrecha ha sido de interés para muchos investigadores en alimentos. Sin embargo, las emulsiones no son sistemas termodinámicamente estables y pueden separarse en fases a través de diferentes procesos fisicoquímicos, como la separación gravitacional, la floculación, la coalescencia y la maduración de Ostwald (McClements, 2005). Para mejorar la estabilidad de la emulsión, un método ampliamente utilizado es la adición de emulsionantes y estabilizantes. Los emulsionantes son moléculas de superficie activa que se adsorben fácilmente en la interfaz aceite-agua, facilitan la formación de emulsiones al disminuir la tensión interfacial y forman una película protectora (Guzey, Kim y McClements, 2004; McClements, 2005). También evitan la agregación de gotitas al generar fuerzas repulsivas entre las gotitas (Wang et al. 2011). Los estabilizadores se utilizan para proporcionar estabilidad de emulsión a largo plazo, algunos de ellos mediante la adsorción en la interfaz, mientras que otros solo modifican la viscosidad de la fase continua debido a su carácter no adsorbente. Generalmente, las proteínas, como el aislado de proteína de suero o la  $\beta$ -lactoglobulina, son los principales

emulsionantes, mientras que los polisacáridos contribuyen a la estabilidad a través de sus características de espesamiento y estabilización estérica (Bouyer et al., 2011; Wang, Wang, Li, Adhikari, y Shi, 2011).

## **2.9 Capacidad emulsificante de la goma de semilla de tamarindo**

La goma de semilla de tamarindo (GST), se ha empleado en la industria de los alimentos, así como en la industria farmacéutica. La información acerca de la capacidad emulsificante es escasa, esta propiedad ha sido probada por Alpizar et al. (2017a) y Kumar, Patil, Patil, Paschapur y Mahalaxmi (2010). Los primeros autores evaluaron la capacidad emulsionante (CE) y estabilidad emulsionante (EE) del mucílago de semilla de tamarindo en su forma no purificada en función de la concentración (0.2 al 1 %, p/v), para preparar emulsiones aceite en agua ( $\phi=0.1$ ) con aceite de maíz. Los resultados demostraron que la CE aumento cuando se incrementó la cantidad de mucílago de semilla de tamarindo secado por pulverización; hecho que puede explicarse por el aumento de las cadenas de la estructura ramificada entre la superficie activa para absorber las moléculas de aceite que disminuyen la tensión superficial (Jindal et al. 2013). La EE disminuyó cuando se incrementó el peso de la proporción de mucílago de semilla de tamarindo/volumen de aceite, lo que podría atribuirse a una reducción de la tensión superficial del mucílago.

Por otra parte, Kumar et al. (2010) evaluaron la capacidad emulsionante de la goma de semilla de tamarindo al 2 % p/v en su forma purificada preparando emulsiones aceite en agua, utilizando como fase oleosa aceite de ricino y resultó en una mejor estabilización de la emulsión en comparación con la goma *Acacia*.

## 2.10 Literatura citada

- Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., & Gallardo-Rivera, R. (2017a). Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid. *Journal of Food Engineering*, 209, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.021>
- Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., Romero-Romero, R., Varela-Guerrero, V., Alvarez-Ramírez, J., & Pérez-Alonso, C. (2017b). Thermodynamic sorption properties and glass transition temperature of tamarind seed mucilage (*Tamarindus indica* L.). *Food and Bioproducts Processing*, 101, 166–176. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.11.006>
- Alpizar-Reyes, E., Román-Guerrero, A., Gallardo-Rivera, R., Varela-Guerrero, V., Cruz-Olivares, J., & Pérez-Alonso, C. (2018). Rheological properties of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage obtained by spray-drying as a novel source of hydrocolloid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 817–824. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.048>
- Amid, B. T., & Mirhosseini, H. (2012). Influence of different purification and drying methods on rheological properties and viscoelastic behaviour of durian seed gum. *Carbohydrate Polymers*, 90, 452–461.
- Aranberri, I., & Binks, B. P. (2010). Elaboracion y caracterización de emulsiones estabilizadas (August 2014).
- Bansal, J., & Kumar, N. (2014). Extraction and evaluation of tamarind seed polysaccharide as pharmaceutical *in situ* gel forming system. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 9, 1–5. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejsr.2014.9.1.8259>
- Bouyer, E., Mekhloufi, G., Le Potier, I., du Foude Kerdaniel, T., Grossiord, J.-L., Rosilio, V., et al. (2011). Stabilization mechanism of oil-in-water emulsions by  $\beta$  - lactoglobulin and gum arabic. *Journal of Colloid and Interface Science*, 354, 467-477.
- Bouzouita, N., Khaldi, A., Zgoulli, S., Chebil, L., Chekki, R., Chaabouni, M. M., et al. (2007). The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chemistry*, 101, 1508–1515.
- Choi, J., Kim, J., Srinivasan, P., Kim, J., Park, H., Byun, M., & Lee, J. (2009). Comparison of gamma ray and electron beam irradiation on extraction yield , morphological and antioxidant properties of polysaccharides from tamarind seed. *Radiation Physics and Chemistry*, 78, 605–609. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2009.04.004>
- Cui, S. W. (2005). Food carbohydrates: Chemistry, physical properties, and applications. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group.

- Cunha, P. L. R., Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2007). Purification of guar gum for biological applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41, 324–331.
- Da Silva, J. A. L., & Goncalves, M. P. (1990). Studies on a purification method for locust bean gum by precipitation with isopropanol. *Food Hydrocolloids*, 4, 277–287
- El-Siddig, K.; Gunasena, H. P. M.; Prasad, B. A.; Pushpakumara, D. K. N. G.; Ramana, K. W. R.; Vijayanand, P. and Williams, J. T. (2006). Tamarind, *Tamarindus indica*. Southampton Centre for Underutilised Crops. Southampton, Reino Unido.
- Freitas, R. A., Martin, S., Santos, G. L., Valenga, F., Buckeridge, M. S., Reicher, F., et al. (2005). Physicochemical properties of seed xyloglucans from different sources. *Carbohydrate Polymers*, 60, 507-514.
- Gerard, T. (1980). In R. I. Davidson, Handbook of water-soluble gums and resins (p. 23). New York: McGraw-Hill
- Gliksman, M. (1986). *Food Hydrocolloids*, 191-202. Vol. III. Florida: CRC Press.
- Gustad, G., Dhillon, S. S. and Sidibé, D. (2004). Local use and cultural and economic value of products from trees in the parklands of the municipality of Cinzana, Mali. *Econ. Bot.* 58(4): 578-587.
- Guzey, D., Kim, H. J., & McClements, D. J. (2004). Factors influencing the production of o/w emulsions stabilized by  $\beta$ -lactoglobulinepectin membranes. *Food Hydrocolloids*, 18, 967-975.
- <https://nube.siap.gob.mx/cierreagrícola>
- Jafari, S. M., He, Y., & Bhandari, B. (2006). Nano-emulsion production by sonication and microfluidization a comparison. *International Journal of Food Properties*, 9, 475-485.
- Jindal, M., Kumar, V., Rana, V., Tiwary, A.K., (2013). Exploring potential new gum source *Aegle marmelos* for food and pharmaceuticals: physical, chemical and functional performance. *Industrial Crops Production*. 45, 312-318. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.037>.
- Kaewmanee, T., Bagnasco, L., Benjakul, S., Lanteri, S., Morelli, C. F., Speranza, G., & Cosulich, M. E. (2014). Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax. *Food Chemistry*, 148, 60–69. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.022>
- Khounvilay, K., & Sittikijyothin, W. (2012). Rheological behaviour of tamarind seed gum in aqueous solutions. *Food Hydrocolloids*, 26, 334–338. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.03.019>
- Kök, M. S. (2007). A comparative study on the compositions of crude and refined locust bean gum: In relation to rheological properties. *Carbohydrate Polymers*, 70, 68–76.
- Kumar, R., Patil, S. R., Patil, M. B., Paschapur, M. S., & Mahalaxmi, R. (2010).

- Isolation and evaluation of the emulsifying properties of tamarind seed polysaccharide on castor oil emulsion. *Der Pharmacia Lettre*, 2, 518–527.
- Leakey, R. R. B. (1999). Potential for novel food products from agroforestry trees: a review. *Food Chemistry*. 66:1-14.
- Lubambo, A. F., de Freitas, R. A., Sierakowski, M., Lucyszyn, N., Sasaki, G. L., Serafim, B. M., (2013). Electrospinning of commercial guar gum: Effects of purification and filtration. *Carbohydrate Polymers*, 93, 484–491
- Marathe, R. M., Annapure, U. S., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2002). Gelling behaviour of polyose from tamarind kernel polysaccharide, *Food Hydrocolloids*, 16, 423-426. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00118-7](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00118-7)
- McClements, D. J. (2005). Food emulsions: Principles, practice, and techniques (2nd ed.). Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
- Nishinari, K., Yamatoya, K., & Shirakawa, M. (2000). In G. O. Phillips & P. A. Williams, Handbook of hydrocolloids (pp. 247-267). England/Florida: Woodhead Publishing Limited/CRC Press.
- Orozco, S. M. (2001). El cultivo del tamarindo (*Tamarindus indica* L.), en el trópico seco de México. INIFAP- SAGARPA. Campo Experimental Tecomán. Colima. México. (7): 89
- Patel, T. R., Morris, G. A., Ebringerova, A., Vodenicarova, M., Velabny, V., Ortega, A., et al. (2008). Global conformation analysis of irradiated xyloglucans. *Carbohydrate Polymers*, 74, 845-851
- Pumthong, G., (1999). Antioxidative activity of polyphenolic compounds extracted from seed coat of *Tamarindus indica* Linn. PhD Thesis, Chiangmai University, Thailand
- Rao, P. S., & Srivastava, H. C. (1973). In R. L. Whistler, Industrial gums (2nd ed). (pp. 369-411). New York: Academic Press.
- Razmkhah, S., Mohammadifar, S., & Razavi, A. (2016). Purification of cress seed (*Lepidium sativum*) gum: A comprehensive rheological study. *Food Hydrocolloids*, 61, 358–368. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.035>
- Saideswara, R.Y., Mary, M.K., (2012). Tamarind. In: Handbook of Herbs and Spices. Elsevier, pp. 512-533. <http://dx.doi.org/10.1533/9780857095688.512>
- Sharma, M., Mondal, D., Mukesh, C., & Prasad, K. (2014). Preparation of tamarind gum based soft ion gels having thixotropic properties, *Carbohydrate Polymers*, 102, 467– 471. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.063>
- Sims, I. M., Gane, A. M., Dunstan, D., Allan, G. C., Boger, D. V., Melton, L. D., et al. (1998). Rheological properties of xyloglucans from different plant species. *Carbohydrate Polymers*, 37, 61-69.
- Sudjaroen, Y., Haubner, R., Würtele, G., Hull, W. E., Erben, G., Spiegelhalder, B., Owen, R. W. (2005). Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds and pericarp. *Food and Chemical Toxicology*, 43(11), 1673–1682.

<http://doi.org/10.1016/j.fct.2005.05.013>

Tsuda, T., Watanabe, M., Ohshima, K., Yamamoto, A., Kawakishi, S., & Osawa, T. (1994). Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (*Tamarindus indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2671–2674. DOI: 10.1021/jf00048a004

Viveros García, J. C., Angélica, K., Rodríguez, F., López, F. G., Pérez, E. G., Rosado, O. R., & Hernández Rosas, F. (2012). Sistemas de manejo y comercialización de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) en tres municipios de Veracruz\* Systems management and marketing of tamarind (*Tamarindus indica* L.) in three municipalities of Veracruz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3, 1217–1230.

Wang, B., Wang, L.-J., Li, D., Adhikari, B., & Shi, J. (2011). Effect of gum Arabic on stability of oil-in-water emulsion stabilized by flaxseed and soybean protein. *Carbohydrate Polymers*, 86, 343-351.

Wang, M., Huang, B., Fan, C., Zhao, K., Hu, H., Xu, X., & Liu, F. (2016). Characterization and functional properties of mango peel pectin extracted by ultrasound assisted citric acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 794–803.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.011>

Wang, Q., Ellis, P. R., Ross-Murphy, S. B., & Burchard, W. (1997). Solution characteristics of the xyloglucan extracted from *Detarium senegalense* Gmelin. *Carbohydrate Polymers*, 33,115-124

Youssef, M. K., Wang, Q., Cui, S. W., & Barbut, S. (2009). Purification and partial physicochemical characteristics of protein free fenugreek gums. *Food Hydrocolloids*, 23, 2049–2053.

Zhao, Y.; Yang, S. & Li, K. (2005). Compressive utilization of *Tamarindus indica* Linn. *Chemistry & Industry of Forest Products*.

### 3. INFLUENCIA DE LA PURIFICACIÓN SOBRE PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y EMULSIFICANTES DE GOMA DE SEMILLA DE TAMARINDO

#### 3.1 Resumen

Se investigaron los efectos de diferentes métodos de purificación sobre el rendimiento, composición química, propiedades fisicoquímicas y emulsionantes de la goma de semilla de tamarindo. Se extrajo goma de pureza baja (GST<sub>PB</sub>) de semillas enteras; goma de pureza media (GST<sub>PM</sub>) del grano desgrasado y goma de pureza alta (GST<sub>PA</sub>), a la que se le eliminó la proteína soluble. Espectros Infrarrojos de Transformada de Fourier mostraron que los picos característicos del esqueleto de polisacárido no cambiaron, mientras que la deconvolución de la región amida I reveló que la proteína fue desnaturalizada. La cromatografía de interacción hidrofóbica de GST<sub>PA</sub> mostró una fracción principal (F3) que contenía proteína fuertemente unida al esqueleto del polisacárido. Los valores de rendimiento y potencial zeta ( $\zeta$ ) de las gomas disminuyeron a medida que aumentaba su purificación. El comportamiento de flujo de soluciones de GST (1.5 y 2.0 % p/p) fue descrito por el modelo de Ellis, donde la viscosidad a bajas tasas de corte y la constante de tiempo asociada al tiempo de relajación de los polímeros en solución, mostraron valores más altos a medida que aumentaron la concentración y la purificación. Las emulsiones de aceite en agua (E) preparadas con soluciones de goma GST al 2 % p/p produjeron gotas de aceite iniciales de  $1.35 \pm 0.15 \mu\text{m}$  para GST<sub>PB</sub>, de  $4.82 \pm 0.10 \mu\text{m}$  para GST<sub>PM</sub>, y de  $9.45 \pm 0.10 \mu\text{m}$  para GST<sub>PA</sub>. E<sub>PB</sub> y E<sub>PA</sub> mostraron una estabilidad al cremado más alta (21 días) que E<sub>PM</sub>. Se concluyó que la estabilidad de la emulsión se debía a una interacción compleja entre varios factores, incluida la composición química, viscosidad aparente, ángulo de contacto, dinámica de tensión interfacial, carga superficial. Lo anterior relacionado con la repulsión electroestérica y las propiedades mecánicas de la capa adsorbida alrededor de las gotitas de aceite.

**Palabras clave:** goma de tamarindo; purificación; propiedades fisicoquímicas; comportamiento reológico y estabilidad de la emulsión.

---

“Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Universidad Autónoma Chapingo”.

Autor: Guadalupe Crispín Isidro.

Director de tesis: Dra. Consuelo S. O. Lobato Calleros.

## INFLUENCE OF PURIFICATION ON PHYSICOCHEMICAL AND EMULSIFYING PROPERTIES OF TAMARIND (*Tamarindus indica* L.) SEED GUM

### 3.2 Abstract

The effects of different purification methods on the yield, chemical composition, physicochemical, and emulsifying properties of tamarind seed gum were investigated. Low purity gum (TSG<sub>LP</sub>) was extracted from whole tamarind seeds; medium purity gum (TSG<sub>MP</sub>) was extracted from defatted tamarind kernel, and high purity gum (TSG<sub>HP</sub>) was extracted as TSG<sub>MP</sub> and soluble protein was removed. Fourier transform infrared spectra showed that characteristic peaks of the polysaccharide backbone did not change, while deconvolution of the amide I region revealed that the protein was denatured. Hydrophobic interaction chromatography of TSG<sub>HP</sub> showed a main fraction (F<sub>3</sub>) containing protein strongly attached to the polysaccharide backbone. Yield and zeta ( $\zeta$ )-potential values of the gums decreased as their purification increased. Flow behavior of TSG solutions (1.5 and 2.0% w/w) was described by Ellis model, where low shear limiting viscosity and time constant associated to the relaxation time of polymers in solution exhibited higher values as concentration and purification were increased. Oil-in-water (O/W) emulsions (E) prepared with 2% w/w TSG gum solutions produced initial oil droplets of  $1.35 \pm 0.15 \mu\text{m}$  for TSG<sub>LP</sub>, of  $4.82 \pm 0.10 \mu\text{m}$  for TSG<sub>MP</sub>, and of  $9.45 \pm 0.10 \mu\text{m}$  for TSG<sub>HP</sub>. E<sub>LP</sub> and E<sub>HP</sub> exhibited higher creaming stability (21 days) than E<sub>MP</sub>. It was concluded that emulsion stability was due to a complex interplay between several factors, including chemical composition, apparent viscosity, contact angle, interfacial tension dynamics, surface charge, all of which had bearing on the electrosteric repulsion terms and adsorbed layer mechanical properties around the oil droplets.

**Keywords:** tamarind gum; purification; physicochemical properties; rheological behavior; emulsion stability.

---

"Thesis: Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Universidad Autónoma Chapingo".

Author: Guadalupe Crispín Isidro

Advisor: PhD. Consuelo S. O. Lobato Calleros

### 3.3 Introducción

Las gomas de semillas de plantas (GSP), recientemente, han recibido atención como biopolímeros emergentes debido a sus propiedades tecnológicas innatas (espesamiento, retención de agua, suspensión, unión, estabilización y emulsificación) y su uso potencial en las industrias farmacéutica y alimentaria (Archana et al., 2013; Soukoulis, Gaiani y Hoffmann, 2018). Adicionalmente las GSP son disponibles, no tóxicas, biodegradables y biocompatibles (Avachat, Dash y Shrotriya, 2011). Las semillas de plantas que provienen de las industrias de procesamiento agroalimentario son una fuente alternativa barata e interesante de gomas con una amplia variedad de funciones útiles para producir productos de valor agregado (Ravindran & Jaiswal, 2016; Chandra et al., 2018).

La semilla de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) es un subproducto de la industria de la pulpa de tamarindo, que consiste en un 30 % de pericarpio, el cual es color marrón y un 70 % de grano, este último contiene una gran cantidad de goma (GST), compuesta principalmente por un polisacárido galactoxiloglucano (Khounvilay & Sittikijyothin, 2012; Prabhu & Teli, 2014). El galactoxiloglucano de la goma de semilla de tamarindo contiene monómeros de glucosa, galactosa y xilosa en una relación molar de 3:1:2 (Khanna, Nandi y Sarin, 1987), se considera un polisacárido no iónico, neutro, hidrofílico, mucoadhesivo y muy ramificado (Shrivastava & Singh, 1967; Lang et al., 1992). La estructura del polisacárido galactoxiloglucano está compuesta por un esqueleto de  $\beta$ -(1,4)-D-glucano sustituido con cadenas laterales de  $\alpha$ -(1,4)-D-xilopiranososa y (1,6) ligados [ $\beta$ -D-galactopiranosil (1, 2)- $\alpha$ -D-xilopiranosil] a residuos de glucosa (Sharma, Mondal, Mukesh y Prasad, 2014), con un peso molecular promedio de 720 - 880 kDa (Freitas et al., 2005).

La GST se considera un biopolímero prometedor con aplicaciones como estabilizador, espesante, agente de viscosidad, emulsionante, gelificante, vehículo de fármacos, retardante en la liberación de compuestos bioactivos y agente aglutinante en las industrias farmacéutica y de alimentos (Mirhosseini & Amid, 2012; Joseph, Kanchalochana, Rajalakshmi, Hari, y Durai, 2012). La GST

contiene aproximadamente 12.7 - 22.7 % de proteína, 3 - 7.5 % de grasa, 0.7 - 8.4 % de fibra cruda, 61 - 79.8 % de carbohidratos y 0.7 - 3.3 % de cenizas, dependiendo de la fuente botánica y el método de purificación utilizado (Jones & Jordan, 1978; Joseph et al., 2012; Alpizar et al., 2017a).

Los métodos de extracción de gomas, generalmente dan como resultado soluciones que contienen una mezcla de componentes, que pueden someterse a diferentes métodos de purificación. El grado de pureza de la goma tiene una importante relación con sus propiedades fisicoquímicas, funcionales y reológicas (Kaewmanee et al., 2014; Razmkhah, Razavi, y Mohammadifar, 2016). En los últimos años, se han publicado diversos trabajos sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la GST, sin embargo, su importancia se pierde a medida que se utilizan diferentes métodos de extracción y purificación para obtener la GST. Por ejemplo, Khounvilay y Sittikijyothin (2012) y Alpizar et al. (2018) aislaron GST de dispersiones de polvo de semilla de tamarindo calentando a 80 °C durante 30 y 60 min, respectivamente, y secando el sobrenadante. Los primeros autores estudiaron el cizallamiento constante y las propiedades viscoelásticas dinámicas de las soluciones acuosas de GST a diferentes concentraciones, mientras que el último investigó las propiedades de flujo de las soluciones de GST en función de la temperatura, pH y concentraciones de sal. Alpizar et al. (2017b) estudiaron la entropía integral mínima, absorción de humedad y transición vítrea de la GST seca. Choi et al. (2009), y Bansal y Kumar (2014) utilizaron agua caliente para extraer la GST de semilla de tamarindo y grano, respectivamente, seguido de precipitación en etanol absoluto. Los primeros autores investigaron el rendimiento, características morfológicas, peso molecular promedio y actividad antioxidante, mientras que los segundos autores determinaron el comportamiento del flujo, índice de hinchamiento y la capacidad de formación de gel de las soluciones acuosas de GST. Choi et al. (2009) irradiaron los granos de tamarindo con rayos gamma y haz de electrones previamente al procedimiento de extracción/purificación. Marathe, Annapure, Singhal y Kulkarni (2002) obtuvieron GST a partir de polvo de grano de tamarindo desgrasado mediante la extracción con alcohol de un

extracto acuoso acidificado y hervido, evaluaron sus propiedades gelificantes en combinación con pectina. De lo anterior, queda claro que no se puede inferir el efecto de la purificación en las propiedades de GST. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue investigar la influencia de la purificación en el rendimiento, la composición química proximal, físicoquímico (potencial  $\zeta$ , tamaño de partícula, ángulo de contacto, dinámica de adsorción, espectros infrarrojos, propiedades termogravimétricas, viscosidad y color) y propiedades emulsificantes de la GST. Se espera que al hacer esto podamos contribuir en la selección del procedimiento de purificación más adecuado y obtener las propiedades funcionales deseadas, para una aplicación dada de esta goma cada vez más utilizada.

### **3.4 Materiales y métodos**

#### **3.4.1 Materiales**

Las vainas de tamarindo secas ( $3.5 \pm 0.8$  % p/p de humedad) fueron adquiridas en un mercado local de Los Reyes La Paz, Estado de México, México. Se utilizó aceite de canola marca Capullo® (Alimentos Capullo, Ciudad de México, México) como fase oleosa en las emulsiones. Todos los demás reactivos utilizados fueron grado analítico y en todos los casos se utilizó agua desionizada (AD).

#### **3.4.2 Extracción de la goma de semilla de tamarindo.**

Las semillas de tamarindo se retiraron manualmente de la pulpa, se lavaron con agua del grifo, fueron secadas a 40 °C durante 24 h, y se almacenaron en botellas transparentes cubiertas con papel aluminio para protegerlas de la luz y el calor (Cardoso, Dariva, Vieira y Hense, 2016).

Las semillas de tamarindo se sometieron a tres procedimientos de purificación descritos en la Fig. 3: una goma de pureza baja (GST<sub>PB</sub>) extraída de semillas de tamarindo completas; una goma de pureza media (GST<sub>PM</sub>) extraída del grano de tamarindo desgrasado, y una goma de pureza alta (GST<sub>PA</sub>) extraída del grano de tamarindo desgrasado, y de la cual se eliminó la proteína soluble.

La GST<sub>PB</sub> se extrajo mediante el método seguido por Alpizar et al. (2017a) con ligeras modificaciones. Las semillas de tamarindo se trituraron (molino de cuchillas Nixtamatic<sup>®</sup>, Ciudad de México, México) y se pulverizaron a través de un tamiz de malla de 355  $\mu\text{m}$ . La muestra (60 g) de polvo de semilla de tamarindo se colocó en un vaso de precipitados de 2 L y se añadió AD en una proporción de 1:30 p/v. La mezcla resultante se agitó (Mod. SP131635, Thermo Scientific Cimarec<sup>™</sup>, Essex, Reino Unido) a nivel 7 durante 10 minutos para lograr una mezcla homogénea, se calentó a 80 °C durante 30 minutos y se dejó reposar a 20 °C durante 24 h para asegurar la liberación de la goma. Posteriormente, el material no disuelto se eliminó mediante centrifugación (Centrifuge 5810 R, Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania) a 10 °C durante 15 minutos a 524xg. La goma se precipitó del sobrenadante mediante la adición de etanol al 96 % v/v en una relación 1:2 v/v, aplicando agitación constante durante 10 minutos y la mezcla se dejó reposar durante 2 horas más. La GST<sub>PB</sub> se secó hasta alcanzar un peso constante a  $45 \pm 1$  °C en un horno de aire caliente (Bansal & Kumar, 2014) y se trituró hasta obtener un polvo fino.

Para el caso de la GST<sub>PM</sub>, las semillas de tamarindo se trituraron (Molinos Lasser, SA de CV, Tlalnepantla, Estado de México, México) y los granos se separaron manualmente del recubrimiento de las semillas. Los granos fueron triturados y molidos, como se describió anteriormente. El polvo del grano se desgrasó en una cápsula con n-hexano a 69 °C durante 4 h. La muestra (60 g) de polvo de grano desgrasado se procesó de la misma manera que se describió anteriormente para GST<sub>PB</sub>.

Finalmente, para obtener GST<sub>PA</sub>, se dispersaron 60 g de polvo de grano desgrasado en AD a una proporción de 1:10 p/v durante 10 minutos a 800 rpm. El pH se ajustó a 9.5 usando NaOH 1 N y se agitó a temperatura ambiente (20 - 22 °C) a nivel 7 durante 30 minutos. El extracto alcalino se centrifugó a 437xg durante 15 minutos a 4 °C, y el sedimento se separó del sobrenadante que contenía la proteína solubilizada (Martínez et al. 2018). El sedimento se colocó en un vaso de precipitados de 2 L, se añadió AD en una proporción de 1:30 p/v,

y el pH se ajustó a 6.8 con HCl 1N. Posteriormente, la mezcla se sometió al mismo procedimiento que para GST<sub>PB</sub> y GST<sub>PM</sub>, para obtener GST<sub>PA</sub>.

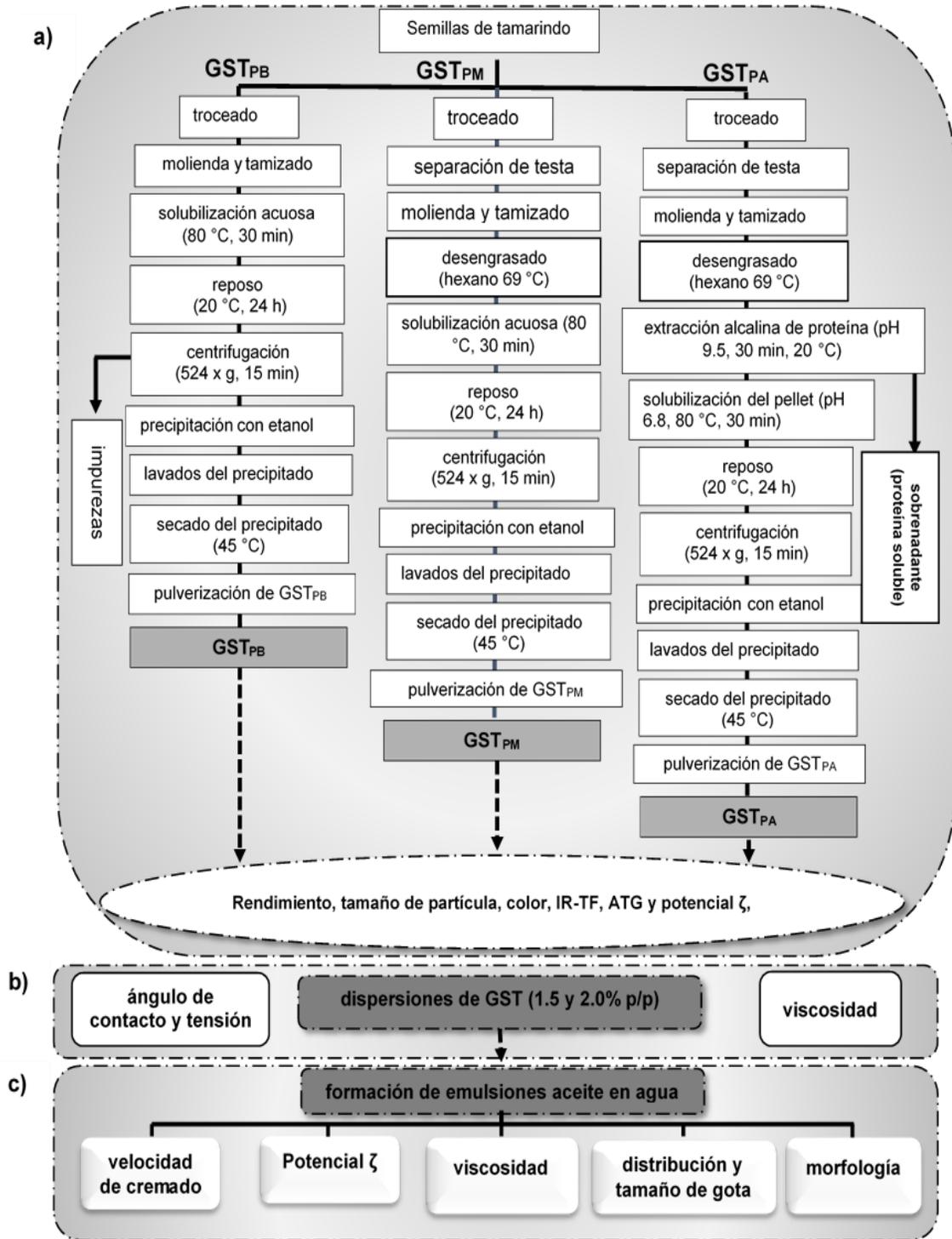


Figura 3. Diagrama de flujo mostrando las diferentes etapas de este trabajo

### 3.4.3 Rendimiento de la GST

El rendimiento fue calculado como porcentaje de materia seca de la goma obtenida (GST) entre el peso de las semillas secas utilizadas para la extracción (Alpizar et al. 2017a).

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{peso seco de goma (GST)}}{\text{peso seco de semillas}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

### 3.4.4 Caracterización fisicoquímica de la GST

#### Composición química

Se determinaron los contenidos de humedad, grasa y cenizas de GST<sub>PB</sub>, GST<sub>PM</sub> y GST<sub>PA</sub> (AOAC, 2005). El contenido de nitrógeno de las gomas se determinó mediante el método de micro-Kjeldahl y se estimó el contenido de proteína cruda ( $N \times 6.25$ ). El contenido total de carbohidratos se evaluó por diferencia. El contenido total de polifenoles (CTP) se analizó utilizando el reactivo de Folin - Ciocalteu, los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de goma seca (Regazzoni et al. 2016). El contenido total de flavonoides (CTF) se determinó mediante la prueba de cloruro de aluminio y los resultados se expresaron como mg de equivalentes de quercetina (EQ)/g de goma seca (Al-dhabi, Ponmurugan y Maran, 2017). El contenido total de taninos (CTT) se analizó mediante la prueba de yodato de potasio y se expresó como mg de equivalentes de ácido tánico (EAT)/g de goma seca (Choi & Koh, 2017).

#### Color de la GST

El color de las GST secas se evaluó utilizando un colorímetro (CR 400, Konica Minolta, Inc., Tokio, Japón). Las muestras de GST (5 g) se colocaron en cajas Petri (5 cm de diámetro) y los parámetros de color Hunter *L*, *a* y *b* correspondientes a la luminosidad (*L*), verde (- *a*) o rojo (+ *a*) y azul (- *b*) o amarillo

(+ *b*) se determinaron a temperatura ambiente (Martínez, Lozano, Roldan, Meraz y Rodríguez, 2018).

### **Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (IFTR)**

Los espectros de infrarrojo se registraron con un espectrofotómetro IFTR (Frontier, Perkin Elmer, Ciudad de México, México), equipado con un accesorio de reflectancia total atenuado universal, utilizando el procedimiento descrito por Martínez et al. (2018). La muestra (10 mg) de GST se colocó en contacto con el cristal de diamante ajustando la geometría a una calibración de la fuerza de 60 unidades. Se registró la absorbancia a longitudes de onda de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  con una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Se realizó el análisis de auto deconvolución de Fourier (FSD) y la segunda derivada, posteriormente se ajustaron los picos en la región de la amida-I ( $1700 - 1600\text{ cm}^{-1}$ ) utilizando el software del equipo. Los picos gaussianos podrían asignarse a su estructura correspondiente en función de su centro y la integral de cada pico que fue dividido entre la suma de todos los picos determinados para identificar la proporción (%) de cada estructura.

### **Análisis termogravimétrico (ATG)**

El análisis termogravimétrico (TGA, TA Instruments 2950 New Castle, DE, EE. UU.) se utilizó para determinar la pérdida de peso durante el calentamiento de las diferentes muestras de GST. El ATG es una técnica simple y precisa para estudiar el patrón de descomposición y la estabilidad térmica de los polímeros. Se realizó una exploración dinámica de temperatura de 0 a  $500\text{ °C}$  a una velocidad de calentamiento de  $10\text{ °C/min}$  en una atmósfera de  $\text{N}_2$ . La muestra de GST ( $\sim 13\text{ mg}$ ) se colocó en una charola abierta y la pérdida de peso fue monitoreado continuamente con el software del equipo (Daoub, Elmubarak, Misran, Hassan y Osman, 2016).

### **Potencial Zeta ( $\zeta$ ) y tamaño de partícula**

Las soluciones de GST (0.05 % p/p) fueron colocadas en celdas de un equipo Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Ltd., Malvern, Worcestershire, Reino

Unido), y el potencial  $\zeta$  fue calculado por el instrumento, utilizando el modelo de Smoluchowski (Cuevas, Lobato, Román, Álvarez y Vernon, 2016). El diámetro hidrodinámico ( $d_h$ ) de las soluciones de goma y el índice de polidispersidad (PDI) se evaluaron mediante dispersión de luz dinámica utilizando el equipo Zetasizer (Kaewmanee et al. 2014).

### **Mediciones de viscosidad**

Las curvas de flujo de las soluciones de GST a concentraciones de 1.5 y 2.0 % p/p se determinaron con rampas de velocidad de cizallamiento de  $10^{-1}$  a  $10^3 \text{ s}^{-1}$  a 25 °C con un reómetro Physica MCR 301 (Anton Paar, Messtechnik, Stuttgart, Alemania), acoplado a una geometría de cilindros concéntricos (Cuevas et al. 2016). Las soluciones de goma se agitaron brevemente con un agitador magnético para asegurar la homogeneidad antes de la medición. Los datos de las curvas de flujo se ajustaron a los modelos reológicos de Carreau, Casson, Cross, Herschel-Bulkley y Ellis (Darby & Chhabra, 2017) utilizando el software del reómetro, seleccionando el modelo que mostró el  $R^2$  más alto.

### **Ángulo de contacto y tensión interfacial.**

Se utilizó un dispositivo de ángulo de contacto óptico (OCA20, Data Physics Instruments, Filderstadt, Alemania) para determinar el ángulo de contacto ( $\theta$ ) y la tensión interfacial ( $\sigma$ ) de la GST. La medición de ( $\theta$ ) se realizó según lo descrito por Estrada et al. (2018) con ligeras modificaciones. Las soluciones de GST (1.5% p/p) se prepararon con AD con agitación suave a temperatura ambiente y se mantuvieron a 4 °C durante 24 h para su completa hidratación antes de la evaluación. Las soluciones de GST se extendieron uniformemente por separado en portaobjetos de vidrio y se secaron en un horno de convección forzada (Riossa, modelo E - 51, Ciudad de México, México) a 35 °C, hasta que se obtuvieron películas homogéneas con peso constante (*i.e.* cuando las diferencias entre dos pesos consecutivos fueran menores que 1 mg/g). En todos los casos, el contenido de humedad de las películas fue de  $5.2 \pm 0.3$  % p/p. Las películas se colocaron en desecadores que contenían gel de sílice hasta que se requirieron

para su análisis. El perfil de una gota sésil de agua (5  $\mu\text{L}$ ) a 25 °C se resolvió numéricamente y se ajustó a la ecuación de Laplace - Young para la obtención de  $\theta$  (Zou et al. 2016).

La dinámica de adsorción interfacial de las diferentes GST (0.1 % p/p) en la interfaz agua - aceite de canola se determinó al monitorear la evolución de la tensión interfacial ( $\sigma$ ) a través del tiempo ( $\theta$ ), siguiendo el procedimiento descrito por Trujillo et al. (2018) con ligeras modificaciones. Una gota de aproximadamente 40  $\mu\text{L}$  de GST se formó automáticamente con la ayuda de una jeringa en una celda de vidrio que contenía aceite de canola. La forma de la gota se analizó para registrar cambios en la tensión interfacial durante un período de 3.0 h con una cámara CCD. Los experimentos se llevaron a cabo a 25 °C.

#### **3.4.5 Preparación de las emulsiones.**

Las emulsiones de aceite en agua se prepararon de acuerdo con el procedimiento de Cuevas et al. (2016) con algunas modificaciones. Las soluciones de goma a concentración de 1.5 y 2.0 % (p/p) se prepararon como se describió anteriormente. La fase dispersa (10 g de aceite de canola) se añadió gota a gota con agitación continua a la dispersión acuosa (90 g de solución de GST) con la ayuda de un homogeneizador básico Ultra-Turrax T50 de alto cizallamiento (IKA Works, Inc., Wilmington, DE, EE. UU.), a una velocidad de rotación de 8800 rpm durante 5 minutos. Las emulsiones gruesas se pasaron a través de un homogeneizador de alta presión (Microfluidizer M-110P, Microfluidics Corporation, Newton, MA, EE. UU.), a 100 MPa durante tres ciclos. Las emulsiones resultantes se codificaron como  $E_{x,y}$ , donde  $x$  = tipo de GST y  $y$  = concentración de GST (% p/p).

#### **3.4.6 Caracterización de las emulsiones**

Se determinó el tamaño inicial de la gota con el diámetro volumétrico - superficial ( $d_{3,2}$ ) y su evolución con el tiempo de almacenamiento ( $4 \pm 1$  °C) a los 1, 7, 14 y 21 días, así mismo, se obtuvo la distribución del tamaño de partícula (DTP) en

un equipo Malvern serie 2600 (Malvern Instruments, Malvern, Worcestershire, Reino Unido). Se utilizó un índice de refracción relativo de 1.104 (relación de los índices de refracción en la fase de aceite y agua).

La morfología de las emulsiones a 1 día de almacenamiento se visualizó utilizando un microscopio óptico (Olympus BX45, Olympus Optical Co., Tokio, Japón) acoplado a un sistema analizador de imágenes (cámara digital Olympus C3030, Olympus Imaging Americas Inc., Center Valley, PA, EE.UU). Se muestran las micrografías seleccionadas tomadas con un aumento de 100 x.

Las emulsiones de 1 día de almacenamiento se diluyeron en AD a una proporción de 1:50 (v/v) y su potencial  $\zeta$  se determinó en un equipo Zetasizer.

La viscosidad aparente se determinó a una tasa de corte fija ( $50 \text{ s}^{-1}$ ) de las  $E_{x,y}$  almacenadas a 1 día. La viscosidad se evaluó con un reómetro Physica MCR 301, acoplado a una geometría de cilindros concéntricos. Los valores de viscosidad aparente a  $50 \text{ s}^{-1}$  se eligieron para fines de comparación entre diferentes muestras de GST, ya que se ha demostrado que esta tasa de corte es aproximadamente igual a la utilizada por los consumidores para discriminar la viscosidad en la boca (Wang et al., 2016).

La velocidad de cremado de  $E_{x,y}$  se evaluó de acuerdo con el método informado por Cuevas et al. (2016) utilizando un equipo LUMisizer (LUM GmbH, Berlín, Alemania). Las muestras de emulsión (1.5 ml) se sometieron a una velocidad de rotación de 2000 rpm, durante 2 h a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Se determinaron aproximadamente 250 mediciones a intervalos de tiempo de 30 s. Se obtuvieron gráficos de transmisión normalizada (%) en función de la posición (mm) en el intervalo de escala (100 mm - 130 mm). El software del equipo proporcionó la velocidad de cremado (% de transmisión integrada/h) calculada a partir de la pendiente.

### **3.4.7 Análisis de datos**

Los análisis se llevaron a cabo por triplicado de muestras independientes utilizando un diseño experimental aleatorizado. Los datos se sometieron a un

Análisis de Varianza de Clasificación Simple y se realizó un análisis de comparación de medias por medio de la prueba de Tukey. El nivel de significancia se estableció en  $p \leq 0.05$ . El análisis de los datos se realizó con el software Statgraphics Centurion XVI (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Cambridge, MA, EE. UU.).

### 3.5 Resultados y discusión

#### 3.5.1 Composición química y rendimiento de las gomas.

El contenido de humedad de las GST varió de 7.9 a 8.1 %, la composición proximal se expresó en base seca (Cuadro 1). La composición química de las GST se afectó significativamente ( $p \leq 0.05$ ) por el procedimiento de purificación utilizado para obtenerlas. Como era de esperarse, el contenido de carbohidratos de GST aumentó significativamente ( $p \leq 0.05$ ) a medida que se eliminaron parcialmente las impurezas, la grasa y/o la proteína, variando de  $79.24 \pm 0.68$  % para GST<sub>PB</sub> a  $89.56 \pm 1.48$  % para GST<sub>PA</sub>. El contenido de carbohidratos de GST<sub>PA</sub> fue significativamente ( $p \leq 0.05$ ) superior al 80.66 % reportado por Khounvilay y Sittikijyothin (2012), 79.76 % por Alpizar et al. (2017a) y 85.74 % por Chandra et al. (2018). Los valores de pH de las soluciones de GST fueron de 6.7 para GST<sub>PB</sub> y 6.9 para GST<sub>PM</sub> y GST<sub>PA</sub>. Kumar, Battu y Lova (2011) reportaron un pH de 6.81 para soluciones de GST al 1.0 % p/p.

El contenido de proteína de GST<sub>PM</sub> ( $16.53 \pm 0.19$  %) fue significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) que para GST<sub>PB</sub> ( $12.11 \pm 0.14$  %) y GST<sub>PA</sub> ( $9.0 \pm 0.12$  %). Estos resultados se debieron a que se desengrasó la GST<sub>PM</sub> y se decorticaron las semillas de tamarindo, mientras que la GST<sub>PB</sub> no se sometió a estos dos procedimientos. Alpizar et al. (2017a) informó un contenido de proteína del 14.78 %, y Khounvilay y Sittikijyothin (2012) del 13.51 % para GST extraída con agua caliente sin purificación adicional. El menor contenido de proteína exhibido por GST<sub>PA</sub> puede atribuirse al proceso de purificación al que fue sometido (desengrasado + extracción alcalina de la proteína soluble). Se sabe que la precipitación con etanol de las gomas puede inducir la co-precipitación de otros

materiales, como proteínas, ácidos orgánicos, ciertas sales y otras sustancias similares (Gebresamuel y Gebre-Mariam, 2012). Chandra et al. (2018) encontraron un contenido de proteína de 0.58 % en GST sometidos a varias extracciones alcohólicas y acuosas alcalinas. Joseph Kanchalochana, Rajalakshmi, Hari y Durai (2012) informaron que el contenido de proteína en GST incluye proteína insoluble (38.7 %) y proteína soluble (61.3 %); la proteína soluble está compuesta de 21.7 % de proteína soluble en sales, 19.6 % de proteína soluble en agua, 16.7 % de proteína soluble en condiciones alcalinas y 3.9 % de proteína soluble en alcohol. El contenido de proteína residual en GST es relevante, ya que las propiedades interfaciales pueden verse afectadas (Kaewmanee et al. 2014).

El contenido de grasa presente en GST<sub>PB</sub> ( $7.20 \pm 0.31$  %) se redujo significativamente ( $p \leq 0.05$ ) en GST<sub>PM</sub> y GST<sub>PA</sub> al desengrasar. El contenido de grasa en GST no desgrasadas, se ha reportado en 4.76 % (Alpizar et al. 2017a) y 5.76 % (Khounvilay & Sittikijyothin, 2012). Las diferencias en el contenido de grasa se pueden atribuir a la variedad botánica, el origen geográfico y las condiciones de cultivo (Alpizar et al. 2017a). El contenido de cenizas de las GST varió de  $0.38 \pm 0.07$  a  $0.94 \pm 0.01$  %, y se ubicó dentro del intervalo de valores informado por otros autores (0.07 a 3.68 %) para GST purificadas y no purificadas (Chandra et al. 2018; Khounvilay & Sittikijyothin, 2012).

El contenido total de polifenoles, flavonoides y taninos disminuyó significativamente ( $p \leq 0.05$ ) a medida que aumentó la purificación de GST (Cuadro 1). Por lo tanto, la GST<sub>PB</sub> (no decorticada) exhibió la mayor concentración de estos antioxidantes, mientras que las GST<sub>PM</sub> y la GST<sub>PA</sub> (decorticadas) mostraron un contenido de antioxidantes significativamente más bajo ( $p \leq 0.05$ ) (valores casi nulos). Los resultados señalan que estos compuestos antioxidantes estaban predominantemente contenidos en la cubierta de la semilla (pericarpio). Luengthanaphol, Mongkholkhajornsilp y Douglas (2004) informaron que los restos polares de las moléculas polifenólicas podían disolverse en etanol (disolvente polar). La actividad antioxidante de la testa de semilla de tamarindo

se ha atribuido a la presencia de 2-hidroxi-3',4'-dihidroxiacetofenona; 3,4-hidroxibenzoato de metilo; 3,4-dihidroxifenil acetato y (-) - epicatequina (Tsuda et al. 1994). Bhatta, Krishnamoorthy y Mohammed (2001) encontraron un CTP de 145-155 mg/g en el pericarpio de la semilla de tamarindo seco. Kumar, Battu y Lova (2011) no detectaron compuestos fenólicos y taninos en GST extraídos de semillas de tamarindo decorticadas.

Cuadro 1. Rendimiento y características fisicoquímicas de la goma de semilla tamarindo (base seca) sometida a diferentes procesos de purificación.

	Goma de semilla de tamarindo		
	GST <sup>y</sup> <sub>PB</sub>	GST <sub>PM</sub>	GST <sub>PA</sub>
Rendimiento (%)	27.93 ± 0.23c <sup>z</sup>	22.12 ± 0.11b	18.93 ± 0.35a
Proteína (%)	12.11 ± 0.14b	16.53 ± 0.19c	9.00 ± 0.12a
Grasa (%)	7.20 ± 0.31b	0.08 ± 0.01a	0.10 ± 0.01a
Cenizas (%)	0.72 ± 0.00ab	0.94 ± 0.01b	0.38 ± 0.07a
Carbohidratos (%)	79.24 ± 0.68a	81.29 ± 0.09b	89.56 ± 1.48c
CTP <sup>x</sup> (mg EAG <sup>w</sup> /g)	1.222 ± 0.006c	0.011 ± 0.005b	0.003 ± 0.000a
CTF (mg EQ/g)	0.195 ± 0.023c	0.009 ± 0.001b	0.005 ± 0.001a
CTT (mg AT/g)	0.007 ± 0.002b	0.000 ± 0.000a	0.001 ± 0.000a
Potencial ζ (mV)	-11.00 ± 0.19c	-8.96 ± 0.38b	-5.72 ± 0.20a
d <sub>h</sub> (nm)	979.89 ± 62.95a	983.2 ± 72.17a	965.1 ± 64.60a

<sup>z</sup> Media ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> GST<sub>PB</sub>: goma de semilla de tamarindo de purificación baja; GST<sub>PM</sub>: goma de semilla de tamarindo de purificación media; GST<sub>PA</sub>: goma de semilla de tamarindo de purificación alta

<sup>x</sup> CTP: contenido total de polifenoles; CTF: contenido total de flavonoides; CTT: contenido total de taninos; d<sub>h</sub>: diámetro hidrodinámico.

<sup>w</sup> EAG: equivalentes de ácido gálico; EQ: equivalentes de quercetina; AT: ácido tánico.

El rendimiento de GST disminuyó a medida que se involucraron más pasos en el procedimiento de purificación, variando de la siguiente manera: 27.93 ± 0.23 % para GST<sub>PB</sub>, 22.12 ± 0.11 % para GST<sub>PM</sub> y 18.93 ± 0.35 % para GST<sub>PA</sub>. Alpizar et al. (2017a) reportaron un rendimiento de GST de 29.83 %.

### 3.5.2 Color

Los parámetros de color *L*, *a* y *b* de GST se vieron afectados por la purificación. Se observaron valores de *L* significativamente más altos ( $p \leq 0.05$ ) a medida que se involucraron más pasos de purificación, es decir, la blancura de GST fue

mayor. Los valores de  $L$  variaron de la siguiente manera:  $59.01 \pm 0.34$  ( $GST_{PA}$ ) >  $53.84 \pm 0.11$  ( $GST_{PM}$ ) >  $39.19 \pm 0.43$  ( $GST_{PB}$ ). El incremento en los pasos de purificación disminuyó los valores de  $a$  y  $b$ . De esta manera, los valores de  $a$  fueron  $6.86 \pm 0.14$  para  $GST_{PB}$  >  $3.87 \pm 0.08$  para  $GST_{PM}$  >  $3.37 \pm 0.06$  para  $GST_{PA}$ . La disminución en  $a$  se puede atribuir principalmente a la eliminación de pigmentos asociados con la testa de las semillas, que presentan un color rojo a marrón púrpura (Bagul, Sonawane y Arya, 2015). El valor  $b$  fue significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) para  $GST_{PB}$  ( $7.13 \pm 0.27$ ) que para  $GST_{PM}$  ( $6.72 \pm 0.09$ ) y  $GST_{PA}$  ( $5.77 \pm 0.08$ ). La disminución del color amarillo podría atribuirse a la eliminación secuencial de los pigmentos cuando se elimina la testa de la semilla y al desgrasarla (Fig. 4), ya que la grasa puede contener pigmentos (por ejemplo, carotenoides). El color básico del polvo de núcleo de tamarindo es blanco cremoso (Nagajothi, Balasubramanian y Thombare, 2017).

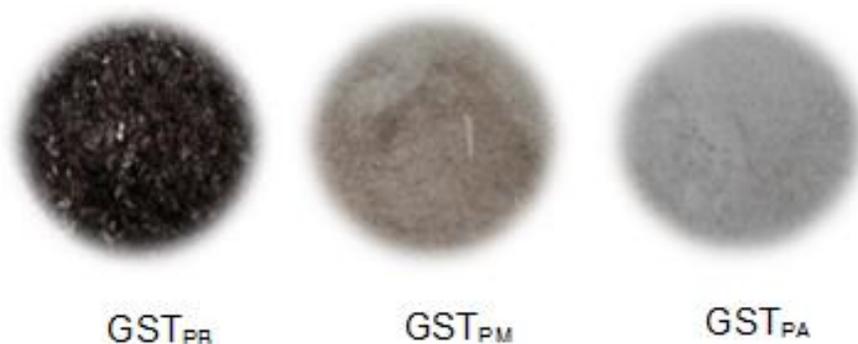


Figura 4. Color de las gomas de semilla de tamarindo (GST) en polvo de acuerdo a su grado de purificación;  $GST_{PB}$  (purificación baja),  $GST_{PM}$  (purificación media) y  $GST_{PA}$  (purificación alta)

### 3.5.3 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (IFTR)

Los espectros de infrarrojo de las diferentes GST se muestran en la Fig. 5. Independientemente del proceso de purificación, las muestras de GST mostraron una banda ancha centrada en  $3380\text{ cm}^{-1}$  atribuida a la vibración de estiramiento de  $-OH$  y una banda aguda a  $2919\text{ cm}^{-1}$  debido al estiramiento de vibración alifática  $-CH$  de la fracción lipídica (Chandra et al., 2018; Alpizar et al., 2017a). Por lo tanto, es evidente que el proceso de desengrasado no eliminó

completamente la grasa presente en GST (Cuadro 1). Dos bandas intensas atribuidas a la amida I a  $1644\text{ cm}^{-1}$  y la amida II a  $1531\text{ cm}^{-1}$  (Trujillo et al. 2018) mostraron que todas las GST contenían moléculas de proteínas incluso después de la extracción alcalina (Sudharsan et al. 2016). El esqueleto de xiloglucano mostró tres picos de absorbancia característicos del xiloglucano: un pico agudo a  $1371\text{ cm}^{-1}$  debido a la flexión de  $-\text{CH}_2$ , un pico suave a  $1280\text{ cm}^{-1}$  y un pico intenso a  $1022\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al estiramiento del enlace  $-\text{CO}$  del anillo del xiloglucano (Alpizar et al. 2017a). El pico a  $1439\text{ cm}^{-1}$  se debe a la vibración esquelética de C-C (Chandra et al. 2016). Los tres picos aparecieron sin ningún cambio significativo para todas las GST, lo que sugiere que la estructura química de la goma de tamarindo no fue alterada por la purificación.

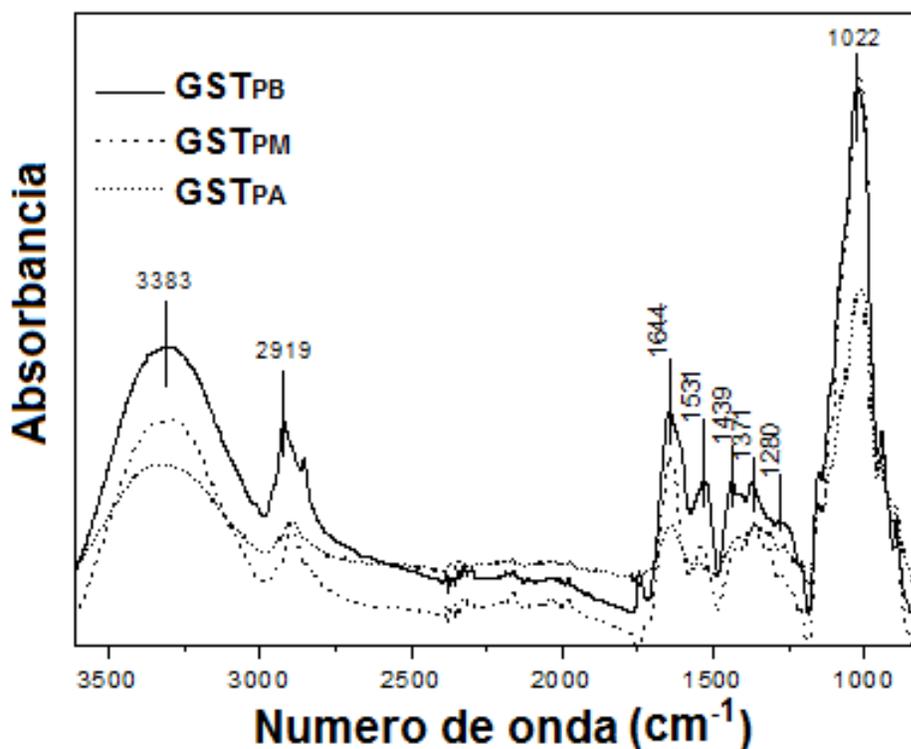


Figura 5. Espectro IR-TF de las gomas de semilla de tamarindo (GST) de acuerdo a su grado de purificación; GST<sub>PB</sub> (purificación baja), GST<sub>PM</sub> (purificación media) y GST<sub>PA</sub> (purificación alta)

La estructura secundaria de la proteína se basa comúnmente en el análisis de la banda de la amida I. La deconvolución de la banda amida I permitió aislar e identificar las estructuras secundarias de las GST (Fig. 6). Los picos gaussianos se asignaron a su estructura correspondiente en función de su centro. El centro de los agregados intermoleculares ( $W_{A1}$ ), hoja  $\beta$  ( $W_{\beta}$ ), espiral aleatoria ( $W_{RC}$ ), hélice  $\alpha$  ( $W_{\alpha}$ ), giro  $\beta$  ( $W_T$ ) y hoja  $\beta$  anti-paralela ( $W_{\beta-A}$ ) para las GST se presentan en el Cuadro 2. Los pesos espectrales relativos ( $W_i$ ) y el porcentaje de las estructuras secundarias (Cuadro 2) se obtuvieron de las áreas de los picos. La estructura secundaria de la proteína predominante en  $GST_{PB}$  fue  $W_{\alpha}$  (43.38 %), pero estuvo ausente en  $GST_{PM}$  y  $GST_{PA}$ . Por otro lado, las estructuras secundarias  $W_{\beta}$  y  $W_{\beta-A}$  se encontraron en un mayor porcentaje en  $GST_{PM}$  y  $GST_{PA}$  que en  $GST_{PB}$  (Cuadro 2). Los cambios en la estructura secundaria de las proteínas indicaron que se desnaturalizaron, probablemente, debido a las condiciones térmicas y alcalinas utilizadas para la purificación de GST.

Cuadro 2. Valores máximos y contenido relativo de los componentes de la estructura secundaria de la proteína presente en las gomas de semillas de tamarindo, obtenidas de la deconvolución espectral de la región amida I

Componente de la estructura secundaria	$GST_{PB}^z$		$GST_{PM}$		$GST_{PA}$	
	Valor del pico central ( $cm^{-1}$ )	Contenido relativo (%)	Valor del pico central ( $cm^{-1}$ )	Contenido relativo (%)	Valor del pico central ( $cm^{-1}$ )	Contenido relativo (%)
$W_{A1}^y$	1615.60	7.31	1609.99	3.74	1617.43	7.92
$W_{\beta}$	1636.19	20.00	1627.43	28.73	1630.98	26.23
$W_{RC}$		ND	1646.79	28.62	1650.14	38.33
$W_{\alpha}$	1653.60	43.38		ND		ND
$W_T$	1673.26	24.39	1665.44	26.80	1669.53	18.76
$W_{\beta-A}$	1690.40	4.93	1686.78	12.11	1687.93	8.76
$R^2$	0.99		0.99		0.98	

<sup>z</sup>  $GST_{PB}$ : goma de tamarindo de purificación baja;  $GST_{PM}$ : goma de tamarindo de purificación media;  $GST_{PA}$ : goma de semilla de tamarindo de purificación alta.

<sup>y</sup> Los símbolos en la primera columna se refieren a estructuras de agregados intermoleculares ( $W_{A1}$ ), hoja  $\beta$  ( $W_{\beta}$ ), espiral aleatoria ( $W_{RC}$ ), hélice  $\alpha$  ( $W_{\alpha}$ ), giro  $\beta$  ( $W_T$ ) y hoja  $\beta$  antiparalela ( $W_{\beta-A}$ ).  $R^2$ : coeficiente de determinación, ND = No detectado.

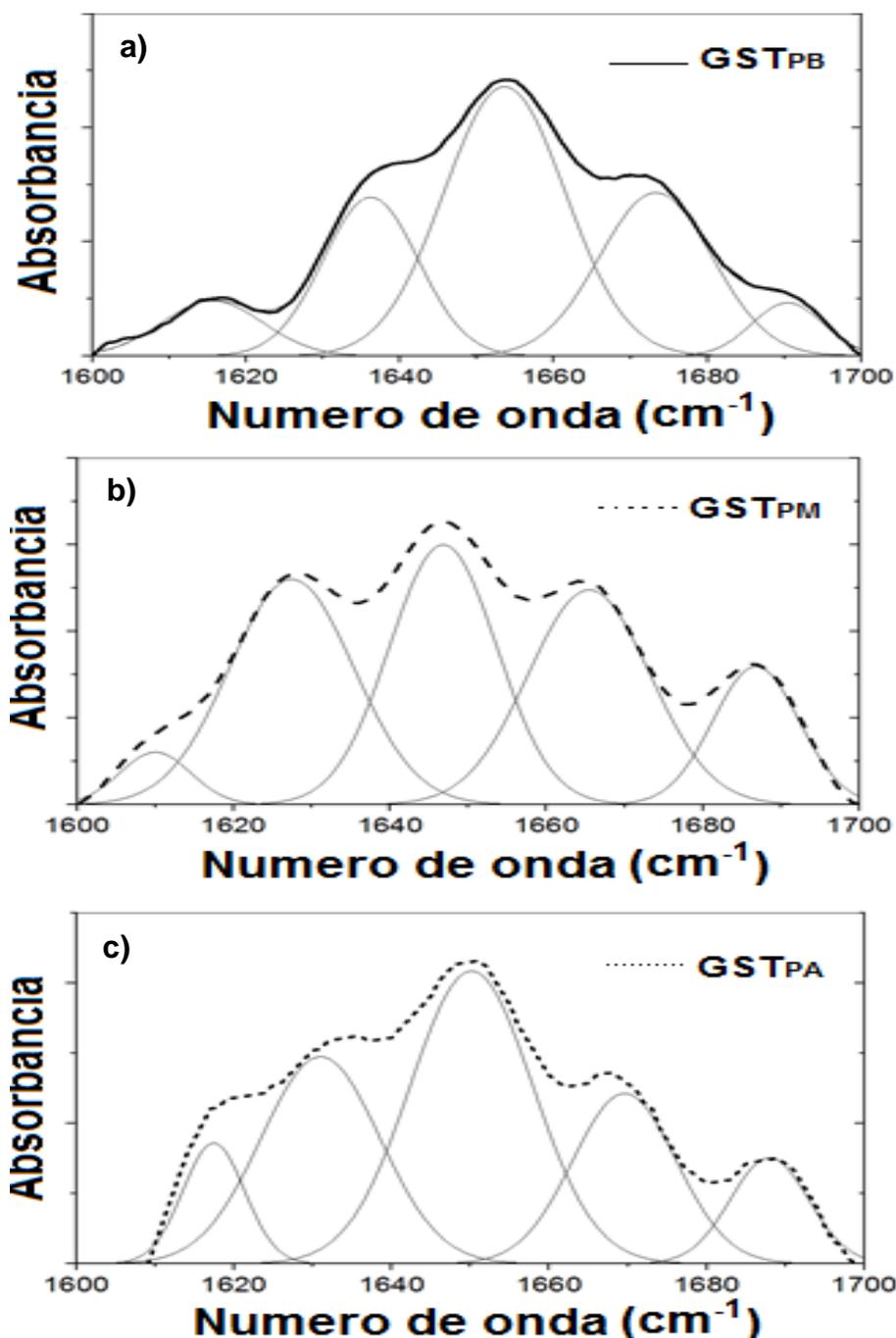


Figura 6. Deconvolución del área de la amida I de las gomas de semilla de tamarindo (GST), a) GST<sub>PB</sub> (purificación baja), b) GST<sub>PM</sub> (purificación media) y c) GST<sub>PA</sub> (purificación alta)

### 3.5.4 Análisis termogravimétrico (ATG)

Los resultados de ATG mostraron que las señales termogravimétricas de las gomas (Fig. 7) fueron similares cuando se calentaron de 0 a 500 °C, lo que resultó en dos eventos de pérdida de masa. El primero (por debajo de 270 °C) atribuido a la desorción de agua de la matriz de polisacáridos, lo cual fue indicativo de que todas las gomas eran térmicamente estables independientemente del proceso de purificación al que fueron sometidas. La segunda pérdida de masa correspondió a la descomposición térmica del polisacárido a temperaturas iniciales de 276.62 °C para GST<sub>PB</sub>, 281.19 °C para GST<sub>PM</sub> y 283.92 °C para GST<sub>PA</sub>, que están muy por encima de las implicadas en el uso de estas gomas en aplicaciones prácticas. Se informó un comportamiento similar para la goma de tamarindo (Alpizar et al. 2017a) y para la goma de *Acacia* (Cozic, Picton, Garda, Marlhoux, y Le Cert, 2009; Daoub et al., 2018).

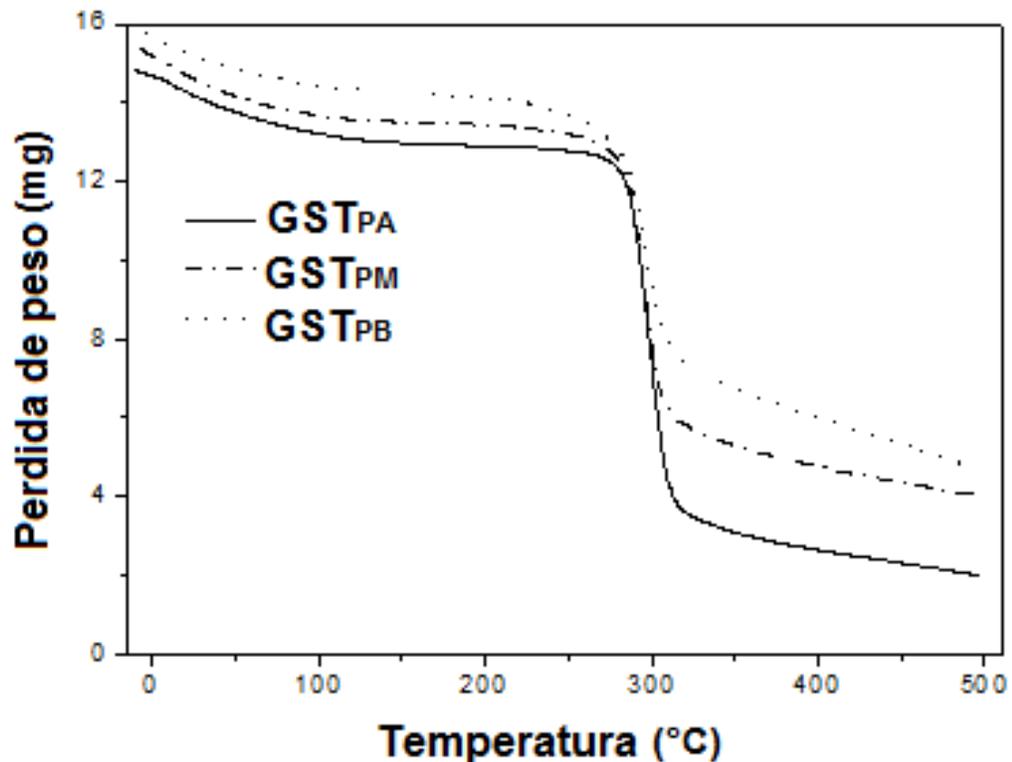


Figura 7. Termograma ATG de gomas de semillas de tamarindo (GST); GST<sub>PB</sub> (purificación baja), GST<sub>PM</sub> (purificación media) y GST<sub>PA</sub> (purificación alta)

### 3.5.5 Potencial Zeta ( $\zeta$ ) y diámetro hidrodinámico

Los valores del potencial  $\zeta$  están relacionados con la estabilidad del sistema coloidal. Si las partículas en una suspensión tienen un gran potencial  $\zeta$  negativo o positivo, tienden a repelerse entre sí y no se puede observar una tendencia a la agregación entre partículas. En contraste, si las partículas tienen un valor potencial  $\zeta$  bajo, se favorecen la agregación y la floculación (Acedo et al. 2006). Todas las soluciones de GST presentaron valores de  $\zeta$  negativos que fueron significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) y variaron de  $-11.00 \pm 0.19$  mV para GST<sub>PB</sub> a  $-5.72 \pm 0.20$  mV para GST<sub>PA</sub> (Cuadro 1). González et al. (2017) informaron un valor de potencial  $\zeta$  de  $-12$  mV a pH 10.0 para GST sin purificar. La disminución en los valores de potencial  $\zeta$  de GST a medida que aumentaban los pasos de purificación, reveló que un mayor número de cargas de los compuestos e impurezas fueron eliminadas. Las diferencias en los valores del potencial  $\zeta$  corresponden a la expresión de las densidades de cargas estructurales exhibidas por las entidades químicas presentes en las GST. El método de extracción, contenido de azúcar, proteína y pH, pueden inducir a variaciones en los valores de potencial de las gomas (Kaewmanee et al. 2014). Por ejemplo, la proteína soluble eliminada durante la purificación de GST<sub>PA</sub> exhibió un potencial  $\zeta$  de  $-35.1$  mV.

El diámetro hidrodinámico ( $d_h$ ) de las dispersiones de GST no fue significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ) y varió entre  $979.89 \pm 62.95$  y  $983.2 \pm 72.17$  nm (Cuadro 1). Estos resultados se ubicaron dentro del intervalo (416.00 a 1,031.13 nm) informado para el mucílago de lino de diferentes cultivares (Kaewmanee et al. 2014). El índice de polidispersidad (IPD) se utiliza para describir el grado de no uniformidad de una distribución de tamaño de partículas. Las dispersiones de GST mostraron valores de IPD significativamente diferentes, que variaron de la siguiente manera:  $0.34 \pm 0.05$  para GST<sub>PA</sub> <  $0.56 \pm 0.07$  para GST<sub>PM</sub> <  $0.67 \pm 0.09$  para GST<sub>PB</sub>. Los valores de IPD menores a 0.05 se consideran monodispersos y los mayores a 0.7 son característicos de los sistemas que tienen una distribución de tamaño de partícula muy amplia (Danaei

et al. 2018). La variación de los valores de IPD de las dispersiones de GST, mostró que el aumento en la eliminación de impurezas produjo una distribución de tamaño de partícula más estrecha.

### 3.5.6 Viscosidad aparente

Las curvas  $\eta_{app}-\dot{\gamma}$  de las soluciones de GST (1.5 y 2.0 % p/p) a pH 7.0 a 25 °C se muestran en la Fig. 8. En todos los casos, GST exhibió en la  $\eta_{app}$  una región de meseta (comportamiento newtoniano) a tasas de corte bajas, seguidos de un comportamiento de adelgazamiento al corte no newtoniano a tasas de corte más altas. Diversas soluciones no newtonianas muestran este tipo de comportamiento que se atribuye a una "estructura" reversible, que se forma en "reposo" o en condiciones de equilibrio (Murillo, Pedroza, Lobato, Martínez y Vernon, 2011; Hernández, Lobato, Pimentel, y Vernon, 2014). Los datos del logaritmo de la viscosidad vs el logaritmo de la tasa de corte de todas las gomas (Fig. 8) presentaron un buen ajuste ( $R^2 > 0.95$ ) al modelo de Ellis (Darby & Chhabra, 2017)

$$\eta = \frac{\eta_0}{[1+(\lambda\dot{\gamma})^2]^p} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:  $\eta$  = viscosidad aparente;  $\dot{\gamma}$  = tasa de corte;  $\eta_0$  = viscosidad inicial;  $\lambda$  = constante de tiempo asociado al tiempo de relajación de los polímeros en solución y  $p$  = índice de reoadelgazamiento, que tiende a un valor de 1-n, donde n es el índice de flujo del modelo de la Ley de potencia. Los valores de los parámetros reológicos de la ecuación de Ellis para las soluciones de GST<sub>x,y</sub> se muestran en el Cuadro 3.

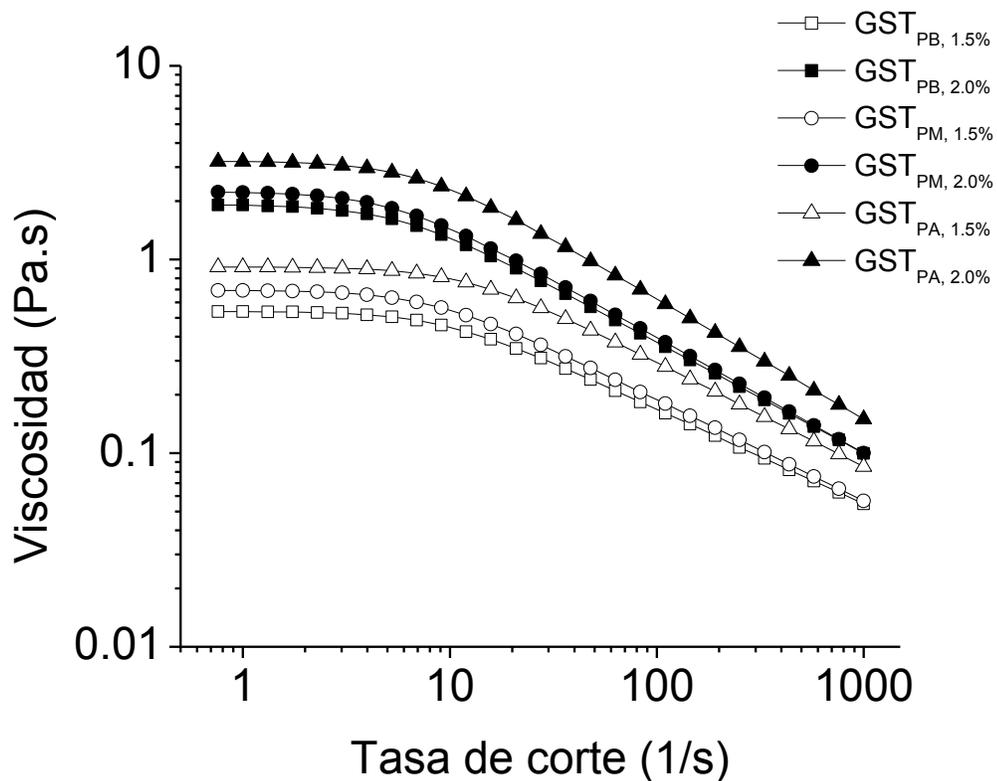


Figura 8. Dependencia de la viscosidad aparente- tasa de corte de soluciones de la goma de semilla de tamarindo (GST);  $GST_{PB}$  (purificación baja),  $GST_{PM}$  (purificación media) y  $GST_{PA}$  (purificación alta), a 1.5 y 2.0 % de concentración

Se puede observar en la Fig. 8 y el Cuadro 3, que la  $\eta_0$  de las soluciones de GST tendieron a ser más altas a medida de que aumentaron la concentración y purificación. La región newtoniana surge debido al estiramiento elástico de los entrecruzamientos entre las espirales propias del polisacárido. Los valores de  $\lambda$  proporcionan un orden de la tasa de corte crítica que marca el final de la región newtoniana de la tasa de corte cero y el inicio de la región de adelgazamiento al corte (Lobato, Martínez, Sandoval, Pérez y Vernon, 2004). A medida que la tasa de corte crítica excedía la meseta de  $\eta_0$ , los entrecruzamientos elásticos entre las moléculas de GST se fracturaron, ocasionando que los elementos estructurales se alinearan a lo largo en la dirección del flujo. En estas condiciones, el comportamiento al adelgazamiento fue más pronunciado (es decir, un valor de  $p$  más alto) a medida que aumento la concentración de GST, ya que la resistencia

al arrastre y la disipación de la viscosidad fueron mayores ( $p \leq 0.05$ ). Se han reportado tendencias similares para la goma de semilla de berro sin purificar (*Lepidium sativum*) (Razmkhah et al. 2016). Khounvilay y Sittikijyothin (2012) encontraron que las propiedades de flujo de soluciones de GST a concentraciones de 0.22 a 6.82 % presentaron un adecuado ajuste al modelo de Carreau y mostraban tendencias similares para  $\eta_0$ ,  $\lambda$  y  $p$  como las reportadas en este trabajo. Alpizar et al. (2018) informaron que las soluciones de GST a diferentes concentraciones (0.5 - 2.0 % p/p) y temperaturas (25 - 60 °C) mostraron un comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento descrito por el modelo de la Ley de potencia.

Cuadro 3. Valores medios de los parámetros del modelo de Ellis de goma de semilla de tamarindo

	$\eta_0^y$ (Pa·s)	$\lambda$ (s)	$p$	$R^2$
GST <sup>x</sup> <sub>PB</sub> , 1.5%	0.599 ± 0.02a <sup>z</sup>	0.145 ± 0.01a	0.233 ± 0.01a	0.98
GST <sub>PB</sub> , 2.0%	2.248 ± 0.24d	0.200 ± 0.02c	0.273 ± 0.00c	0.98
GST <sub>PM</sub> , 1.5%	0.765 ± 0.01b	0.159 ± 0.00a	0.249 ± 0.00b	0.98
GST <sub>PM</sub> , 2.0%	2.481 ± 0.20d	0.275 ± 0.00d	0.286 ± 0.01cd	0.98
GST <sub>PA</sub> , 1.5%	1.071 ± 0.05c	0.167 ± 0.00b	0.251 ± 0.01b	0.98
GST <sub>PA</sub> , 2.0%	3.663 ± 0.15e	0.274 ± 0.00d	0.298 ± 0.02d	0.98

<sup>z</sup> Medias ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma columna indican una diferencia significativa entre las medias ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup>  $\eta_0$ : viscosidad limitante de bajo cizallamiento  $\lambda$ : constante de tiempo asociada al tiempo de relajación de los polímeros en solución;  $p$ : índice de adelgazamiento de cizallamiento,  $R^2$ : coeficiente de determinación.

<sup>x</sup> GST: goma de semilla de tamarindo (GST); GST<sub>PB</sub> (purificación baja), GST<sub>PM</sub> (purificación media) y GST<sub>PA</sub> (purificación alta), a 1.5 y 2.0 % de concentración.

### 3.5.7 Humectabilidad de películas de GST

La humectación de materiales alimenticios sólidos desempeña un papel importante para una serie de aplicaciones prácticas tales como aglomeración, granulación, recubrimiento, secado, disolución y dispersión. Las propiedades de humectación generalmente se evalúan a través del ángulo de contacto ( $\theta$ ), que indica el grado de humectabilidad cuando interactúa un sólido y un líquido. Los ángulos de contacto pequeños ( $< 90^\circ$ ) corresponden a una alta humectabilidad,

mientras que los ángulos de contacto grandes ( $> 90^\circ$ ) corresponden a una baja humectabilidad. Por lo tanto, un ángulo de contacto inferior a  $90^\circ$  indica que la humectación de la superficie es favorable y el fluido se extenderá sobre un área grande en la superficie. Los ángulos de contacto superiores a  $90^\circ$  generalmente describen una humectabilidad de superficie desfavorable, por lo que el fluido minimizará su contacto con la superficie y formará una gota de líquido compacta (Forny, Marabi y Palzer, 2011). Los valores de  $\theta$  de las soluciones de GST difirieron significativamente ( $p \leq 0.05$ ), disminuyendo en el siguiente orden:  $GST_{PB}$  ( $97.16 \pm 1.74^\circ$ )  $>$   $GST_{PA}$  ( $82.60 \pm 3.89^\circ$ )  $>$   $GST_{PM}$  ( $69.90 \pm 1.10^\circ$ ). Estos resultados indican que las diferencias en la composición química afectaron el carácter hidrofóbico-hidrófilo de la GST. La cobertura de la superficie por componentes hidrófobos (por ejemplo, grasa) produce un ángulo de contacto mayor con el agua; mientras que la cobertura de la superficie por componentes hidrófilos (por ejemplo, proteínas y carbohidratos) produce un ángulo de contacto pequeño con el agua. Por lo tanto, la  $GST_{PB}$  que contenía una fracción grasa, mostró un carácter predominantemente hidrófobo ( $\theta > 90^\circ$ ); mientras que  $GST_{PM}$  que contiene el mayor contenido de proteína, exhibió el valor de  $\theta$  más bajo relacionado con el carácter altamente hidrófilo (es decir, la polaridad). La solución de  $GST_{PA}$  con los contenidos más bajos de proteínas y carbohidratos presentó un valor  $\theta$  ligeramente inferior a  $90^\circ$ . Se realizó un estudio de cromatografía de interacción hidrófoba (CIH) para  $GST_{PA}$ , encontrando la presencia de cuatro fracciones, donde se analizó el contenido de proteína (Román et al. 2009). La fracción principal (F3) se eluyó en agua desionizada, indicativa de su alto carácter hidrofóbico, y de la unión covalente o física de la proteína al esqueleto del polisacárido. El cromatograma de CIH se incluye como un archivo complementario. Este resultado concordó con el valor exhibido por  $GST_{PA}$ .

La Fig. 9 muestra la evolución en el tiempo de la tensión interfacial ( $\sigma$ ) en la interface agua-aceite de canola para las diferentes GST. Todas las GST mostraron la misma tendencia, caracterizada por una fuerte disminución inicial de  $\sigma$  durante aproximadamente los primeros 200 s, seguida de una lenta y progresiva caída en  $\sigma$  a tiempos más largos, hasta alcanzar valores asintóticos

donde los valores de  $\sigma$  no cambiaron en más de 0.5 mN/m en 30 minutos ( $p \leq 0.05$ ). La brusca caída inicial y el valor final de  $\sigma$  fueron respectivamente más rápidos y más bajos para GST<sub>PB</sub>, seguidos de GST<sub>PM</sub>, y finalmente para GST<sub>PA</sub>. La capacidad para disminuir los valores de  $\sigma$  se relacionó con el grado de purificación de las gomas, lo cual afectó su composición química (Cuadro 1). La más rápida cinética de adsorción mostrada por la GST<sub>PB</sub> se debió a su relativamente alto contenido de compuestos de superficie activa, es decir, proteínas y polifenoles (Cuevas et al. 2016), y probablemente fosfolípidos contenidos en la fracción grasa (Pitke et al. 1979). Por otro lado, GST<sub>PM</sub> redujo más rápido los valores de  $\sigma$  que GST<sub>PA</sub>, ya que presento un contenido de proteína significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ).

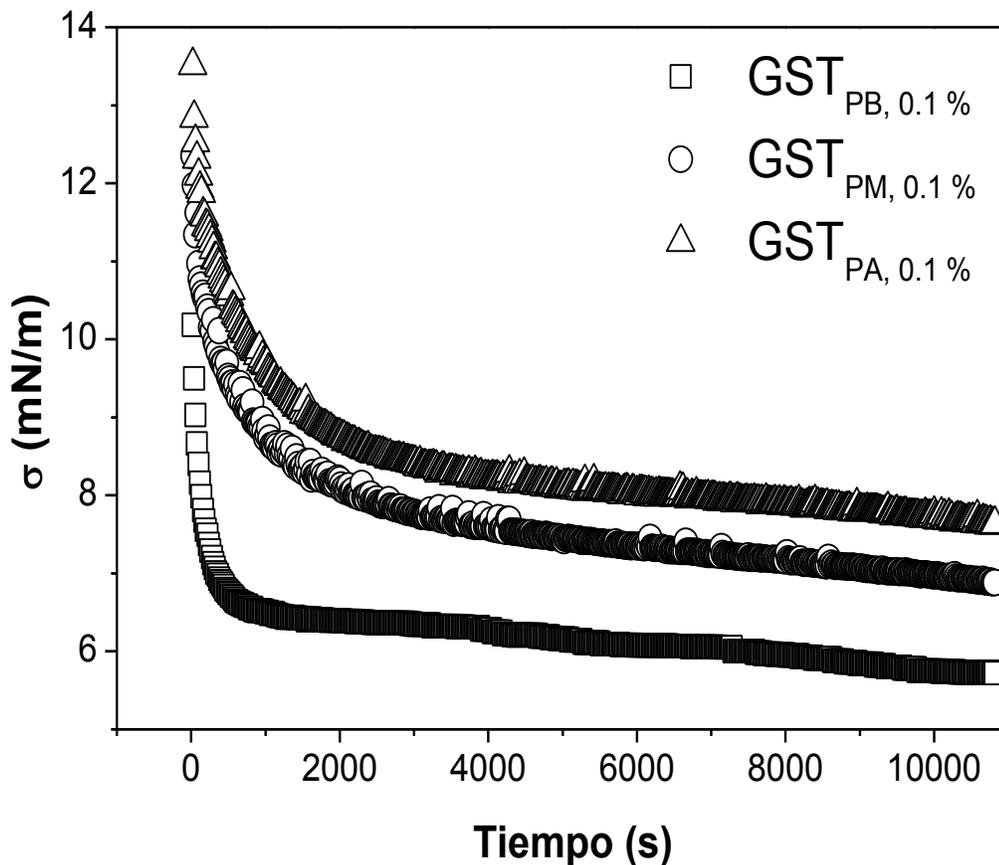


Figura 9. Dinámica de absorción de tensión interfacial en la interface aceite-agua de gomas de semilla de tamarindo (GST); GST<sub>PB</sub> (purificación baja), GST<sub>PM</sub> (purificación media) y GST<sub>PA</sub> (purificación alta) a 0.1 % de concentración

### 3.5.8 Tamaño de gota de emulsiones y viscosidad aparente.

Todas las  $E_{x,y}$  estuvieron compuestas por un gran número de gotitas de aceite esféricas individuales y floculadas, dispersas en la fase continua acuosa, con distribución de tamaño uniforme en forma de campana (Fig. 10). Peng et al. (2016) informaron que el tratamiento con calor en proteínas de frijol, dio lugar a interacciones hidrofóbicas entre proteínas adsorbidas en la superficie de las gotitas de aceite en emulsiones, incrementando su floculación de las gotitas y su estabilidad.

Conforme aumentaron los pasos de purificación, las curvas de distribución de tamaño de gota fueron desplazadas hacia la derecha (tamaños más grandes), sin embargo, el span de la distribución se hizo más pequeño. Un aumento en la concentración de GST desplazó la distribución de tamaño hacia la izquierda (tamaños más pequeños) y produjo intervalos más pequeños. Los valores iniciales de  $d_{3,2}$  de las emulsiones de aceite en agua elaboradas con 1.5 % p/p de GST aumentaron significativamente ( $p \leq 0.05$ ) de la siguiente manera:  $E_{PB, 1.5}$  ( $1.74 \pm 0.10 \mu\text{m}$ ) <  $E_{PM, 1.5}$  ( $6.08 \pm 0.18 \mu\text{m}$ ) <  $E_{PA, 1.5}$  ( $10.50 \pm 0.57 \mu\text{m}$ ), exhibiendo valores de span de 1.44, 1.33 y 1.16, respectivamente. Cuando la concentración de GST se incrementó a 2.0 % p/p, el valor inicial de  $d_{3,2}$  de las emulsiones fue significativamente menor ( $p \leq 0.05$ ) que el de sus contrapartes de 1.5 % p/p, sin embargo, varió significativamente ( $p \leq 0.05$ ) entre sí de la siguiente manera:  $E_{PB, 2.0}$  ( $1.35 \pm 0.05 \mu\text{m}$ ) <  $E_{PM, 2.0}$  ( $4.82 \pm 0.10 \mu\text{m}$ ) <  $E_{PA, 2.0}$  ( $9.45 \pm 0.10 \mu\text{m}$ ), mostrando valores de span de 1.24, 1.16 y 1.10, respectivamente. Estos resultados indicaron que la purificación impartió una capacidad emulsificante significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ) a las GST, que dependía de su composición química final (Cuadro 1) y, a su vez, de su capacidad para disminuir la tensión interfacial en la interface agua-aceite de canola (Fig. 9). Por lo tanto, la  $GST_{PB}$  mostró la mayor y más rápida reducción en la tensión interfacial, es decir, ocurrió una difusión y anclaje más rápidos de sus moléculas de superficie activa en la interface, produciendo gotitas de aceite más pequeñas que la  $GST_{PM}$  y la  $GST_{PA}$  (Cuevas et al., 2016; Fissore, Rojas, Gerschenson y Williams, 2013).

La proteína de núcleos de tamarindo es rica en aminoácidos no polares y polares como la lisina, ácido glutámico, ácido aspártico, glicina y leucina (Bhattacharya, Bai, Mukherjee y Bhattacharya, 1994), lo cual confiere un carácter anfifílico. Por otro lado, la capacidad emulsificante significativamente menor mostrada por GST<sub>PA</sub> puede relacionarse con la eliminación de compuestos de superficie activa (es decir, proteínas solubles y polifenoles) durante la purificación. La fracción de proteína unida a residuos de polisacárido fue suficiente para permitir la emulsificación de las gotitas de aceite (Koocheki, Kadkhodae, Mortazavi, Shahidi y Taherian, 2009). La intermedia capacidad emulsificante de GST<sub>PM</sub> permitió obtener tamaños de gotitas de aceite entre aquellos valores presentados por E<sub>PB</sub> y E<sub>PA</sub>. Kumar y Bhattacharya (2008) encontraron que la capacidad emulsificante del concentrado de proteína de grano tostado de tamarindo era menor que la del concentrado crudo. Atribuyeron este comportamiento a la desnaturalización térmica de la proteína.

Los valores de span de la E<sub>PB</sub> relativamente altos ( $p \leq 0.05$ ) en comparación con las E<sub>PM</sub> y E<sub>PA</sub> refuerzan la hipótesis de que la diversidad de compuestos con capacidad tensoactiva da lugar a una variedad de tamaños de gotitas de aceite (Hernández, Lobato, Román, Álvarez y Vernon, 2016). Es probable que el tamaño mayor de gotitas y menor span producido por GST<sub>PA</sub> haya sido influenciado por la alta viscosidad aparente de la fase acuosa continua, la cual retardó la floculación y la coalescencia entre ellas (Cuadro 4) al reducir su movilidad (Huang, Kakuda y Cui, 2001).

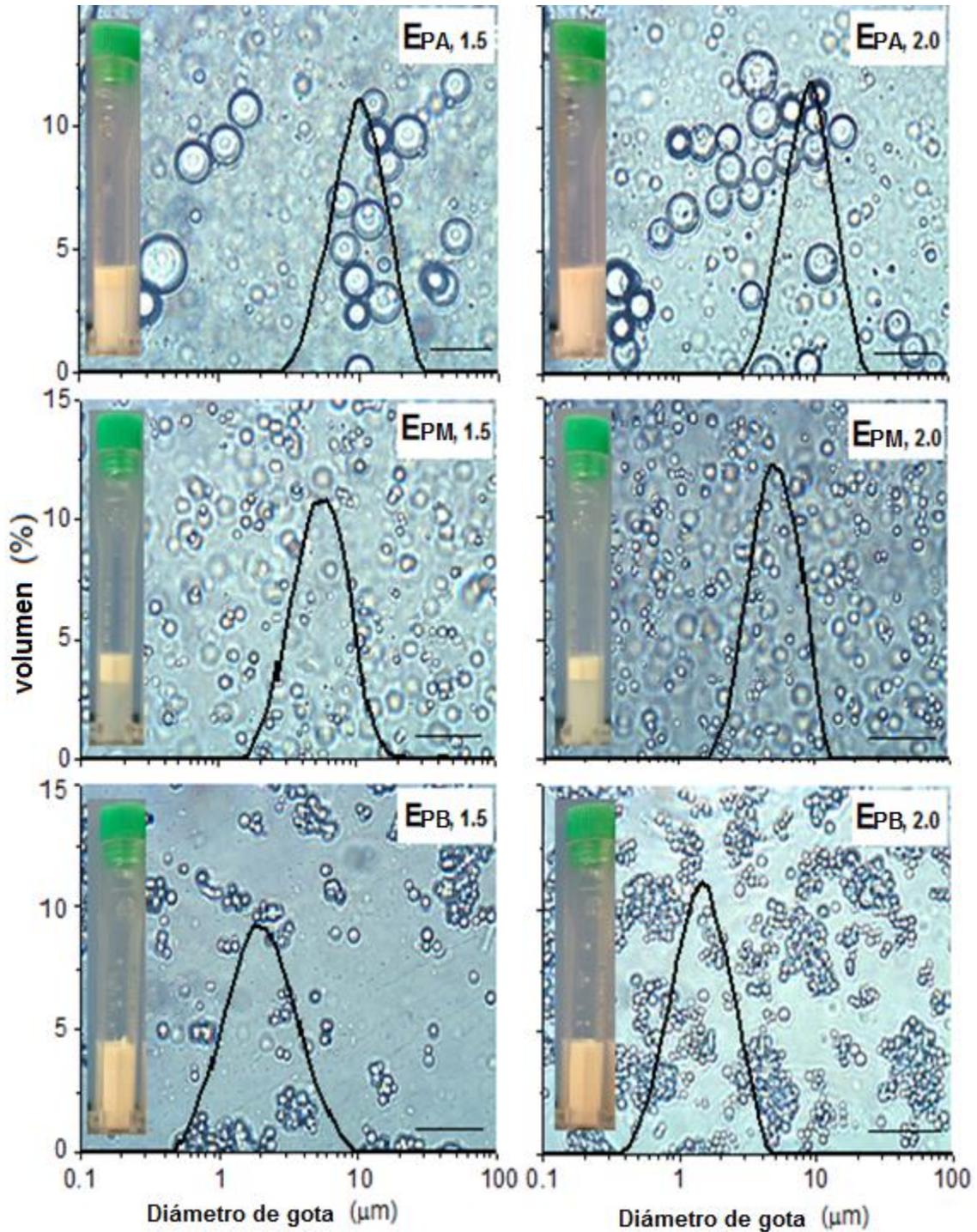


Figura 10. Morfología inicial y distribución de tamaño de gota de emulsiones (E) con goma de semilla de tamarindo (GST) como agente emulsificante;  $E_{PB}$  (emulsión con GST de purificación baja),  $E_{PM}$  (emulsión con GST de purificación media) y  $E_{PA}$  (emulsión con GST de purificación alta), a 1.5 y 2.0 % de concentración. Ampliación de 100 x. Barra de escala = 10  $\mu$ m

Cuadro 4. Velocidad de cremado, potencial  $\zeta$  y viscosidad de emulsiones

Emulsiones	Velocidad de cremado (%)	Potencial $\zeta$ (mV)	Viscosidad a tasa de corte de 50 s <sup>-1</sup> (Pa·s)
E <sup>y</sup> <sub>PB</sub> , 1.5%	0.29 ± 0.05b <sup>z</sup>	-9.66 ± 0.24d	0.04 ± 0.00a
E <sub>PM</sub> , 1.5%	4.16 ± 0.14e	-10.03 ± 0.18e	0.06 ± 0.00b
E <sub>PA</sub> , 1.5%	0.31 ± 0.07c	-7.59 ± 0.09b	0.10 ± 0.01c
E <sub>PB</sub> , 2.0%	0.06 ± 0.02a	-11.07 ± 0.10f	0.12 ± 0.00cd
E <sub>PM</sub> , 2.0%	3.06 ± 0.21d	-8.96 ± 0.12c	0.14 ± 0.00d
E <sub>PA</sub> , 2.0%	0.07 ± 0.01a	-5.73 ± 0.07a	0.26 ± 0.01e

<sup>z</sup> Media ± DE. Letras diferentes en la misma columna indican que existe diferencia estadísticamente significativa entre medias ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> E<sub>PB</sub> (emulsión con GST de purificación baja), E<sub>PM</sub> (emulsión con GST de purificación media) y E<sub>PA</sub> (emulsión con GST de purificación alta), a 1.5 y 2.0 % de concentración.

El tamaño de gota de E<sub>x,y</sub> disminuyó ( $p \leq 0.05$ ) cuando la concentración de las diferentes gomas purificadas aumentó ( $p \leq 0.05$ ). Una mayor concentración de emulsificante es requerida para formar gotitas más pequeñas con una mayor cobertura superficial, debido a que la cantidad de emulsificante disponible para formar una monocapa adsorbida en la superficie de las gotitas determina el área de superficie interfacial producida (Cuevas et al., 2016; Bai, Huan, Li y Julian, 2017). Alpizar et al. (2017a) informaron que la capacidad emulsificante fue mayor a medida que aumentaba el peso de la relación del volumen de GST/aceite, ya que estaban presentes un mayor número de moléculas de GST disponibles para cubrir la superficie de las gotitas de aceite. La variación de los valores de span de E<sub>x,y</sub> indicó que cuanto mayor es la concentración de GST, independientemente de su grado de pureza, menor fue la desproporción entre los tamaños de gota y mayor ( $p \leq 0.05$ ) la estabilidad en las emulsiones (Cuevas et al. 2016).

Los valores de velocidad de la cremado de las emulsiones se vieron afectados tanto por la pureza de GST como por la concentración. La velocidad de cremado es un parámetro indicativo de la estabilidad de las emulsiones. Durante su medición, los fenómenos de inestabilidad de sedimentación, floculación o

formación de crema en emulsiones se aceleran mediante la centrifugación (Cuevas et al., 2016).

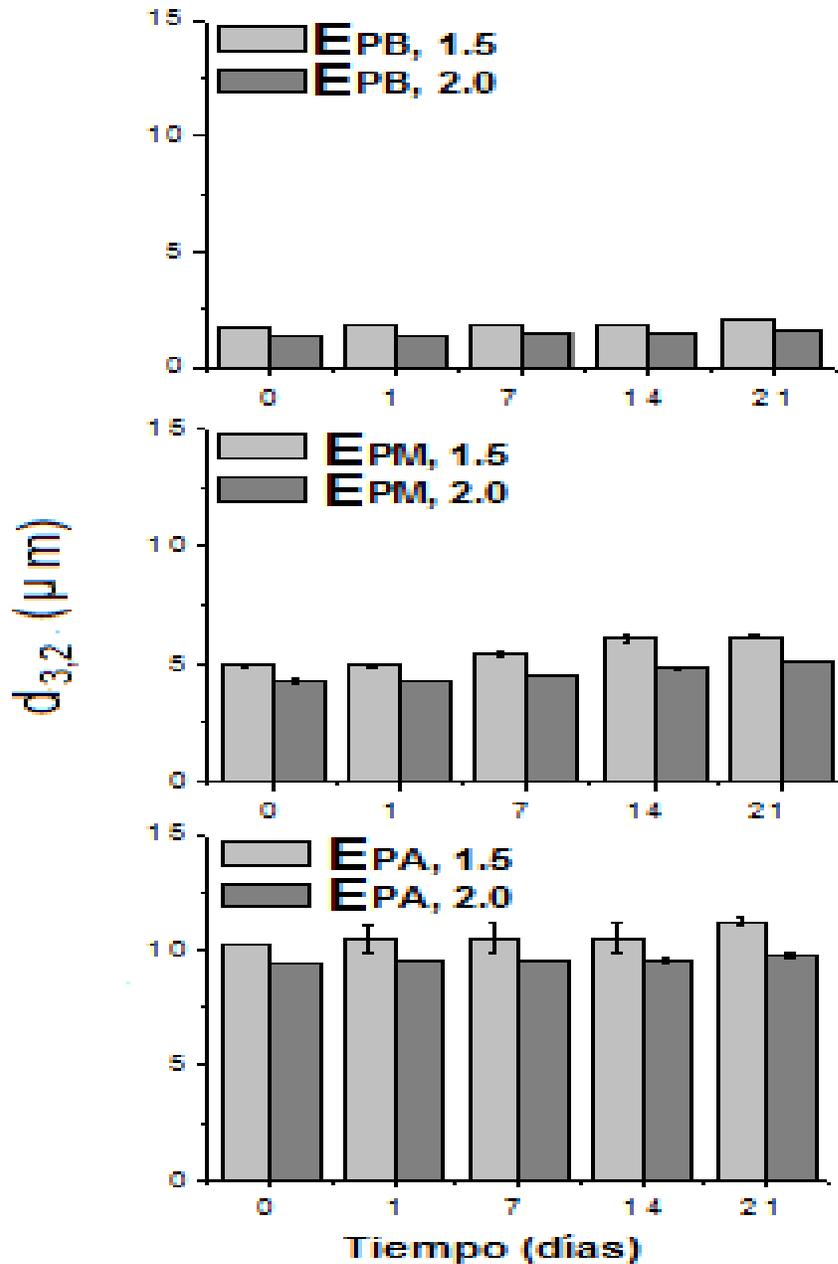


Figura 11. Variación media del tamaño de gota de las emulsiones durante 21 días de almacenamiento a 4 °C, adicionadas con goma de semilla de tamarindo (GST) como agente emulsificante; EPB (emulsión con GST de purificación baja), EPM (emulsión con GST de purificación media) y EPA (emulsión con GST de purificación alta), a 1.5 y 2.0 % de concentración.

Los valores de velocidad de cremado de  $E_{PB}$  y  $E_{PA}$  fueron similares ( $p > 0.05$ ) pero significativamente más bajos que los de  $E_{PM}$  (Cuadro 4), independientemente de la concentración de GST utilizada para su preparación. La capacidad emulsificante de algunos polisacáridos como la goma arábica (Ray, Bird, Lacobucci y Clark, 1995) y la goma de mezquite (Román et al. 2009) se ha atribuido a la presencia de una pequeña cantidad de proteína unida covalentemente o físicamente al polisacárido, que se adsorbe en la interface aceite-agua, con la mayor parte de los residuos del polisacárido proyectándose en la fase continua (Dickinson, 2003, 2009). De esta manera, estas macromoléculas promueven la formación de emulsiones y la estabilización a corto plazo por acción interfacial, confiriendo estabilidad a largo plazo formando capas de adsorción que proporcionan un mecanismo de repulsión estérica y modificando la reología de la fase continua que dificulta la movilidad de las gotitas de aceite. La GST se ajustó a los mecanismos de estabilización de esta emulsión como lo indican los resultados de CIH y de viscosidad aparente de la fase continua. La velocidad de formación de crema de las emulsiones se redujo significativamente ( $p \leq 0.05$ ) a medida que aumentaba la concentración de goma (Cuadro 4), debido al efecto combinado entre la reducción del tamaño de las gotitas de aceite (Fig. 11) y el aumento ( $p \leq 0.05$ ) de la viscosidad aparente (Cuadro 4) (Koocheki et al. 2009). Un mayor número de gotitas de aceite más pequeñas promueve la formación de una red tridimensional, mientras que una alta viscosidad aparente en la emulsión, controla el movimiento de las gotitas de aceite dispersas evitando la coalescencia entre ellas, así como los fenómenos de cremado (Lobato et al. 2008). Los valores de velocidad de cremado se vieron reflejados en la estabilidad de las emulsiones a lo largo del tiempo.  $E_{PB}$  y  $E_{PA}$  mostraron un aumento de tamaño de gota significativamente menor ( $p \leq 0.05$ ) que la  $E_{PM}$  en ambas concentraciones de GST (Fig. 11). Kumar et al. (2010) informaron sobre la formación de emulsiones estables de aceite de ricino en agua con tamaños de gotitas que oscilan entre 1 y 10  $\mu\text{m}$ , utilizando GST (2 % p/v) extraído de granos de semilla de tamarindo en agua hirviendo. Los valores de potencial  $\zeta$  de las gotitas de emulsiones fueron relativamente bajos, variando

desde - 5.73 a - 11.07 mV (Cuadro 4), por lo que tuvo una pequeña influencia en la estabilidad de las emulsiones. El tamaño, la distribución y la estabilidad al cremado impartida a las emulsiones aceite en agua por las diferentes GST, probablemente se deba a una interacción compleja entre varios factores, incluida la composición química, viscosidad de la fase acuosa, velocidad de difusión de los compuestos de superficie activa a la Interface y carga superficial, que en última instancia influyen en repulsión electrostática y propiedades mecánicas de la capa adsorbida alrededor de las gotas de aceite.

### **3.6 Conclusiones**

Se obtuvieron tres gomas de semillas de tamarindo (GST<sub>PB</sub>, GST<sub>PM</sub> y GST<sub>PA</sub>) con diferente composición química, en particular proporciones carbohidrato/proteína (79.24/12.11, 81.29/16.53 y 89.56/9.00, respectivamente) mediante la aplicación de diferentes pasos de purificación. El grado de pureza de las gomas tuvo un impacto importante en sus propiedades fisicoquímicas, reológicas y emulsificantes.

Nuestros resultados indicaron que la GST<sub>PB</sub> produjo emulsiones de aceite en agua con gotas de aceite iniciales más pequeñas, mientras que la GST<sub>PA</sub> produjo emulsiones de aceite en agua con gotas de aceite más grandes inicialmente, pero ambas emulsiones mostraron velocidades de cremado aceleradas con diferencia no significativa. GST<sub>PA</sub> mostró el span de tamaño de gota más pequeño. La velocidad de cremado de GST<sub>PM</sub> fue significativamente mayor que para GST<sub>PB</sub> y GST<sub>PA</sub>. Estos resultados muestran que el proceso de purificación de GST es de suma importancia para impartir y lograr las propiedades funcionales deseadas en emulsiones aceite en agua.

### 3.7 Literatura citada

- AOAC. (2005). *Association of official analytical chemists*. (18th ed.). Arlington: Association of Official Analytical Chemists. <http://www.eoma.aoac.org>.
- Acedo-Carrillo, J. I., Rosas-Durazo, A., Herrera-Urbina, R., Rinaudo, M., Goycoolea, F. M., & Valdez, M. A. (2006). Zeta potential and drop growth of oil in water emulsions stabilized with mesquite gum. *Carbohydrate Polymers*, *65*, 327–336. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.01.016
- Al-dhabi, N. A., Ponmurugan, K., & Maran, P. (2017). Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 206–213. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.05.005
- Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., & Gallardo-Rivera, R. (2017a). Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid. *Journal of Food Engineering*, *209*, 68–75. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2017.04.021
- Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., Romero-Romero, R., Varela-Guerrero, V., Alvarez-Ramírez, J., & Pérez-Alonso, C. (2017b). Thermodynamic sorption properties and glass transition temperature of tamarind seed mucilage (*Tamarindus indica* L.). *Food and Bioproducts Processing*, *101*, 166–176. DOI: 10.1016/j.fbp.2016.11.006
- Alpizar-Reyes, E., Román-Guerrero, A., Gallardo-Rivera, R., Varela-Guerrero, V., Cruz-Olivares, J., & Pérez-Alonso, C. (2018). Rheological properties of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage obtained by spray-drying as a novel source of hydrocolloid. *International Journal of Biological Macromolecules*, *107*, 817–824. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.09.048
- Archana, G., Sabina, K., Babuskin, S., Radhakrishnan, K., Fayidh, M. A., Saravana, P. A., & Sukumar, M. (2013). Preparation and characterization of mucilage polysaccharide for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, *98*, 89–94. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.04.062
- Avachat, A. M., Dash, R. R., & Shrotriya, S. N. (2017). Recent investigations of plant based natural gums and mucilages in novel drug delivery systems. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, *45*, 86–89.
- Bagul, M., Sonawane, S. K., & Arya, S. S. (2015). Tamarind seeds: chemistry, technology, applications and health benefits: A review. *Indian Food Industry Magazine*, *34*(3), 28–35.
- Bai, L., Huan, S., Li, Z., & Julian, D. (2017). Comparison of emulsifying properties of food-grade polysaccharides in oil-in-water emulsions: Gum arabic, beet pectin, and corn fiber gum. *Food Hydrocolloids*, *66*, 144–153. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.12.019
- Bansal, J., & Kumar, N. (2014). Extraction and evaluation of tamarind seed polysaccharide as pharmaceutical *in situ* gel forming system. *American-*

- Eurasian Journal of Scientific Research*, 9, 1–5. DOI: 10.5829/idosi.aejsr.2014.9.1.8259
- Bhatta, R., Krishnamoorthy, U., & Mohammed, F. (2001). Effect of tamarind (*Tamarindus indica*) seed husk tannins on *in vitro* rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 90, 143-152.
- Bhattacharya, S., Bai, S., Mukherjee, R. K., & Bhattacharya, S. (1994). Functional and nutritional properties of tamarind (*Tamarindus indica*) kernel protein. *Food Chemistry*, 49, 1-9.
- Cardoso Lima Reis, P. M., Dariva, C., Barroso Vieira, G. Â., & Hense, H. (2016). Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. *Journal of Food Engineering*, 173, 116–123. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2015.11.001
- Chandra Mohan, C., Harini, K., Vajiha Aafrin, B., Lalitha priya, U., Maria jenita, P., Babuskin, S., & Sukumar, M. (2018). Extraction and characterization of polysaccharides from tamarind seeds, rice mill residue, okra waste and sugarcane bagasse for its bio-thermoplastic properties. *Carbohydrate Polymers*, 186, 394–401. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.01.057
- Choi, B., & Koh, E. (2017). Spent coffee as a rich source of antioxidative compounds. *Food Science and Biotechnology*, 26, 921–927. DOI: 10.1007/s10068-017-0144-9
- Choi, J., Kim, J., Srinivasan, P., Kim, J., Park, H., Byun, M., & Lee, J. (2009). Comparison of gamma ray and electron beam irradiation on extraction yield, morphological and antioxidant properties of polysaccharides from tamarind seed. *Radiation Physics and Chemistry*, 78, 605–609. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2009.04.004.
- Cozic, C., Picton, L., Garda, M-R., Marlhoux, F., & Le Cert, D. (2009). Analysis of arabic gum: Study of degradation and water desorption process. *Food Hydrocolloids*, 23, 1930-1934. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2009.02.009
- Cuevas-Bernardino, J. C., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2016). Physicochemical characterisation of hawthorn pectins and their performing in stabilising oil-in-water emulsions. *Reactive and Functional Polymers*, 103, 63–71. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2016.03.024
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., & Mozafari, M. R. (2018). Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, 10, 57. DOI: 10.3390/pharmaceutics10020057
- Daoub, R. M. A., Elmubarak, A. H., Misran, M., Hassan, E. A., & Osman, M. E. (2018). Characterization and functional properties of some natural *Acacia* gums. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17, 241-249. DOI: 10.1016/j.jssas.2016.05.002

- Darby, R. & Chhabra, R.P. (2017). *Chemical engineering fluid mechanics*. 3<sup>rd</sup> Ed. Boca Raton: CRC Press.
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39. DOI: 10.1016/S0268-005X(01)00120-5
- Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23, 1473-1482. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.08.005
- Estrada-Fernández, A. G., Román-Guerrero, A., Jiménez-Alvarado, R., Lobato-Calleros, C., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2018). Stabilization of oil-in-water-in-oil (O<sub>1</sub>/W/O<sub>2</sub>) Pickering double emulsions by soluble and insoluble whey protein concentrate-gum Arabic complexes used as inner and outer interfaces. *Journal of Food Engineering*, 221, 35–44. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2017.10.006
- Fissore, E. N., Rojas, A. M., Gerschenson, L. N., & Williams, P. A. (2013). Butternut and beetroot pectins: Characterization and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 31, 172–182. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2012.10.012
- Forny, L., Marabi, A., & Palzer, S. (2011). Wetting, disintegration and dissolution of agglomerated water soluble powders. *Powder Technology*, 206, 72–78. DOI: 10.1016/j.powtec.2010.07.022
- Freitas, R. A., Martin, S., Santos, G. L., Valenga, F., Buckeridge, M. S., Reicher, F., & Sierakowski, M.-R. (2005). Physico-chemical properties of seed xyloglucans from different sources. *Carbohydrate Polymers*, 60, 507-514.
- Gebresamuel, N., & Gebre-Mariam, T. (2012). Comparative physico-chemical characterization of the mucilages of two cactus pears (*Opuntia* spp.) obtained from Mekelle, Northern Ethiopia. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 03, 79–86. DOI: 10.4236/jbnt.2012.31010
- González-Martínez, D. A., Carrillo-Navas, H., Barrera-Díaz, C. E., Martínez-Vargas, S. L., Alvarez-Ramírez, J., & Pérez-Alonso, C. (2017). Characterization of a novel complex coacervate based on whey protein isolate-tamarind seed mucilage. *Food Hydrocolloids*, 72, 115–126. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.05.037
- Hernández-Marín, N. Y., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2016). Physical properties and release behaviour of caffeine multiple emulsions stabilised by binary or ternary biopolymer soluble complexes under acid, bile and yogurt storage conditions. *Food Hydrocolloids*, 58, 42-48. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.02.008
- Hernández-Rodríguez, L., Lobato-Calleros, C., Pimentel-González, D. J., & Vernon-Carter, E. J. (2014). *Lactobacillus plantarum* protection by entrapment in whey protein isolate: κ-carrageenan complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 36, 181-188. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.09.018

- Huang, X., Kakuda, Y., & Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsion: particle size distribution and interface activity. *Food Hydrocolloids*, 15, 533–542. DOI: 10.1016/S0268-005X(01)00091-1
- Jones, D. A., & Jordan, W. A. (1978). *Purification of tamarind gum*. US patent, 4074043. Washington, DC: Patent and Trademark Office.
- Joseph, J., Kanchalochana, S. N., Rajalakshmi, G., Hari, V., & Durai, R.D. (2012). Tamarind seed polysaccharide: A promising natural excipient for pharmaceuticals. *International Journal of Green Pharmacy*, 6, 270-278. DOI: 10.4103/0973-8258.108205
- Khanna, M., Nandi, R. C., & Sarin, J.P. (1987). Standardization of tamarind seed polyose for pharmaceutical use. *Indian Drugs*, 24, 268-269.
- Kaewmanee, T., Bagnasco, L., Benjakul, S., Lanteri, S., Morelli, C. F., Speranza, G., & Cosulich, M. E. (2014). Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax. *Food Chemistry*, 148, 60–69. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.10.022
- Khounvilay, K., & Sittikijyothin, W. (2012). Rheological behaviour of tamarind seed gum in aqueous solutions. *Food Hydrocolloids*, 26, 334–338. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.03.019
- Koocheki, A., Kadkhodae, R., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., & Taherian, A. R. (2009). Influence of *Alyssum homolocarpum* seed gum on the stability and flow properties of O/W emulsion prepared by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 23, 2416–2424. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2009.06.021
- Kumar, Ch. S., & Bhattacharya, S. (2008). Tamarind seed: Properties, processing and utilization. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 1–20. DOI: 10.1080/10408390600948600
- Kumar, R., Patil, S. R., Patil, M. B., Paschapur, M. S., & Mahalaxmi, R. (2010). Isolation and evaluation of the emulsifying properties of tamarind seed polysaccharide on castor oil emulsion. *Der Pharmacia Lettre*, 2, 518–527.
- Lang, P., Masci, G., Dentini, M., Crescenzi, V., Cooke, D., Gidley, M. J., & Reid, J. S. G. (1992). Tamarind seed polysaccharide: preparation, characterisation and solution properties of carboxylated, sulphated and alkylaminated derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 17(3), 185–198. DOI: 10.1016/0144-8617(92)90003-9
- Lobato-Calleros, C., Martínez-Torrijos, O., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Orozco, J. P., & Vernon-Carter, E. J. (2004). Flow and creep compliance properties of reduced-fat yoghurts containing protein-based fat replacers. *International Dairy Journal*, 14, 777-782. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.02.012
- Lobato-Calleros, C., Sosa-Pérez, A., Rodríguez-Tafoya, J., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Alonso, C., & Vernon-Carter, E. J. (2008). Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> emulsions and skim milk. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1847–1856. DOI: 10.1016/j.lwt.2008.01.006

- Luengthanaphol, S., Mongkholkhajornsilp, D., Douglas, S., Douglas, P. L., Pongsopa, L. I., & Pongamphai, S. (2004). Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat - Preliminary experiments. *Journal of Food Engineering*, 63, 247–252. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2003.07.006
- Marathe, R. M., Annapure, U. S., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2002). Gelling behaviour of polyose from tamarind kernel polysaccharide, *Food Hydrocolloids*, 16, 423-426. DOI: 10.1016/S0268-005X(01)00118-7
- Martínez-Ruíz, C., Lozano, G., Roldan-Cruz, C., Meraz, M., & Rodríguez-Huezo, M. E. (2018). Evolution of antioxidant activity in heated coffee brew. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 17, 613-619. DOI: 10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2018v17n2/MartinezC
- Martínez-Velasco, A., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, B. E., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2018). High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba* L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44, 97–105. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2018.02.007
- Mirhosseini, H., & Amid, B. T. (2012). A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums. *Food Research International*, 46(1), 387–398. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.11.017
- Murillo-Martínez, M. M., Pedroza-Islas, R., Lobato-Calleros, C., Martínez-Ferez, A., & Vernon-Carter, E. J. (2011). Designing W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> double emulsions stabilized by protein-polysaccharide complexes for producing edible films: Rheological, mechanical and water vapour properties. *Food Hydrocolloids*, 25, 577–585. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2010.06.015
- Nagajothi, M. S., Balasubramanian, A., & Thombare, N. (2017). Effect of different seed sources on tamarind kernel powder and seed gum yield. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 318–323. DOI: 10.20546/ijcmas.2017.607.037
- 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. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.06.025
- Phani Kumar, G. K., Battu, G., & Lova Raju, K. N. S. (2011). Isolation and evaluation of tamarind seed polysaccharide being used as a polymer in pharmaceutical dosage forms. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2, 274–290.
- Pitke, P. M., Singh, P. P., & Srivastava, H. C. (1979). Studies on tamarind kernel oil II 1L : analysis of phospholipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56(5), 559-559. DOI: 10.1007/BF02660233
- Prabhu, K. H., & Teli, M. D. (2014). Eco-dyeing using *Tamarindus indica* L . seed coat tannin as a natural mordant for textiles with antibacterial activity. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18, 864–872. DOI: 10.1016/j.jscs.2011.10.014
- Ravindran, R., & Jaiswal, A. K. (2016). Exploitation of food industry waste for high-

- value products. *Trends in Biotechnology*, 34, 58–69. DOI: 10.1016/j.tibtech.2015.10.008
- Ray, A. K., Bird, O. B., Iacobucci, G. A., & Clark, B. C., Jr. (1995). Functionality of gum Arabic. Fractionation, characterization and evaluation of gum fractions in citrus oil emulsions and model beverages. *Food Hydrocolloids*, 9, 123–131. DOI: 10.1016/S0268-005X(09)80274-9
- Razmkhah, S., Razavi, S. M. A. , & Mohammadifar, M. A. (2016). Purification of cress seed (*Lepidium sativum*) gum : A comprehensive rheological study. *Food Hydrocolloids*, 61, 358–368. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.05.035
- Regazzoni, L., Saligari, F., Marinello, C., Rossoni, G., Aldini, G., Carini, M., & Orioli, M. (2016). Coffee silver skin as a source of polyphenols: High resolution mass spectrometric profiling of components and antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 20, 472–485. DOI: 10.1016/j.jff.2015.11.027
- Román-Guerrero, A., Orozco-Villafuerte, J., Pérez-Orozco, J. P., Cruz-Sosa, F., Jiménez-Alvarado, R., & Vernon-Carter, E. J. (2009). Application and evaluation of mesquite gum and its fractions as interfacial film formers and emulsifiers of orange peel-oil. *Food Hydrocolloids*, 23, 708–713. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.06.005
- Sharma, M., Mondal, D., Mukesh, C., & Prasad, K. (2014). Preparation of tamarind gum based soft ion gels having thixotropic properties. *Carbohydrate Polymers*, 102, 467– 471. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.11.063
- Shrivastava, H. C., & Singh, R. P. (1967). Structure of polysaccharide from tamarind kernel. *Carbohydrate Research*, 4, 326-342. DOI: 10.1016/S0008-6215(00)80187-1
- Soukoulis, C., Gaiani, C., & Hoffmann, L. (2018). Plant seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. *Current Opinion in Food Science*, 22, 28–42. DOI: 10.1016/j.cofs.2018.01.004
- Sudharsan, K., Chandra Mohan, C., Azhagu Saravana Babu, P., Archana, G., Sabina, K., Sivarajan, M., & Sukumar, M. (2016). Production and characterization of cellulose reinforced starch (CRT) films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 83, 385–395. DOI: 10.1016/j.cofs.2018.01.004
- Trujillo-Ramírez, D., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., Hernández-Rodríguez, L., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2018). Complexation with whey protein hydrolysate improves cacao pods husk pectin surface active and emulsifying properties. *Reactive and Functional Polymers*, 123, 61–69. DOI:10.1016/j.reactfunctpolym.2017.12.011
- Tsuda, T., Watanabe, M., Ohshima, K., Yamamoto, A., Kawakishi, S., & Osawa, T. (1994). Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (*Tamarindus indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2671–2674. DOI: 10.1021/jf00048a004

- Wang, M., Huang, B., Fan, C., Zhao, K., Hu, H., Xu, X., & Liu, F. (2016). Characterization and functional properties of mango peel pectin extracted by ultrasound assisted citric acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 794–803. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.06.011
- Zou, Y., Wan, Z., Guo, J., Wang, J., Yin, S., & Yang, X. (2016). Modulation of the surface properties of protein particles by a surfactant for stabilizing foams. *RSC Advances*, 70, 66018-66026. DOI: 10.1039/C6RA12569G