

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 758 363**

51 Int. Cl.:

C08B 37/00 (2006.01)

C08L 5/00 (2006.01)

A23L 29/25 (2006.01)

A23L 2/52 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2016 PCT/EP2016/068135**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.02.2017 WO17017248**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2016 E 16745715 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 3328901**

54 Título: **Goma arábica de Acacia seyal**

30 Prioridad:

30.07.2015 EP 15179164

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

05.05.2020

73 Titular/es:

**DÖHLER GMBH (100.0%)
Riedstrasse 7-9
64295 Darmstadt, DE**

72 Inventor/es:

**AL-ASSAF, SAPHWAN;
LUKANOWSKI, JOHANN y
TRETZEL, JOACHIM**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 758 363 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Goma arábica de *Acacia seyal*

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a goma arábica, a procedimientos para mejorar las propiedades de la goma arábica y a usos de la goma arábica.

Antecedentes de la invención

10 La goma de *Acacia* (goma arábica) es la más vieja y mejor conocida de todos los tres exudados de goma. Se obtiene de los tallos y ramas de árboles de *Acacia* que crecen ampliamente entre África subsahariana, de Mauritania, Senegal y Malí en el oeste, a través de Burkina Faso, Nigeria, partes nortes de Nigeria y Chad a Sudán, Eritrea, Etiopía y Somalia en el este, y partes del norte de Uganda y Kenia. Forman el denominado "cinturón de goma". La goma arábica se introdujo en Europa a través de diversos puertos arábigos y llegó a denominarse "goma arábica" después de su lugar de origen o puerto de exportación.

15 La *Acacia* que es una de las vegetaciones más populares del reino vegetal y es un género cosmopolita que contiene más de 1.350 especies (Maslin y col., 2003). *Acacia senegal* y *Acacia seyal* se mantienen como la única especie explotada comercialmente del recurso de *Acacia* total.

Acacia senegal pertenece a la serie *Vulgares* mientras que *A. seyal* a la serie *Gumminferae*. Se considera generalmente que *A. senegal* se produce como cuatro variedades. Estas son: *A. senegal* (L.) Willd var. *senegal* (sin. *A. verec* Guill & Perry); *A. senegal* (L.) Willd var. *kerensis* Schweinf; *A. Senegal* (L.) Willd var. *rostrata* Brenan; y *A. senegal* (L.) Willd var. *leiorhachis* Brenan (sin. *A. circummarginata* Chiov.).

20 *Acacia seyal* se produce como dos variedades: *A. seyal* Del. var. *seyal*; y *A. seyal* Del. var. *fistula* (Schweinf) Oliv (Coppen, 1995). De acuerdo con el Joint Expert Committee for Food Additives (JECFA, por sus siglas en inglés) de la FAO la goma arábica se define como un exudado seco obtenido de los tallos y ramas de *Acacia senegal* (L.) Willdenow o *Acacia seyal* (familia *Leguminosae*) (JECFA-FAO, 1998).

25 La formación de herida sistemática de árbol de acacia para inducir exudación de goma (Gomosis) se denomina extracción de fluido y se considera la práctica convencional aplicada para *A. senegal*. Por otra parte, *A. seyal* se recoge generalmente de exudación natural sin extracción de fluido pero hay alguna evidencia que se aplica en cierta ubicación en Sudán. En ciertas fuentes de goma los exudados naturales se observaron siendo de color más oscuro comparados con gomas obtenidas por extracción de fluido (Anderson & Bridgeman, 1985).

30 Recientemente, Andres-Brull y col. informaron que el tanino es un contaminante de la corteza de acacia y se descubrió que se correlaciona con la forma de exudados (es decir, filtros o nódulos) (Andres-Brull y col., 2015). La concentración más alta de tanino se asocia al exudado que tiene más contacto con la corteza durante el procedimiento de gomosis. Los exudados de goma a partir de *seyal* no se endurecen rápidamente y por lo tanto han adquirido el nombre de "friable".

35 La goma arábica está hecha de polisacáridos ramificados complejos así como algún material proteico que es integral a su estructura. Tras la hidrólisis de goma arábica: se han identificado galactopiranososa, arabinopiranososa, arabinofuranosa, ramnopiranososa, ácido glucopiranosil urónico y ácido 4-O-metilglucuropiranosilurónico (Anderson & Stoddart, 1966; Anderson y col., 1967).

40 *A. seyal* consiste en el mismo resto de azúcar que *A. senegal*, pero tiene menores contenidos de ramnosa y ácido glucurónico y mayor contenido de arabinosa y ácido 4-O-metilglucurónico (Jurasek y col., 1995). *A. Seyal* tiene menores contenidos de nitrógeno que *A. senegal* (Jurasek y col., 1993) y la rotación óptica específica de las dos especies es diferente (Biswas & Phillips, 2003). Se propone que *A. seyal* sea más altamente ramificada y más compacta en estructura que *A. senegal* (Flindt y col., 2005; Asan y col., 2005; Street & Anderson, 1983).

45 Street y Anderson (Street & Anderson, 1983) en una reinterpretación del trabajo de Churms y col. (Churms y col., 1983) sugiere diferentes estructuras del polisacárido para goma de *A. senegal* y *A. seyal*. Se sugiere que *A. senegal* contiene enteramente unidades repetidas de Tipo 1, mientras que *A. seyal* consiste en pequeños bloques de dos o tres unidades repetidas de Tipo 1 modificadas separadas por bloques significativos de unidades de repetición del tipo 2 (Flindt y col., 2005). Recientemente (Nie, Wang, Cui, Wang, Xie & Phillips, 2013) se elucidó la estructura fina de *Acacia seyal* var. *seyal* y se informó de la presencia de 13,6 % de ácido galacturónico, no previamente identificado.

50 Algunos estudios han revelado la presencia de tres componentes principales en la goma arábica (*A. senegal*): una goma de arabinogalactano-proteína (AGP) de alto peso molecular, un arabinogalactano (AG) y una glicoproteína (GP), contando en la región del 10 %, en la región del 90 % y en la región del 1 % de la goma total, respectivamente (Randall y col., Food Hydrocolloids, 1988, 2, 131; Randall y col., Food Hydrocolloids, 1989, 3, 65).

Los diferentes componentes son responsables de diferentes funcionalidades de goma arábica. Por ejemplo, el componente de arabinogalactano-proteína (AGP), en *Acacia senegal*, se ha identificado como un componente

emulsionante activo, proporcionando actividad interfacial y estabilidad durante la emulsificación (Williams & Phillips, Handbook of Hydrocolloids, 2000, 155).

Underwood y Cheetham (Underwood & Cheetham, 1994) informaron del fraccionamiento de *A. seyal* usando la misma condición aplicada para *Acacia senegal* (Underwood y col., Journal of the Science of Food and Agriculture, 1994, 66, 217). Como para la fracción de *A. seyal* que corresponde a AGP de *A. senegal*, solo hubo un 2,4 % del total y el contenido de proteína fue también menor que aquel de *A. senegal*. Se identificaron fracciones de peso molecular con diferentes propiedades de emulsificación son identificadas para goma talha (*A. seyal*) (Underwood & Cheetham, 1994). Los tres componentes principales designados proteína arabinogalactana (AGP), arabinogalactano (AG) y glicoproteína (GP) que se sabe que están presentes en *Acacia senegal* están también presentes en *Acacia seyal*. Posteriormente, Siddig y col. informaron que la proteína en *A. seyal* no está principalmente ubicada en el componente de peso molecular alto (AGP) como para *A. senegal* e indicaron que al menos dos componentes están presentes en la fracción de alto peso molecular en *A. seyal* (Siddig y col., 2005). Flindt y col. han informado sobre las fracciones que se adsorbieron en gotitas de aceite de emulsiones de *A. seyal* y mostraron que son menos eficientes que *Acacia senegal* (Flindt, Al-Assaf, Phillips & Williams, 2005). Para *A. senegal* fue principalmente el material proteico del pico de alto peso molecular (AGP) el que se adsorbió en gotitas de aceite. Por otra parte, *A. seyal* mostró un comportamiento diferente. El pico de alto peso molecular de *A. seyal* se adsorbe difícilmente y el material proteico que pertenece al segundo pico se adsorbe principalmente. Se piensa que la diferencia de este componente adsorbido está relacionado con la diferencia de la capacidad de emulsión de *A. senegal* y *A. seyal*.

El tipo *Senegal* da altos niveles de funcionalidad en la formación y la estabilidad de emulsiones y micro-encapsulación de sabores y juega un papel muy importante en las industrias de alimento y bebidas. De acuerdo con Coppen (1995) "Goma talha de Sudan (el nombre local de *A. seyal*) es intrínsecamente una goma de calidad más deficiente que hashab (el nombre local de *A. senegal*) - tiene propiedades emulsionantes inferiores e incluso las muestras de color claro de goma entera a veces forman soluciones oscuras en agua debido a la presencia de taninos y otras impurezas. Es más friable que hashab". *Acacia seyal* no ofrece buen comportamiento de emulsificación y se consume directamente como confitería en India y se usa en recubrimientos, adhesivos, etc. en otros mercados. El consenso general es que la capacidad de emulsificación de *A. seyal* es inferior en comparación con aquella de *A. senegal* (Fauconnier y col., 2000).

Acacia seyal mostró considerablemente menos actividad superficial en comparación con *Acacia senegal* tanto en interfaz aire/líquido como líquido/líquido (Elmanan, Al-Assaf, Phillips & Williams, 2008). Se descubrió que *Acacia seyal* era más resistente a la degradación enzimática, ya que solamente ~40 % de la fracción de alto peso molecular puede digerirse de nuevo indicando la presencia de dos componentes. Sin embargo, hay un informe en conflicto que mostró que la muestra de *A. seyal* que tenía menos contenido de proteína dio mejor estabilidad de emulsión que algunas muestras de *A. senegal* (Buffo y col., 2001). Debe notarse, que aunque se considera que *A. senegal* es buen emulsionante para la emulsión de aceite en agua el comportamiento de diversas muestras recolectadas de diferentes áreas muestra variación considerable. Algunas de las cuales pueden considerarse ser tan deficientes como el comportamiento de emulsificación ampliamente admitido de *A. seyal* (Al-Assaf y col., 2008).

Se ha mostrado que las gomas de *A. seyal* tienen mayor variación especialmente en muestras comerciales de diferentes ubicaciones (Jurasek y col., 1995, Al-Assaf y col., 2005).

Los problemas industriales asociados al uso de goma arábiga en general es que tiene comportamiento y funcionalidad inconsistentes. La inconsistencia se debe parcialmente a al menos la variación en la relación de los tres componentes principales. Adicionalmente, debido a su fuente variable de países entre el cinturón Saheliano de África, con diferente caída de lluvia, suelos y geografía global, el producto tiene inconsistencia considerable debido a la variabilidad natural. Como resultado, la materia prima según se suministra a partir de los productores primarios con frecuencia no se comporta consistentemente en las diversas aplicaciones, (Williams, P.A. y Phillips, G.O., (2000) en Handbook of Hydrocolloids, Editores Williams, P.A. y Phillips, G.O. pág. 155-168, Woodhead, Londres y Nueva York). Se han usado diversos procedimientos, por lo tanto, para intentar y eliminar la inconsistencia como se lista posteriormente.

Ha habido varios procedimientos de modificación para mejorar el comportamiento de emulsificación de goma arábiga en general y específicamente de *Acacia seyal* en algunos ejemplos como se da posteriormente.

En los documentos US 6.841.644 (Phillips y col.) y US/GB 7.462.710 B2 (Al-Assaf) se han desvelado procedimientos de modificación por radiación y tratamiento térmico respectivamente para obtener goma arábiga con una o más funcionalidades mejoradas por las que el peso molecular y el contenido de AGP de la goma arábiga modificada se aumentaron. Además, se sabe que la modificación excesiva lleva a más efectos negativos incluyendo la solubilidad reducida en agua y la degradación de la goma arábiga.

El documento EP-A-1 505 078 se dirige a un procedimiento para modificar la goma arábiga por medio de calentamiento de la goma arábiga a una temperatura superior a 40 °C en condiciones de humedad, lo cual potencia su capacidad de emulsificación.

Similarmente, el documento EP-A-1 666 502 desvela un tratamiento térmico de goma arábiga, aunque en condiciones secas, dando lugar a una mejora de su capacidad emulsionante.

El documento EP-A-1 734 056 se refiere a un procedimiento para la modificación de goma arábica disolviendo goma arábica en agua y después tratando térmicamente la solución a una temperatura por debajo de 60 °C, mejorando de esta forma sus propiedades de emulsificación.

5 El documento US-A-2005/124805 también desvela goma arábica modificada (de *Acacia senegal* o *Acacia seyal*), la cual tiene capacidad emulsionante mejorada. La goma arábica modificada se obtiene calentando la goma arábica, en estado sólido, a 110 °C durante no menos de 10 horas.

Las patentes más relevantes, las cuales informan de la modificación de *Acacia seyal*, para la presente invención, son: El documento JP 2008-297359 (A) que describe la retirada de tanino de la solución de goma arábica (goma Talha) que se origina a partir de *Acacia seyal*, usando un procedimiento de procesamiento que no usa peróxido de hidrógeno. El procedimiento depende de disolver (goma Talha) que se origina de *Acacia seyal* en agua de la cual se ha retirado el oxígeno disuelto. Esta solución acuosa se procesa después con un adsorbente sintético para absorber y retirar el tanino. De esta manera, se obtiene goma talha libre de tanino usable en aplicaciones alimenticias.

15 El documento WO 02/069981 A1 describe un procedimiento químico que se basa en el producto de reacción de un hidrocoloide (tales como *Acacia seyal*) con anhídridos dicarboxílicos específicamente para la producción de un emulsionante para emulsiones aceite en agua.

El documento WO 2013/091799 A1 describe un procedimiento para preparar goma arábica modificada que comprende tratar goma arábica con una enzima seleccionada del grupo de glicosidasas a una concentración de 1 a 1000 unidades de enzima por gramo de goma arábica, una goma arábica modificada obtenible por dicho procedimiento, una emulsión que comprende la goma arábica modificada y un concentrado de bebida y una bebida lista para beber que comprende la emulsión.

En todas las patentes mencionadas anteriormente, se usa un tratamiento físico o químico de goma arábica para lograr capacidades de emulsificación remarcablemente superiores, expresadas en forma de diámetros de gotita de aceite más pequeños en goma arábica estabilizada con emulsiones aceite en agua.

Sumario de la invención

25 La presente invención se expone de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas.

Es un objeto de la invención proporcionar procedimientos para preparar preparaciones de goma arábica a partir de *Acacia seyal* preferentemente preparaciones que tienen propiedades mejoradas.

Este objeto se resuelve en una realización mediante un procedimiento para preparar una goma arábica mejorada que comprende las etapas de

- 30 - proporcionar una goma arábica de *Acacia seyal*
 - seleccionar goma arábica que tiene un contenido de tanino > 700 ppm (p/p).

Se dieron cuenta de que las propiedades de goma arábica de *Acacia seyal* dependen del contenido de tanino. La medición de tanino se realiza de acuerdo con el procedimiento descrito en los ejemplos.

35 Cualquier goma arábica de *Acacia seyal* puede usarse, preferentemente uno puede usar goma arábica de *Acacia seyal* var. fistula y mezclas de las mismas. Preferentemente, el contenido de tanino es > 750 ppm (p/p) o > 1000 ppm (p/p) o > 2000 ppm (p/p).

Una realización adicional de la invención es la composición de goma arábica de *Acacia seyal* que tiene un contenido de tanino > 700 ppm (p/p). Preferentemente, el contenido de tanino es > 750 ppm (p/p) o >1000 ppm (p/p) o >2000 ppm (p/p).

40 El contenido de tanino se mide de acuerdo con los ejemplos. Como una alternativa, puede hacerse la selección de goma arábica de *Acacia seyal* color Gardner al 1 % de 2,5 o más, medida de acuerdo con los ejemplos.

Por lo tanto, una realización de la invención es el procedimiento, en el que la goma tiene

- 45 i) un índice de color Gardner de al menos 2,5, más preferentemente 2,5-3,0 e incluso más preferentemente > 3 al 1 % en peso en agua o
 ii) un índice de color Gardner de al menos 15, más preferentemente 15-16 e incluso más preferentemente > 16 al 20 % en peso en agua.

Una realización adicional de la invención es un procedimiento para preparar una goma arábica mejorada que comprende las etapas de

- 50 - proporcionar una goma arábica de *Acacia seyal*
 - seleccionar goma arábica, en la que la goma tiene

- i) un índice de color Gardner de al menos 2,5, más preferentemente 2,5-3,0 e incluso más preferentemente > 3 al 1 % en peso en agua o
- ii) un índice de color Gardner de al menos 15, más preferentemente 15-16 e incluso más preferentemente > 16 al 20 % en peso en agua.

- 5 Se descubrió además, que la goma arábiga puede mejorarse aumentando el contenido de fenoles. Por lo tanto, una realización adicional de la invención es un procedimiento para mejorar goma arábiga que comprende las etapas de
- proporcionar goma arábiga
 - preparar una dispersión de goma arábiga
 - añadir una fuente de fenol.

- 10 Este procedimiento es aplicable a goma arábiga de *Acacia seyal*, goma arábiga de *Acacia senegal*, o una mezcla de las mismas. Puede usarse cualquier variedad de *Acacia senegal*, preferentemente *A. senegal* (L.) Wild var. *Senegal* (sin. *A. verec* Guill. & Perry); *A. Senegal* (L.) Willd var. *kerensis* Schweinf; *A. Senegal* (L.) Willd var. *Rostata* Brenan; y *A. senegal* (L.) Willd var. *Leiorhachis* Brenan (sin. *A. circummarginata* Chiov.). El procedimiento es también aplicable a otras variedades de goma tales como *Acacia polyacantha* var. *campylacantha*, *Acacia sieberana* var. *sieberana*, *Acacia nilotica*, *Acacia mellifera* y *Acacia laeta*.

En un procedimiento sencillo, la corteza puede prepararse en forma de polvo, combinarse con agua e incubarse. La incubación puede ser a temperaturas elevadas, por ejemplo entre 20 y 80 °C. Es posible añadir la goma arábiga después de la incubación o combinarla con la fase acuosa durante la incubación.

- 20 Como una corteza de fuente de fenol, se prefieren especialmente los polifenoles y el ácido gálico. La corteza debe contener preferentemente polifenoles. La corteza de *Acacia seyal* es una corteza preferida. Otras fuentes de fenol preferidas son aquellas obtenidas de otras variedades de gomas de acacia talles como *Acacia nilotica*, *Acacia tortilis* así como también extractos de polifenol a partir de oliva y hojas de oliva.

En general, además de cantidades pequeñas una fuente de fenol es suficiente. Una relación preferida (p/p) de goma arábiga:fuentes de fenol es 100:1 a 100:5.

- 25 El producto del procedimiento es una realización adicional de la invención, es decir una composición que comprende
- goma arábiga
 - una fuente de fenol

Este procedimiento es aplicable a goma arábiga de *Acacia seyal*, goma arábiga de *Acacia senegal* o una mezcla de las mismas.

- 30 Como una corteza de fuente de fenol, se prefieren especialmente polifenoles y ácido gálico. La corteza debe contener preferentemente polifenoles. La corteza de *Acacia seyal* es una corteza preferida.

Se ha descubierto además, que las propiedades de goma arábiga de *Acacia seyal* pueden mejorarse añadiendo goma arábiga de *Acacia senegal*.

- 35 Por lo tanto, una realización de la invención es un procedimiento para mejorar goma arábiga de *Acacia senegal* que comprende la etapa de:

- añadir goma arábiga de *Acacia seyal*
- goma arábiga de *Acacia senegal*.

Una realización adicional es una composición que comprende

- goma arábiga de *Acacia seyal*
- 40 - goma arábiga de *Acacia senegal*.

La relación de la cantidad de goma arábiga de *acacia seyal* a la cantidad de goma arábiga de *acacia senegal* puede ser 5:95 a 95:5 (p/p). Una relación preferida es 20:80 a 80:20 (p/p) o 40:60 a 60:40 (p/p). Una relación muy preferida es 50:50 (p/p).

Cualquiera de las composiciones de la presente invención puede usarse especialmente para fabricar la emulsión.

- 45 Por lo tanto una realización adicional de la invención es una emulsión que comprende agua, un compuesto hidrófobo y una composición de la invención. Preferentemente, la emulsión es una emulsión O/W (aceite/agua) o W/O/W (agua/aceite/agua) que contiene al menos una sustancia hidrófoba.

Compuestos hidrófobos adecuados son aceites vegetales, aceites triglicéridos de cadena media (MCT, por sus siglas en inglés) y mezclas de los mismos. Algunos ejemplos adicionales de sustancias hidrófobas incluyen aceite esencial obtenido de fuentes vegetales tales como naranja, limón, lima, pomelo; oleorresina obtenida de fuentes vegetales tales como pimienta, canela y jengibre por el procedimiento de oleorresina; saborizante a base de aceite tales como compuestos saborizantes sintéticos a base de aceite y composiciones de saborizantes a base de aceite, colorantes a base de aceite tales como b-caroteno, vitaminas oleosolubles tales como vitaminas A, D, E y K; ácidos grasos poliinsaturados tales como ácido docosahexaenoico, ácido eicosapentaenoico y ácido linolénico; grasas y aceites animales y vegetales tales como aceite de soja, aceite de colza, aceite de maíz, esteroles vegetal y aceite de pescado; SAIB (isobutirato de acetato y sacarosa), goma de éster (éster triacetato de glicerol); aceites de alimentos procesados tales como triglicéridos de cadena media C₆-C₁₂ y mezclas de cualquier material de aceite comestible.

Las emulsiones pueden ser parte de un alimento o una bebida, por ejemplos bebidas suaves. Por lo tanto, una realización adicional de la invención es una bebida o alimento que comprende la emulsión de la invención. Pueden usarse también en muchos campos que incluyen confitería, alimentos saludables, recubrimiento para comprimidos, gelatina de goma, sabores emulsionados y pinturas.

La presente invención se describirá ahora con detalles adicionales con referencia a los siguientes ejemplos y Figuras. Estos ejemplos pretenden únicamente ilustrar adicionalmente la invención y no pretenden limitar el ámbito de la invención como se define por las reivindicaciones.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra un perfil de elución de *Acacia seyal* (muestra n.º 5) monitoreado por (a) dispersión de luz (detector 90°), (b) índice de refracción y (c) UV a 214 nm como se describe en el Ejemplo 1. Los resultados se procesaron para la goma entera y de acuerdo con los dos picos como se identifica en el detector de índice de refracción (Figura 1b).

La Figura 2 muestra la distribución de tamaño de gotitas realizada usando la muestra n.º 5 de acuerdo con el ejemplo 1. Realizada al 20 % de goma:20 % de MCT. La emulsión se sometió a aceleración de tensión durante 3 y 7 días a 60 °C.

La Figura 3 muestra la media ponderada en volumen (D_{4,3}) y el contenido de tanino para un intervalo de muestras de *Acacia seyal* (goma Talha) usadas para fabricar una emulsión de aceite en agua del 20 % de goma:20 % de MCT de acuerdo con el ejemplo 1.

La Figura 4 muestra el % inicial de gotitas y después de aceleración a 60 °C para emulsiones fabricadas usando un intervalo de muestras de *Acacia seyal* (goma Talha) usadas para fabricar una emulsión de aceite en agua del 20 % de goma:20 % de MCT de acuerdo con el ejemplo 1. El color Gardner medido al 1 % en peso en agua también se da en la gráfica.

La Figura 5 muestra D_{4,3} inicial y % de gotitas y después de aceleración a 60 °C para emulsiones fabricadas usando un intervalo de muestras de *Acacia seyal* (goma Talha) usadas para fabricar una emulsión de aceite en agua del 20 % de goma:20 % de MCT de acuerdo con el ejemplo 1. El color Gardner medido al 1 % en peso en agua también se da en la gráfica.

La Figura 6 muestra un perfil de elución de *Acacia seyal* (muestra n.º 18) monitorizado por detector de índice de refracción en la presencia y ausencia de tanino añadido (generado a partir de corteza de *Acacia seyal*) como se describe en el Ejemplo 2.

La Figura 7 muestra un diámetro medio ponderado en volumen y % de gotitas mayores que 1 micrómetro para la emulsión fabricada usando muestras de control de *Acacia seyal* y después de la adición de corteza de acuerdo con el ejemplo 2. Las mediciones también se informaron para emulsión sometida a aceleración de prueba de tensión incubando la emulsión a 60 °C durante 3 y 7 días.

La Figura 8 muestra perfiles de elución de *Acacia seyal* blanqueada antes y después de la adición de corteza de *Acacia seyal* de acuerdo con el ejemplo 3 monitorizado por (a) índice de refracción, (b) detector de dispersión de luz (90°) y (c) UV a 280 nm.

La Figura 9 muestra la media ponderada en volumen (D_{4,3}) y el % de gotitas mayores que 1 y 2 micrómetros para emulsiones recientes y aceleradas fabricadas usando *Acacia seyal* blanqueada y después de la adición de corteza de acacia de acuerdo con el ejemplo 3.

La Figura 10 muestra la distribución de tamaño de gotita de emulsión de aceite en agua fabricada usando *Acacia senegal* (n.º 1) para emulsiones recientes y aceleradas (3 y 7 días a 60 °C) fabricadas usando (a) muestra de control, (b) con corteza añadida de *Acacia seyal* y (c) después de la adición de ácido gálico de acuerdo con el ejemplo 4.

La Figura 11 muestra comparación de respuesta de dispersión de luz (detector 90°) para *A. senegal* con adición

de ácido gálico y adición de corteza de acuerdo con el ejemplo 4.

Las Figuras 12 a y b muestran la media ponderada en volumen (D4,3) y el % de gotitas mayores que 1 y 2 micrómetros para emulsiones recientes y aceleradas fabricadas usando *Acacia senegal* secada por pulverización (muestras n.º 2 y 3) antes y después de la adición de corteza de *Acacia seyal* de acuerdo con el ejemplo 4.

5 La Figura 13 muestra la media ponderada en volumen (D4,3) y el % de gotitas mayores que 1 micrómetro para emulsiones recientes y aceleradas (3 y 7 días a 60 °C) fabricadas usando *Acacia senegal* (muestra n.º 4) y *Acacia seyal* y mezclas fabricadas al 50:50 % de *senegal* y *seyal* de acuerdo con el ejemplo 5.

La Figura 14 muestra distribución de tamaño de gotita de emulsión reciente y almacenada fabricadas usando *Acacia seyal* (muestra n.º 23) al 12 % en peso.

10 La Figura 15 muestra la distribución de tamaño de gotita de emulsión reciente y almacenada fabricada usando el 15 % en peso de *Acacia seyal* (muestra n.º 23) y el 5 % en peso de *Acacia senegal* (muestra n.º 5).

La Figura 16 proporciona mediciones de color Gardner para las muestras de la presente invención; la figura 16a se refiere al 1 % y la figura 16b al 20 % en peso.

Ejemplos

15 Muestras y Procedimientos de Prueba

Las muestras autenticadas de *Acacia seyal* (goma talha) obtenidas como una mezcla de nódulos pequeños y trozos de goma rota con color variado se obtuvieron de diversas ubicaciones en Sudán, de dos estaciones. En total se usaron 23 muestras. Las muestras de *Acacia senegal*, en la goma gruesa en terrones de diversos tamaños, también se obtuvieron de Sudán a partir de diversos proveedores. Adicionalmente, también se usaron *Acacia senegal* secadas por pulverización y se obtuvieron de Norevo (Alemania). La *Acacia seyal* secada por pulverización sometida a blanqueamiento con peróxido de hidrógeno se obtuvo de Dansa Food (Nigeria). Las gomas secadas por pulverización se usaron según se suministraron. Las muestras de goma bruta se trituraron usando pistilo y mortero con el fin de preparar una muestra homogénea (en forma de polvo) que se usó después para todas las mediciones listadas a continuación:

25 El problema práctico es que *Acacia seyal* de diversos países productores se suministra con diferente color y de esta forma propiedades. La razón principal para esta variación se cree que es debida a (i) las variedades de esta especie, es decir *Acacia seyal* var. *seyal* y *Acacia seyal* var. *fistula*. En un artículo reciente (Andres Brull 2015) se demostró cómo estas variedades pueden ser diferentes incluso cuando vienen de la misma área y estación. La variedad *fistula* tiene una corteza pulverulenta, normalmente blanca o amarilla verdosa, mientras que la variación *seyal* tiene una corteza rojiza. En el artículo anterior se establece "Por qué *seyal* obtenida de diversas áreas de producción muestra tal variación en términos de color y forma todavía no se comprende bien. Actualmente, todas *A. seyal* que se originan de Sudán se venden como "seyal" (conocidas localmente como goma talha) independientemente de su variedad taxonómica". Adicionalmente, la otra razón por la que *acacia seyal* es diferente y no ha sido posible usar en la industria es que diferentes áreas de producción dentro del mismo país productor usan diferentes procedimientos para tratamientos pre y post-cosecha. Un árbol de acacia de área común como es el procedimiento normal usado para *Acacia senegal* mientras que otras áreas simplemente recolectan el exudado natural sin recoger fluidos. Por esta razón los nódulos con diversos colores son con frecuencia el resultado ya que el tanino es realmente una contención que viene de la corteza del árbol de *Acacia seyal*. Ya se ha conocido que cuando el árbol se sacan los fluidos la goma es de color más claro ya que la extracción de fluidos significa esencialmente herir manualmente al árbol para retirar la corteza para inducir gomosis.

Perdida en secado: El % de pérdida en secado se determinó de acuerdo con el procedimiento JECFA que es una medición de la pérdida de humedad cuando la muestra se calienta durante 5 horas a 105 °C (Al-Assaf, S., y col., 2005) véase www.cybercolloids.net/library/jecfa/gum-arabic.

45 Rotación óptica: La rotación óptica se midió al 1 % en peso de solución (basándose en el peso seco) preparada en agua destilada e hidratada durante la noche por mezclado de tambor. La solución se filtró después a través de una malla de 100 micrómetros.

50 Color Gardner: La misma solución se usó también para determinar el índice de color Gardner como sigue: un colorímetro PFXi-195/1 Tintometer Lovibond calibrado se usó para determinar el color Gardner de las muestras de *Acacia seyal*. Se realizan mediciones usando una célula de longitud de trayectoria de 10 mm en soluciones del 1 % en peso preparadas como se describe anteriormente. La escala de color Gardner es de 1 a 18 con 1 que contiene la al menos cantidad de color y 18 con la cantidad máxima de color. El Gardner es una escala dimensional usada para líquidos grado como barnices, resinas y aceites.

Fenoles Totales: Se determinaron los fenoles totales usando el ensayo de azul de Prusia modificado como se describe en detalle en Andres-Brull 2015 y dado posteriormente.

55 El contenido de tanino se toma aquí para representar los "fenoles totales" y más exactamente los "equivalentes de

ácido gálico” como ácido gálico - 99 % de pureza obtenido de Sigma Aldrich - se usa como el patrón analítico para determinar las taninos hidrolizables. La solución al 1 % en peso se fabrica de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente para determinar el contenido de tanino en las muestras respectivas.

5 Se prepararon 500 µg/g de ácido gálico en agua destilada. Esto se diluyó en serie después para obtener concentraciones de 400, 300, 200, 100 y 50 µg/g usados como patrones. 0,10 ml de cada muestra o el patrón se dispensaron en un universal de 30 ml. Se añadieron 3 ml de agua destilada después de mezcla en vórtex. A continuación, se añadieron 1,00 ml de K₃Fe(CN)₆ 0,016 M seguido de 1,00 ml de FeCl₃ 0,02 M y se mezclaron inmediatamente con mezclador vórtex. Exactamente 15 minutos después de añadir el reactivo a la muestra se añadieron 5,00 ml de estabilizar se y se mezcló con vórtex. El estabilizar se preparó mezclando 10 ml de H₃PO₄ al 85
10 %, 10 ml de goma arábiga al 1 % en peso y 30 ml de agua destilada. La muestra de goma arábiga usada es *Acacia senegal* var. *senegal* convencional en la forma triturada obtenida de Sudán. Se prepararon también blancos de solamente disolvente añadiendo todos los reactivos y 0,1 ml de disolvente en lugar de patrones de seyal o ácido gálico. Se leyó la absorbancia a 700 nm por duplicado para todos usando el espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 40 UV/Vis. El error en la medición del contenido de tanino estaba por debajo del 10 % para todas las muestras y se tomó el promedio.

Peso molecular: Los parámetros de peso molecular de goma arábiga se determinaron por cromatografía de permeación de gel acoplados en línea a detectores de dispersión de luz láser, de índice de refracción y de UV (GPC-MALLS). El uso de un sistema GPC-MALLS primero fracciona el material usando columna de cromatografía de permeación de gel (Superosa 6 10/300 GL), y después detecta posteriormente cada fracción usando: un detector de proteína (absorbancia de UV usando detector UV serie Agilent 1100, Agilent Technologies, RU) que funciona a 214 nm o 280 nm), un detector de dispersión de luz láser multiángulo (medido usando DAWN EOS detector de dispersión de luz multiángulo, Wyatt Technology Corporation, RU, que funciona a 690 nm), y un detector de concentración (índice de refracción, IR medido usando refractómetro Optilab, Wyatt Technology Corporation, RU). La solución de NaCl acuosa (0,2 M) con NaN₃ al 0,005 % filtrada a través de filtro millipore de 0,2 µm se adoptó como un eluyente y se suministró en una relación constante de 0,4 ml/min por una bomba K-501 HPLC KNAUER (Kinesis, RU). El material de prueba se preparó en el mismo disolvente en una concentración de 2 mg/ml. Se inyectó en el sistema GPC-MALLS después de filtrarse a través de un filtro de Nylon de 0,45 µm. Los datos se recogieron y se analizaron por software Astra 4.90.08. El sistema permite que sea medida la distribución de peso molecular de goma arábiga y de esta forma el peso molecular de goma entera así como también pueden determinarse fracciones individuales junto con su relación comparada con la masa inyectada total.

Emulsificación: El comportamiento de emulsificación de las diversas muestras de *Acacia seyal* así como también *Acacia senegal* y mezclas de las mismas se evaluaron en una emulsión de aceite en agua típica como se describe posteriormente. El procedimiento utilizó triglicéridos de cadena media como la fase oleaginosa sin usar un agente de pesaje. Se prepararon formulaciones típicas como sigue: se fabricaron emulsiones de 40 g para contener ácido cítrico al 0,12 % en peso (para ajustar el pH), ácido benzoico al 0,13 % en peso (como un conservante), se usa aceite de triglicéridos de cadena media (MCT) como aceite modelo al 20 % en peso y goma arábiga al 20 % en peso. Se fabricaron mezclas de goma arábiga (*seyal* y *senegal*, *kerensis*, *polyacantha* etc.) mezclando la goma sólida que se usó para fabricar la solución madre al 30 % en peso y de la cual se logró la dilución al 20 % en peso usando agua destilada. Los ingredientes se mezclaron inicialmente usando un homogeneizador de alto esfuerzo cortante (Polytron PT-2100) a 26000 rpm durante 3 minutos seguido de dos pasajes a través de un homogeneizador de alta presión a 50 Mpa (Nanovater, NV L, Yoshida, Japón). El tamaño de gotita de emulsión y la distribución de tamaño se midieron usando procedimientos de difracción láser (Mastersizer, Malvern Instruments, UK) por fijar los datos usando el modelo de propósito general. Se usaron valores de 1,45 y 0,001 para índice refractivo MCT e índice de absorción respectivamente, y 1,33 y 0 para el dispersante (agua) respectivamente. Las emulsiones se sometieron a una prueba de tensión acelerada por incubación a 60 °C. El rendimiento y la estabilidad de la emulsión se evaluaron midiendo el tamaño de gotita inicial inmediatamente después de preparar las emulsiones y después de almacenarlas a temperatura ambiente y también a 60 °C (prueba de tensión acelerada) durante 3 y 7 días. Los resultados se expresaron como diámetro promedio de volumen-momento (D_{4,3}) ya que es más sensible a grandes partículas. Adicionalmente, el % de gotitas mayores que 1 µm o 2 µm o más se informaron también ya que proporciones más grandes de estas gotitas son principalmente responsables del desarrollo de formación de anillo lo cual por último lleva a fallo de emulsión.

Ejemplo 1: Una emulsión de aceite en agua fabricada usando *Acacia seyal* únicamente

Se eligió la muestra de *Acacia seyal* (n.º 5) para ilustrar el ejemplo de fabricar una emulsión de aceite en agua con excelente emulsificación y comportamiento de estabilidad. Los resultados son comparables a *Acacia senegal* y en algunos casos incluso mejores. Las características de la muestra medidas como se indica anteriormente son como sigue:

% de pérdida en secado 11,25 %,

contenido de tanino (equivalente de ácido gálico) 942 ppm,

color Gardner al 1 % 3,3,

color Gardner al 20 % 16,2,

pH 4,74 (medido al 20 % en peso en agua) y

rotación óptica de +50.

5 Los parámetros de peso molecular se midieron por GPC-MALLS, las características de los cuales se han informado previamente (Elmanan y col., 2008; Asan y col., 2005) y se resumen a continuación.

10 El perfil de elusión monitorizado por dispersión de luz, índice de refracción y detectores de UV se dan respectivamente en la Figura 1a-c. Dos picos pueden identificarse por el detector de dispersión de luz (Figura 1a). El primer pico no se digiere por proteasa, a diferencia de *Acacia senegal* y por lo tanto no se llama la fracción arabinogalactano (AGP). Los estudios previos han demostrado que este pico está hecho por dos componentes, solamente uno de los cuales se digiere por la enzima proteasa (Elmanan y col., 2008).

15 El detector de índice de refracción (medición de concentración) también muestra dos picos (Figura 1b). El primer pico corresponde a la fracción de alto peso molecular mientras que el segundo corresponde a las fracciones arabinogalactano (AG) y glicoproteína (GP). La respuesta UV (Figura 1c) muestra tres picos similares a aquel para *Acacia senegal* pero con menor intensidad y de acuerdo con el contenido menor de proteína presente en *Acacia seyal* (Elmanan y col., 2008). El peso molecular promedio en peso de la goma entera determinado por el procesamiento de datos a partir del inicio de la elusión (~7,6 ml) al final (~17,8 ml) es $8,44 \times 10^5$ g/mol. Cada pico también se procesó por separado integrando el área bajo el pico IR. El pico 1 corresponde a la fracción de alto peso molecular y se identificó de la respuesta de detector IR mientras que el pico 2 representa la unidad arabinogalactano (AG) y pico de glicoproteína (GP). El peso molecular promedio en peso y la relación de pico 1 y 2 son (pico 1: peso molecular $1,68 \times 10^6$, % de masa 28,5 %) y (pico 2, peso molecular $5,09 \times 10^5$, % de masa 71,5) respectivamente.

25 La muestra se usó para preparar la emulsión como se describe anteriormente. La Figura 2 muestra la distribución de tamaño de gotitas para la emulsión reciente. Posteriormente, se calienta la emulsión (a 60 °C durante 3 y 7 días) como una prueba de aceleración de tensión, y la distribución de tamaño de gotitas se midió otra vez y se comparó con aquella almacenada a temperatura ambiente para el mismo periodo. La comparación con la distribución de tamaño de gotita inicial también se muestra en la Figura 2. Los resultados claramente muestran un excelente comportamiento de emulsificación inicial donde todas las gotitas están por debajo de 1 micrómetro. El almacenamiento a temperatura ambiente durante 3 y 7 días no dio como resultado ningún cambio significativo en tamaños de gotitas. Adicionalmente, tras la prueba de aceleración hubo muy poco cambio en la distribución de tamaño incluso después de 7 días, D4,3 inicial 0,406 µm, 3 días a 60 °C 0,411 µm, 7 días a 60 °C 0,393 µm. El % de gotita > 1 micrómetro inicial 0,07 %, 3d 0,148 %, 7 días 0,146 %. % de gotita mayor que 2 micrómetros es cero antes y después de la aceleración. Los resultados mostrados en la Figura 2 coinciden con aquellos obtenidos de *Acacia senegal* de buena calidad cuando se somete a las condiciones de procesamiento para preparar emulsión de aceite en agua. Los resultados mostrados en la Figura 2 son novedosos y no se han informado previamente para *Acacia seyal* natural sin ningún tratamiento adicional como modificación química o enzimática. Como se menciona y se detalla en la *Acacia seyal* de antecedentes se admitió ampliamente que posee un comportamiento de emulsificación inferior comparada con la *Acacia senegal* convencional usada en la industria para emulsificación que requiere estabilidad a largo plazo. Nótese, sin embargo, que *Acacia seyal* puede realizar una buena emulsión inicial como los presentes inventores han demostrado en la Figura 1 y se usa típicamente para encapsulación o aplicaciones que no requieren estabilidad de emulsión a largo plazo. La novedad de este ejemplo es que la estabilidad a largo plazo para la emulsión de aceite en agua puede obtenerse de *Acacia seyal* en su forma natural sin ningún tratamiento adicional. En la siguiente sección se destaca la principal diferencia entre *Acacia senegal* y *seyal* y el comportamiento de emulsión y estabilidad. Específicamente, el papel de tanino presente en *Acacia seyal* y su papel en el comportamiento y la estabilidad de emulsificación.

45 El componente de AGP de goma arábica (*Acacia senegal*) es responsable de la eficacia de emulsificación de emulsiones de aceite en agua (Randall y col., Food Hydrocolloids, 1988, 2, 131; Randall y col., Food Hydrocolloids, 1989, 3, 65); (Dickinson, E. (2003)). Se cree que AGP recubre las gotitas de aceite y previene que se re-asocien. Como resultado, una emulsión tal es estable en una escala a largo plazo. El contenido AGP superior habitualmente da lugar a emulsiones incluso más estables y por lo tanto hace una goma más valiosa. El contenido AGP alto también se considera que está asociado a otras funcionalidades tales como unión de agua y unión de sabor. Aumentar la cantidad del componente AGP en una goma sola proporciona valor añadido al producto de goma arábica. *Acacia seyal* por otra parte, puede formar buena emulsión inicialmente pero la estabilidad de la emulsión ha sido siempre el problema. Ya que la acumulación del primer pico es diferente en *seyal* la estabilidad de la emulsión usualmente se deteriorará después de la aceleración. Sin desear quedar ligado a teoría particular alguna este aumento en la estabilidad se considera una contribución directa de tanino. Específicamente, la mejor estabilidad se considera una consecuencia de la contribución de tanino a la asociación molecular presente en el primer pico. Se sabe que el tanino se une a la proteína y también se ha informado que precipita la proteína. Puede obtenerse una emulsión buena y estable puede como se demuestra adicionalmente a continuación en un intervalo de muestras de *Acacia seyal*.

55 La Figura 3 muestra el medio ponderado de volumen inicial (D4,3) para emulsión fabricada usando diversas *Acacia seyal* con contenido de tanino en el intervalo de 227 a 1900 ppm. Los resultados dan correlación razonable con el tamaño de gotita inicial y el contenido de tanino. Pueden obtenerse valores tan bajos como 0,3 micrómetros y tan altos

como 0,9 micrómetros dependiendo del tanino presente. Muestras con contenido de tanino > 800 ppm generalmente dan tamaño de gotita de 0,4 micrómetros o por debajo. A aproximadamente 600-800 ppm el tamaño de gotita en el intervalo de 0,4-0,6 micrómetros. En 400 ppm o posterior el tamaño de gotita está en el intervalo de 0,55-0,9 micrómetros. El comportamiento de emulsión inicial se determina por la capacidad de las moléculas para adsorberse sobre la interfaz y disminuir la tensión interfacial entre aceite y agua. De acuerdo con Dickinson, E. (2003) para una molécula dada que contiene nitrógeno (proteína), tales las gomas de acacia, dos factores moleculares principales pueden esperarse que influyan en la relación de disminuir la tensión interfacial y en consecuencia promover un procedimiento de emulsificación eficiente: estos son (i) el peso molecular del complejo de proteína-polisacárido y (ii) la accesibilidad del componente de proteína dentro del complejo macromolecular. Las fracciones de peso molecular inferior se difundirán rápidamente a la interfaz, llevando a disminución rápida de la tensión la cual resulta por último en tamaño de gotita pequeña. Por otra parte, las fracciones de alto peso molecular se difundirán lentamente y disminuirán la tensión lentamente. Una vez que la molécula de goma acacia ha difundido a la interfaz llegará a ser adsorbida si la porción de proteína es accesible a la interfaz y no se quema en el centro de la molécula. Después de almacenamiento o aceleración habrá algo de redistribuciones en la interfaz lo cual resulta en cambiar la distribución de tamaño de gotita que resultan también de la coalescencia de las gotitas.

La Figura 4 muestra % de gotitas inicial mayor que 1 micrómetro así como también después de aceleración durante 3 días a 60 °C junto con el color Gardner para las 20 muestras mostradas también en la Figura 3. El color Gardner se correlaciona bien con el contenido de tanino ya que su medición de escala de color se atribuye al tanino presente. Las muestras con color Gardner de >3 se asocian a D4,3 bajo y % de gotita > 1 micrómetro de por debajo del 1 % del volumen total. Tras la aceleración durante 3 días a 60 °C el % de gotita > 1 micrómetro aumenta solo ligeramente pero permanece por debajo del 1 % del volumen total. Por otra parte las muestras con color Gardner por debajo de 3 dan una relación superior (igual o mayor al 1 %) y aumenta significativamente cuando se somete a prueba de aceleración a 60 °C durante 3 y 7 días como se muestra en la Figura 5. Hay cambios muy ligeros en la estabilidad de emulsión para muestras de *Acacia seyal* a 60 °C en comparación con un cambio más significativo para muestras con contenido inferior de tanino.

Los resultados dados en las Figuras 3-5 demuestran que una selección de *Acacia seyal* natural para emulsión de aceite en agua es posible. La emulsión es similar o mejor que los materiales convencionales (*Acacia senegal*) usados típicamente en la industria de la bebida y otras relacionadas.

Ejemplo 2: Adición de corteza de *Acacia seyal* a goma de *Acacia seyal*

En este ejemplo, los presentes inventores han usado tres muestras que dieron un rendimiento de emulsificación y estabilidad deficiente para demostrar cómo el tanino (más específicamente el tanino hidrolizable) puede mejorar las propiedades de peso molecular y emulsificación.

Estas muestras fueron n.º 18, n.º 19 y n.º 20 con contenido de tanino de 373, 287 y 227 respectivamente. Las muestras se seleccionaron basándose en demostrar la menor cantidad de tanino en las 20 muestras mostradas en las Figuras 3, 4 y 5 anteriores. En primer lugar, el procedimiento para obtener y cuantificar el tanino liberado de la corteza se determina usando el Ensayo de Azul de Prusia como se describe anteriormente. Corteza (sola) obtenida del árbol de *Acacia seyal* se hizo polvo usando un molino eléctrico. Se dispersaron 5 g de este polvo en 500 ml de agua destilada y se calentaron durante 3 horas a 60 °C. El fenol total se determinó y se obtuvo un valor de 131 ± 2 ppm (equivalente de ácido gálico). Las muestras de *Acacia seyal* (con comportamiento de emulsificación deficiente) se disuelven en agua para hacer el 30 % en peso de solución. A esta solución se añadió 1 g de corteza molida (como se da anteriormente) para aumentar el contenido total de tanino a 700, 614 y 554 ppm para las muestras 18, 19 y 20 respectivamente.

(Nota: Esto se calculó como sigue: 1 % de corteza sólida (es decir, disolviendo 5 g en 500 ml de agua) da 131 ppm de tanino. Se preparó una solución madre de seyal al 30 % en peso en agua a la cual se añade 1 g de corteza sólida al volumen total de 40 g. La concentración de corteza es después el ~2,5 %. Cada 1 % de corteza sólida da 131 ppm de tanino como se muestra anteriormente. Por lo tanto

para la muestra 18 $(131 \times 2,5) + 273$ ppm (tanino original presente = ~700 ppm de tanino total en la goma después de añadir la corteza.

para la muestra 19 $(131 \times 2,5) + 273$ ppm (tanino original presente = ~614 ppm de tanino total en la goma después de añadir la corteza.

La muestra 20 $(131 \times 2,5) + 227$ ppm (tanino original presente = ~554 ppm de tanino total en goma después de añadir la corteza.

La mezcla se calentó durante 3 horas a 60 °C después se dejó mezclar en tambor durante la noche. La solución se filtró después usando una malla de 100 micrómetros como se describe anteriormente. Se fabricó una dilución a 2 mg/ml en NaCl 0,2 M a partir del control y la muestra con el tanino añadido. Las muestras se inyectaron después en el sistema GPC-MALLS y los parámetros de peso molecular se dan en la Tabla 1 posterior.

Alternativamente, se aplicó el mismo procedimiento usando otra fuente de polifenol: es decir un extracto de hoja de olivo (N-O-02,02 Olexelo (solución), suministrado por N-Zyme, Alemania). El polifenol total para este extracto se

determinó de acuerdo con el procedimiento ya descrito y se obtuvo un valor de 3042 ppm. Se añadieron 0,5 ml de Olexelo a 3 g de solución de *Acacia seyal* al 17,6 % en peso (muestra n.º 23) y la solución se trató de la misma manera por incubación a 60 °C durante 3 horas y posteriormente se diluyeron 2 mg/ml en NaCl 0,2 M para las mediciones de GPC-MALLS. Los resultados también se dan en la Tabla 1.

5 Tabla 1. Parámetros de peso molecular, determinados por GPC-MALLS, de *Acacia seyal* (muestras n.º 18, 19 y 20) en presencia o ausencia de tanino añadido.

Número de muestra	18	18+corteza	19	19+corteza	20	20+corteza	23	23+corteza
P _m -goma entera (x 10 ⁵)	9,9	16,1	12,3	15,2	9,8	17,6	11,6	20,1
R _g -(goma entera)/nm	17	34	20	34	14	48	24	51

10 Tras la adición de tanino todas las muestras mostraron un aumento en el peso molecular y estuvieron acompañadas de un aumento en el valor R_g, aunque en un grado diferente. Los resultados muestran que el aumento en los parámetros de peso molecular se relaciona directamente con la formación de fracción de alto peso molecular. Estos cambios se muestran claramente en la Figura 6 que compara el perfil de elusión de la muestra n.º 18 en presencia y ausencia de tanino añadido.

15 Sin desear quedar unido a teoría alguna los presentes inventores atribuyen este cambio a la sencilla asociación de moléculas de goma arábiga en toda la distribución por tanino. La adición de tanino da como resultado la asociación molecular mientras que casi todas las moléculas son afectadas. Consecuentemente, hay un aumento claro en el primer área de pico y una reducción en el segundo pico (fracciones AG+GP). Es interesante notar que en el área de volumen total (19-24 ml) la respuesta es casi idéntica para control y aquella de tanino añadido que confirma que solamente el tanino soluble se libera de la corteza durante la dispersión en agua.

20 El comportamiento de emulsificación de las muestras en la presencia y ausencia de tanino añadido se compara en la Figura 7. La Figura 7 muestra el promedio de peso en volumen (D_{4,3}) y % de gotitas mayor que los micrómetros para la emulsión fabricada usando muestras de control de *Acacia seyal* (n.º 18, 19 y 20) y aquellas con corteza añadida. Todas las muestras mostraron un aumento en el tamaño de gotita después de aceleración de prueba de tensión a 60 °C durante 3 y días. Después de la aceleración el tamaño de la gotita de las emulsiones fabricadas usando las muestras de control (es decir sin corteza añadida) aumenta hasta 3-6 veces su tamaño original como resultado de la coalescencia de las gotitas. Todas las muestras con corteza añadida muestran comportamiento de emulsificación inicial mejorado donde el D_{4,3} y % de gotitas mayores a 1 micrómetro se redujeron. Más significativamente es la forma de estabilidad mejorada de todas las muestras después de aceleración a 60 °C durante 3 y 7 días. La relación de gotitas >muestras de control de 1 micrómetro (n.º 18, 19 y 20) después de 7 días de aceleración a 60 °C es 47, 90 y 83 % respectivamente y se redujeron al 29, 42 y 28 %, respectivamente, después de la adición de la corteza. El tamaño de gotita para muestras de control después de 7 días son 2,77, 3,96 y 6,2 y se redujeron a ~1 micrómetro en presencia de tanino.

Ejemplo 3: Adición de corteza de *Acacia seyal* a *Acacia seyal* blanqueada

35 En este ejemplo se selecciona muestra de *Acacia seyal* que se ha sometido a blanqueamiento, usando peróxido de hidrógeno, para demostrar además el efecto de añadir corteza como una fuente de tanino soluble a *Acacia seyal*. En primer lugar se determinaron los parámetros de peso molecular antes y después de la adición de corteza usando técnicas GPC-MALLS como se describe anteriormente y los resultados se muestran en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2. Parámetros de peso molecular de *A. seyal* blanqueada control en forma secada por pulverización y con corteza añadida.

Parámetro	Control	Adición de corteza
P _m de goma entera (x 10 ⁵) g/mol	5,3	10,0
R _g (goma entera)/nm	25	54
P _m de AGP (x 10 ⁶) g/mol	1,9	5,5
% de masa (1er. Pico)	11,0	11,9
RG- 1 ^{er.} Pico/nm	32	58
P _m de (AG+GP)(x 10 ⁵) g/mol	3,6	3,8
% de masa (AG+GP)	89	88

40 Los resultados dados en la Tabla 2 muestran que el peso molecular promedio en peso para la goma entera casi se dobla tras la adición de corteza y se acompaña de un aumento en el valor R_g (radio de raíz cuadrada media de rotación) de 25 a 54 nm. Mientras que la relación del primer pico es casi el mismo y es más significativo para notar los

5 aumentos de peso molecular de $1,9 \times 10^6$ a $5,5 \times 10^6$ g/mol y también un aumento en su valor Rg de 32 a 58 nm. Los parámetros para el segundo pico (es decir fracción AG y GP) se mantienen ampliamente sin cambios con la excepción del ligero aumento en el peso molecular. Estos cambios son claramente mostrados en la comparación del perfil de elución monitorizado por índice de refracción, dispersión de luz (detector 90°) y detectores UV para seyal blanqueado antes y después de la adición de corteza como se muestra en las Figuras 8 a,b,c respectivamente. La Figura 8a muestra una respuesta refractiva muy similar aunque casi diferencia notable puede ser identificada en el inicio del volumen de elución (~7,3 ml) y la altura pico para el pico AG (~13 ml). Sin embargo, la diferencia más significativa es la aparición de gran pico de dispersión de luz (~7-8,5 ml) la cual muestra también respuesta UV a 280 nm asociado típicamente a materiales fenólicos. Los resultados demuestran que el tanino soluble se asocia a la fracción de alto peso molecular y de esta forma da como resultado el aumento de los parámetros de peso molecular dados en la Tabla 2 anterior.

15 Similarmente, se evalúa el comportamiento de emulsificación de *Acacia seyal* blanqueada antes y después de la adición de corteza de *Acacia seyal*. Se prepara la emulsión al 20 % de goma:20 % de aceite MCT de acuerdo con el procedimiento convencional descrito anteriormente. Las emulsiones se evaluaron después midiendo la distribución de tamaño de gotitas para emulsión reciente y después de la aceleración durante 3 y 7 días a 60 °C y se mostraron en la Figura 9. La Figura 9 muestra la media de peso de volumen (D4,3) y % de gotita mayor que micrómetro para emulsión hecha usando muestra de *Acacia seyal* blanqueada antes y después de la adición de corteza. Todas las emulsiones mostraron un aumento en el tamaño de gotita después de la aceleración de prueba de tensión a 60 °C durante 7 días. Después de la aceleración el tamaño de gotita de la emulsión fabricada usando la muestra control (es decir, sin corteza añadida) aumentó de 4,46 µm a 5,64 µm como un resultado de la coalescencia de gotitas mientras que la gotita > 1 µm para ambas es ~90 %. Por otra parte, la emulsión con corteza añadida da como resultado reducir el valor D4,3 a 1,45 µm y solamente aumenta a 1,73 mm ante aceleración durante 7 días a 60 °C demostrando de esta forma el aumento significativo de la estabilidad y el comportamiento de emulsificación.

25 **Ejemplo 4: Adición de corteza de *Acacia seyal* o ácido gálico a *Acacia senegal***

25 En los ejemplos previos se demuestra cómo la adición de corteza de *Acacia seyal* además de *Acacia seyal* (goma talha) así como también a *Acacia seyal* blanqueada puede aumentar el comportamiento y la estabilidad de emulsificación. La adición de corteza es principalmente como una fuente de tanino soluble (tanino hidrolizable) que es fuente de compuestos polifenólicos. En este ejemplo los presentes inventores usaron *Acacia Senegal* que se sabe ampliamente que no contiene tanino. Aquí, inicialmente se repite el mismo procedimiento aplicado en muestras de *Acacia seyal* donde se añadió 1 g de corteza al material sólido durante el procedimiento de disolución. En la segunda parte, los presentes inventores han usado ácido gálico puro (99 %) obtenido de Sigma como una fuente de un compuesto fenólico soluble. El propósito de usar ácido gálico es demostrar que bajo las condiciones usadas, es decir añadir la corteza a goma arábiga, solamente el tanino soluble (polifenol) se libera en la solución acuosa la cual es responsable de la asociación molecular entre fracciones de goma arábiga. La muestra de goma seleccionada en este ejemplo originada de Sudán se suministra en forma de goma de masa (*Acacia senegal*, muestra n.º 1). La muestra se trituró usando pistilo y mortero y posteriormente se hace en un polvo fino. Se añadieron 0,04 g de ácido gálico a ~13 g de goma arábiga y se llevó hasta 40 g con agua destilada. La concentración final de goma arábiga (con base en peso seco) es el 30 % en peso que contiene ácido gálico 1000 ppm. La solución se deja disolver durante la noche por mezclar en tambor en un mezclador de rodillo. Se preparó la muestra control de forma similar sin la adición de ácido gálico. Después de disolución se hace un peso apropiado de la solución respectiva hasta de 10 g con disolvente de GPC (NaCl 0,2 M) para determinación de peso molecular. Se preparan emulsiones como por procedimiento habitual en 20 % de goma arábiga y 20 % de MCT que contiene el 0,13 % de ácido benzoico y ácido cítrico al 0,12. Después se mezcla con alto esfuerzo cortante usando Polytron y posteriormente dos pasajes a 50 Mpa usando el homogeneizador de alta presión. El peso molecular promedio en peso para la goma entera y los valores Rg se dan en la Tabla 3 posterior para el control y la corteza añadida de muestra así como también con la adición de ácido gálico.

45 Tabla 3: Parámetros de peso molecular de *acacia senegal* (en la forma bruta, Senegal n.º 1) antes y después de la adición de corteza o ácido gálico.

Parámetro	Control	más corteza	más ácido gálico	
			con agregados	sin agregados
P _m de goma entera (x 10 ⁵)	4,0	11,3	17,7	10,4
Rg (goma entera)/nm	28	44	77	45

50 Los resultados dan peso molecular promedio para la muestra de control de $4,0 \times 10^5$ g/mol con valor Rg de 28 nm. Este valor se considera ligeramente por debajo de *A senegal* promedio e indica que es una muestra reciente ya que el % de pérdida en secado es 13,7 %. La viscosidad de 98 cps (medida usando el viscosímetro Brookfield, 100 rpm, huso 02) al 20 % con valor de pH de 4,4 que son valores típicos de *Acacia senegal* en forma bruta. El perfil de elución monitorizado por dispersión de luz, índice de refracción y detectores UV también muestra *Acacia Senegal* típica donde la presencia de tres fracciones: es decir AGP, AG y GP pueden identificarse. El rendimiento de emulsificación se investigó y la distribución de tamaño de gotita se muestra en la Figura 10a. La muestra dio un rendimiento de

emulsificación excelente y estabilidad hasta 3 días de aceleración a 60 °C. Sin embargo, la aceleración de tensión adicional a 60 °C durante 7 días resulta en la formación de gotitas más grandes como un resultado de ruptura de emulsión debido a la coalescencia de gotitas. El % de gotitas mayores de 1 micrómetro se aumenta del 0,11 % al 7,23 % después de 7 días de aceleración a 60 °C. El grado de emulsión para esta muestra se categoriza por lo tanto como un promedio como resultados de aumento en el tamaño de gotita después de aceleración a 60 °C. La distribución de tamaño de gotita de emulsión fabricada usando solución con corteza añadida o ácido gálico se muestran en las Figuras 10b y 10c respectivamente. El pico de gotita > 1 micrómetro desaparece en ambos y por lo tanto la emulsión se clasifica como una emulsión excelente ya que casi no hay cambio en la distribución de tamaño de gotita después de aceleración a 60 °C durante 3 y 7 días.

La emulsificación mejorada se debe principalmente a aumentar el peso molecular de la goma entera a partir de 4×10^5 al menos en 2,5 veces en comparación con el material de partida. Los cambios más impresionantes son que después de la adición de ácido gálico se formó un pico agregado en el inicio del volumen de elución. El perfil de elución de la muestra con corteza añadida es casi idéntico a aquella con ácido gálico añadido (Figura 11) con la excepción de este pico agregado. La proporción de este pico agregado fue solo aproximadamente el 0,64 % de la masa total pero su peso molecular aparente es $11,64 \times 10^7$ con valor Rg de 108 nm. Los cambios en el perfil de elución específicamente en el inicio se asocian a las moléculas de alto peso molecular lo que sugiere que la adición de ácido gálico es más prominente para asociar materiales de alto peso molecular y producir este pico agregado.

Los resultados dados en la Figura 11 muestran los cambios más importantes que son el aumento en el peso molecular después de la adición de corteza o ácido gálico puro. La adición de corteza de acuerdo con el cálculo de los presentes inventores resultará en añadir 327 ppm de tanino (es decir, liberado de 2,5 % de corteza añadida a la solución de goma) pero con la adición de 1000 ppm de ácido gálico la modificación en la fracción de alto peso molecular es significativa y resulta en la formación de un agregado como se muestra claramente en el área pico (7-8 ml). Para *Acacia senegal* se informa ampliamente que el pico de arabinogalactano hecho de unidades de carbohidrato (~250-300 K) se enlazan al péptido común para formar lo que se denomina la estructura de floración de zarzo como se describe anteriormente. La estructura de AGP es más abierta comparada con la estructura compacta ya demostrada estar presente en *Acacia seyal*. Como un resultado adición de ácido gálico como un compuesto fenólico puede fácilmente acceder los sitios libres para interaccionar con la proteína. Esta interacción simplemente significa llevar más unidades AGP juntas para formar las supermoléculas como se muestra en el pico agregado con peso molecular de $11,64 \times 10^7$ con valor Rg de 108 nm. Comparar esto a los valores de peso molecular típicos para la fracción AGP es 1,5-3 millones con Rg de alrededor de 35 nm. La formación de este pico agregado se asocia típicamente al secado por dispersión y se ha atribuido en la presente este comportamiento al tratamiento de calor dado a la solución de goma durante el procesamiento. La formación de agregación en el material secado por pulverización se asocia típicamente a un menor comportamiento de emulsificación ya que los agregados son muy grandes para ser útiles en emulsificación cuando se usa la homogenización de alta presión estándar. Típicamente necesitan más homogenización de alta presión para disociarse y hacer útil para adsorber en la gotita de aceite pero generalmente muestras con alta relación de agregados no son buenos emulsionantes ya que hay desnaturalización de proteína la cual resulta en carácter más hidrófilo que se desarrolla después del secado por pulverización.

Además del ejemplo anterior los presentes inventores también han usado otras muestras de *Acacia senegal* con deficiente comportamiento de emulsificación. Estas muestras estaban en forma secada por pulverización y se obtuvieron de diversos proveedores. Los parámetros de peso molecular que incluyen el pico agregado se tabulan en la Tabla 4 posterior antes y después de la adición de corteza. En ambos casos el peso molecular se aumenta como un resultado de aumentar la relación de la fracción de alto peso molecular nombrada AGP. Hay también un aumento en el valor Rg para tanto goma después de la adición de corteza. Este aumento otra vez similar a aquel que se encuentra en *A. seyal* y se acompaña de una disminución en el peso molecular del segundo pico (fracciones AG+GP). La reducción de nuevo se atribuyó a la asociación de moléculas después de la adición de corteza. De nuevo, la adición de corteza es puramente como una fuente de tanino soluble que se libera en la solución proporcionando de esta forma compuestos polifenólicos requeridos para el procedimiento de asociación.

Tabla 4. Parámetro de peso molecular de *Acacia senegal* en la forma secada por pulverización antes y después de la adición de corteza de *Acacia seyal* como fuente de tanino soluble.

	Senegal n.º 2	Senegal n.º 2 + corteza	Senegal n.º 3	Senegal n.º 3 + corteza
Pm de goma entera(x 10 ⁵)	10,47	16,34	17,51	22,77
Rg (goma entera)/nm	68,6	75	66,9	81,9
Pm de AGP	6,735	10,33	13,29	15,13
% de masa (AGP)	9,53	12,33	10,41	12,72
Rg-AGP	72,8	83,9	69,5	87,9
Pm (AG+GP) (x 10 ⁵)	4,478	4,114	4,112	4,03
% de masa(AG+GP)	90,47	87,67	89,59	87,28

50

Por lo tanto los presentes inventores también han examinado el efecto de adición de corteza en el comportamiento y la estabilidad de emulsificación. Ambas muestras se eligieron con propiedades de emulsificación deficientes como se determina por el aumento en valores D4,3 y % mayores que las gotitas de 1 micrómetro después de aceleración a 60 °C durante 3 y 7 días. Ambas muestras dan una gotita más pequeña inicial de ~0,48 micrómetros con % mayor que 1 micrómetro del 3,9 y el 6,4 % respectivamente. Tras la aceleración a 60 °C durante 7 días la relación de gotitas mayores que 1 micrómetro aumenta al >40 % (Figura 12). Por esta razón ambas muestras se clasifican como emulsionantes de grado deficiente. La adición de corteza a estas muestras, similarmente como se ve con *Acacia seyal*, da como resultado inicialmente la disminución del tamaño de gotita y mejora significativamente la estabilidad después de aceleración en 60 °C. La relación de gotitas mayores que 1 micrómetro después de aceleración a 60 °C durante 7 días se reduce al 1,48 % en presencia de tanino liberada de la corteza de acacia añadida. El aumento en la estabilidad se atribuye al aumento la relación de AGP y formación de asociación estable a través de tanino proporcionada por la adición de corteza.

Ejemplo 5: Mezclas de *Acacia seyal* con *Acacia senegal*

Se muestra un ejemplo aquí para demostrar que emulsión aceite en agua puede realizarse mezclando *Acacia senegal* y *Acacia seyal*. *Acacia senegal* (Senegal n.º 4) obtenida de Sudán en la forma de goma de terrón se procesó triturando y posteriormente se hizo polvo usando pistilo y mortero. Se usó la muestra de *Acacia senegal* para hacer mezclas con tres muestras de *Acacia seyal* (n.º de muestras 21, 22 y 23 también procesadas de forma similar en forma de polvo) en 50:50 % en el estado seco mezclando igual peso de cada muestra para dar Mezcla 1, Mezcla 2, y Mezcla 3 respectivamente. Las muestras se dejaron después mezclar en tambor para asegurar una mezcla homogénea. Primero se determinaron el % de pérdida en secado, la rotación óptica, el pH y el índice de color Gardner usando los procedimientos descritos anteriormente. Los valores para el % de pérdida en secado para las mezclas son casi un promedio de la suma de los dos componentes respectivos. La rotación óptica obtenida para muestras de *Acacia senegal* (-30) y *Acacia seyal* son valores típicos y de acuerdo con aquellos informados previamente (Hassan y col., 2005).

Tras el mezclado cambia la rotación óptica de *senegal* y *seyal* como una función de los componentes de azúcar presentes. También los valores de pH para todas las muestras y mezclas son similares a aquellos informados en estudios previos y dentro del intervalo de 4,1 - 4,8. La mayor diferencia entre muestras de *senegal* y *seyal* son el valor L* (una medición de la transparencia de solución) y color Gardner, medido en solución al 1 y al 20 % en agua destilada. El color Gardner muestra un aumento con concentración aumentada tanto para muestras *senegal*, *seyal* como para mezclas. A concentraciones superiores los valores Gardner entran al final rojo de la escala (números 9-18). L* disminuye con concentración aumentada debido al aumento en oscuridad de la solución. Para *Acacia senegal* en 1 % en peso un valor de 96 (casi totalmente transparente) se obtiene comparado con 80 en 20 % en peso. Por otra parte, para muestras de *Acacia seyal* el valor ~40 en 20 % en peso comparado con ~95 % en 1 % en peso de solución. Esta diferencia entre *Senegal* y *seyal* está principalmente provocada por la presencia de tanino en *seyal*. Mezclar *senegal* y *seyal* da como resultado un color más ligero y soluciones más transparentes para las tres mezclas. Las mediciones repetidas en la misma solución o solución reciente dan valores similares con buena reproducibilidad lo cual indica que la mezcla es totalmente compatible y no tiene lugar la separación de fase.

Tabla 5. % de pérdida en secado, rotación óptica, pH y mediciones de color para soluciones al 1 y 20 % en peso de soluciones de *Acacia senegal* y *seyal* junto con las mezclas hechas de las mismas.

Muestra	% de contenido de humedad	Rotación óptica	Concentración	Espectrocolorímetro		pH
				L*	Índice de Gardner	
Senegal	14,1	-30	20 %	80,05	2,9	4,31
			1 %	96,41	0,2	4,78
Seyal_ n.º 21	8,1	50	20 %	43,84	14,2	4,59
			1 %	95,5	2,5	4,72
Seyal_ n.º 22	10,2	52,5	20 %	46,22	14,1	4,56
			1 %	95,58	2,7	4,66
Seyal_ n.º 23	8,8	62,5	20 %	40,42	15,6	4,54
			1 %	95,39	3,1	4,68
Mezcla 1 (Senegal y Seyal n.º 21)	11,6	10	20 %	51,42	12,5	4,12
			1 %	99,31	1,1	4,34
Mezcla 2 (Senegal y Seyal n.º 22)	12,0	17,5	20 %	53,55	13	4,19
			1 %	99,71	1,5	4,39

(continuación)

Muestra	% de contenido de humedad	Rotación óptica	Concentración	Espectrocolorímetro		pH
				L*	Índice de Gardner	
Mezcla 3 (Senegal y Seyal n.º 23)	12,6	12,5	20 %	63,23	11,8	4,19
			1 %	100,61	0,8	4,40

5 La tabla 6 posterior da los parámetros de peso molecular de *Acacia senegal* y *seyal* junto con las mezclas hechas de las mismas. El peso molecular de *acacia senegal* para la goma entera es $5,5 \times 10^5$ y la relación de la fracción de proteína arabinogalactano (AGP por sus siglas en inglés) al 10,85 % con peso molecular de $2,1 \times 10^6$ g/mol. Estos valores son típicos de goma arábiga convencional en forma sin purificar como se informa previamente (Al-Assaf y col., 2005).

10 Los parámetros de peso molecular para muestras de *Acacia seyal* para la goma entera son $11,9$, $10,6$ y $11,6 \times 10^5$ g/mol para las muestras 21, 22 y 23 respectivamente como se muestra en la Tabla 6 posterior. El peso molecular para el 1^{er} pico fueron 3,6, 3,0 y 3,2 con una relación de 15,2, 11,9 y 15,0 y valores Rg de 26 - 37 nm. El peso molecular para el segundo fue $\sim 8 \times 10^5$ g/mol. Estos son parámetros de peso molecular de *Acacia seyal* típicos como se informa previamente (Hassan y col., 2005).

15 El peso molecular para mezclas preparadas en porcentaje de peso 50:50 también se determinó usando el procedimiento aplicado para las muestras de control y los resultados mostrados en la Tabla 6. Las mezclas de *Acacia seyal* y *senegal* dan parámetros de peso molecular promedio en términos del peso molecular promedio en peso para la goma entera y para el segundo pico (típicamente asociado a las fracciones de arabinogalactano AG y glicoproteína GP). Hay una reducción en la relación del área de primer pico comparado con tanto muestras de *Senegal* y *Seyal* pero comparables con peso molecular para muestras de *acacia seyal*.

20 Tabla 6. Parámetros de peso molecular para *A. senegal* y *Acacia seyal* y mezclas de las mismas. Peso molecular (entero) significa el peso molecular para las tres fracciones presentes en la muestra respectiva. Rg significa el radio de raíz cuadrada media de rotación.

Muestra	Senegal	Seyal_ n.º 21	Seyal_ n.º 22	Seyal_ n.º 23	Mezcla 1	Mezcla 2	Mezcla 3
P _m de goma entera (x 10 ⁵)	5,55	11,92	10,58	11,65	8,56	8,84	7,12
Rg (goma entera)/nm	20	26	21	24	33,6	27,10	29,10
P _m AGP o 1 ^{er} pico (x 10 ⁵)	2,10	3,68	3,02	3,20	3,83	2,94	2,93
% de masa (AGP)/o 1 ^{er} pico	10,85	15,20	11,94	15,04	8,83	9,64	8,80
Rg-AGP o 1 ^{er} pico	31	37	26	32	44	32	45
P _m (AG+GP) (x 10 ⁵)	3,66	7,47	7,93	8,02	5,65	6,62	4,95
% de masa (AG+GP)	89,15	84,80	88,06	84,8	91,17	90,36	91,20

25 El comportamiento y la estabilidad de emulsificación se evalúan usando los procedimientos indicados anteriormente y los resultados se muestran en la Figura 13. La Figura 13 muestra el promedio ponderado en volumen (D_{4,3}) y el % de gotita mayor que 1 micrómetro para emulsión reciente y aquellos medidos después de aceleración de tensión durante 3 y 7 días a 60 °C para *senegal*, *seyal* y mezclas preparadas al 20 % de goma arábiga : 20T MCT de aceite. En primer lugar, el comportamiento de emulsión de muestras de *Acacia Senegal* elegido en este ejemplo da D_{4,3} y % de gotitas mayores que 1 micrómetro que muestran muy pocos cambios después de aceleración lo cual indica comportamiento excelente típico de buen emulsionante. La proporción real de la gotita inicial mayor que 1 micrómetro así como también D_{4,3} depende de la homogenización de presión usada durante el procedimiento de homogenización. El procedimiento usado se mantuvo consistente a 50 Mpa y se hicieron dos pasajes para todas las emulsiones como parte de la investigación. El propósito es, por lo tanto, demostrar cómo estas emulsiones, fabricadas usando diferentes muestras, pueden compararse en las mismas condiciones de procesamiento. Las muestras de *seyal* elegidas en este ejemplo muestran buen promedio y deficientes comportamientos de emulsificación, con valores D_{4,3} iniciales de 0,674, 0,846 y 0,452 μm. Estos valores se comparan con *Acacia senegal* con valor inicial D_{4,3} de 0,515 μm preparados en la misma concentración y condiciones de procesamiento. El buen rendimiento se asocia a baja relación de gotitas superiores a 1 micrómetro y muy pocos cambios después de aceleración a 60 °C durante 3 días. Esto puede verse claramente para la muestra seyal 23. Se asocia comportamiento deficiente con alto % de gotita inicial mayor a 1 micrómetro y cambios

significativos después de aceleración como puede observarse claramente en seyal 22. Seyal n.º 21 muestra un comportamiento promedio comparado entre muestra n.º 22 de seyal y n.º 23. Ante la mezcla de estas muestras con *Acacia Senegal* en 50:50 los resultados de emulsificación también se muestran en la Figura 13. Los resultados muestran que un rendimiento promedio o comparable de *senegal* y *seyal* pueden obtenerse como se observa en la Mezcla 1 y 2 respectivamente. Adicionalmente, es también posible mejorar significativamente la emulsificación de *Acacia seyal* deficiente (n.º 22) como se observa a partir de la Mezcla 2 resultante. La Mezcla 2 dio un tamaño de gotita muy bajo inicialmente y después de aceleración durante 7 días a 60 °C el % de gotita mayor de 1 micrómetro permaneció por debajo del 5 % lo cual es comparable con *Acacia senegal* buena. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se explican estas mejoras en la emulsificación como estando debidas a la formación de una interfaz como un resultado para obtener distribución óptima con moléculas de seyal que son capaces de alcanzar la interfaz rápidamente y de esta forma menor la tensión superficial y mayores moléculas como aquellas presentes la fracción AGP en *Acacia Senegal*. El último es principalmente responsable de la estabilidad de emulsión a través de adsorción en aceite.

Ejemplo 6: Emulsión de nebulosidad

En este ejemplo, se da una receta típica para emulsión nebulosa hecha a gran escala y además de los ejemplos previos dados con aceite MCT mostrados en la Figura 13.

Se usa *Acacia seyal* (n.º 23) junto con *Acacia senegal* variedad *senegal* (muestra n.º 5, Pm 6,57 x 10⁵), 11,1 % contenido de AGP). El procedimiento de disolución para preparar 1000 kg de 20 % en peso de *Acacia seyal* o 15 % en peso de *Acacia seyal* con 5 % en peso de *Acacia senegal* se llevó a cabo como sigue: El peso apropiado (véase la Tabla 7 posterior) de goma arábiga se añadió a agua desionizada a 10-15 °C y se agitó usando IKA-RW20 digital con 900 rpm, durante 8 horas. Posteriormente se añadió ácido cítrico (al 46,5 %) a la solución mientras se agitaba durante 5 minutos. La solución se pasteurizó después a 80 °C/10 min. La viscosidad, media por viscosímetro de Brookfield es 43,4 mPa.s para *Acacia seyal* sola y 40,1 mPa.s para *Acacia seyal* al 15 % en peso mezclado con 5 % en peso de *Acacia senegal*.

La Tabla 8 da los detalles para preparar la emulsión descrita como sigue. Para preparar el éster de fase oleaginosa se disolvió goma en aceite de naranja usando el mezclador digital IKA-RW20 que funciona a 400 rpm, durante 3 horas. La fase acuosa se preparó mezclando una solución de goma con ácido cítrico, sorbato potásico y agua desionizada fría usando el mezclador digital IKA-RW20 que funciona a 400 rpm, durante 10 minutos. Se preparó la pre-emulsión añadiendo la fase oleaginosa a la fase acuosa usando el mezclador Ultra Turrax T50 de alto esfuerzo cortante básico, durante 5 minutos funcionando a 10 000 rpm. Se homogeneizó la pre-emulsión 3 veces con 25000/5000 kPa con homogeneizador de alta presión (Gaulin APV Typ LAB 60/60-TBS).

Tabla 7. Receta de ejemplos para la preparación de solución de goma

20 % de solución de goma arábiga	1000	KG
Agua fría desionizada 10-15 °C	786	KG
Líquido E330 ácido cítrico al 46,5 %	14	KG
<i>Acacia seyal</i> (muestra n.º 23)	150	KG
<i>Acacia senegal</i> triturada (muestra n.º 5)	50	KG

Tabla 8. Receta de emulsión de aceite en agua fabricada usando goma arábiga al 12 % en peso : fase oleaginosa al 15 % en peso.

Emulsión nebulosa	1.000,00	KG
Agua fría desionizada 10-15 °C	233	KG
Solución de sorbato potásico al 10 %	10	KG
Líquido E330 Ácido cítrico al 46,5 %	7	KG
Solución de goma arábiga al 20 % en peso	600	KG
Terpenos de naranja	71,75	KG
Ésteres de glicerol estabilizantes de resinas de madera (E445)	78,25	KG

Los resultados de distribución del tamaño de gotita para emulsiones recientes y almacenadas (14 días a temperatura ambiente) fabricadas usando *Acacia seyal* sola y mezcla (15 % en peso de *Acacia seyal* y 5 % en peso de *Acacia senegal*) se muestran en la Figura 14 y 15 respectivamente.

Los resultados mostrados en la Figura 14 y 15 muestran excelente comportamiento de emulsificación inicial, por lo que todas las gotitas están bien por debajo de 1 micrómetro, para emulsión hecha usando *Acacia seyal* sola y una mezcla de *Acacia seyal* y *Acacia senegal* al 12 % en peso de goma arábiga y 15 % de fase oleaginosa. Ambas emulsiones muestran excelente estabilidad después de almacenamiento a temperatura ambiente durante 14 días y se forman muy pocos cambios en la relación de gotitas más grandes y mantienen la calidad de estar todas abajo de 1 micrómetro. Los resultados dados en las Figuras 14 y 15 además confirman la aplicación del procedimiento usando diferente fase de aceite y también producidos a escala mucho mayor comparada con aquellos dados en ejemplos previos con aceite de MCT mostrado en la Figura 13.

Ejemplo 7:

Se midió el índice de color Gardner de las muestras y se muestra en la Figura 16.

Todas las referencias citadas en el presente documento se incorporan por referencia al grado total para el cual la incorporación no es inconsistente con las enseñanzas expresadas en el presente documento.

Referencias

1. Maslin, B. R., Miller, J. T. y Seigler, D. S. (2003) Overview of the generic status of Acacia (Leguminosae: Mimosoideae), Australian Systematic Botany, 16, 1-18
2. Coppen, J. J. W. (1995) in Non-wood forest products No. 6, FAO, Rome
3. JECFA-FAO Food and Nutrition paper, FNP 52 Add6, 1998
4. Anderson, D. M. W. y Bridgeman, M. M. E. (1985) Studies of uronic-acid materials .76. the composition of the proteinaceous polysaccharides exuded by astragalus-microcephalus, astragalus-gummifer and astragalus-kurdicus – the sources of turkish gum tragacanth, Phytochemistry, 24, 2301-2304
5. Marina Andres-Brull, Ishragha G. Abdalla, Jesus Cirre, James Edwards, Mohammed E. Osman, Gly O Phillips, Saphwan Al-Assaf. Studies onn Acacia gums: Part VII: Effect of exudes form and tree age on the characteristics of Acacia seyal va. seyal and Acacia seyal var. fistula. Food Hydrocolloids 45 (2015) 279-285
6. Anderson, D. M. W. y Stoddart, J. F. (1996) Studies on uronic acid materials. Part XV. The use of molecular sieve chromatography in studies on Acacia senegal gum (gumm arabic). Carbohydr. Res., 2, 104-114
7. Anderson, D. M. W., Hirst, S. E. y Rahman, s. (1967) Studies on uronic acid materials. Part XVIII. Light-scattering studies on some molecular weight fractions from Acacia senegal gum, Carbohydr. Res., 3, 308-317
8. (Jurasek, P., Varga, S. y Phillips, G. O. (1995) Classification of natural gums: VII. Relationships between the series Vulgares (Acacia senegal) y Gummiferae (Acacia seyal), Food Hydrocolloids, 9, 17-34
9. (Jurasek, P., Kosik, M. y Phillips, G. O. (1993) A Chemmetric study of the genus Acacia (gum arabic) and related natural gums, Food Hydrocolloids, 7, 73)
10. (Biswas, B. y Phillips, G. O. (2003) Computation of specific optical rotation from carbohydrate composition of exudate gums Acacia Senegal and Acacia Seyal, Food Hydrocolloids, 17, 177-189
11. Flindt, C., Al-Assaf, S., Phillips, G. O. y Williams, P. A. (2005) Studies on acacia exudate gums. Part V. Structural features of Acacia seyal, Food Hydrocolloids, 19, 681-701
12. Hassan, E. A., Al-Assaf, S., Phillips, G. O. y Williams, P. A. (2005) Studies on Acacia gums: Part III molecular weight characteristics of Acacia seyal var. seyal and Acacia seyal var sistula, Food Hydrocolloids, 19, 669-677
13. Street, C. A. y Anderson, D. M. w. (1983) Refinement of structures previously proposed for gum arabic and other gum exudates, Talanta, 30, 887-893
14. Churms, S. C., Merrifield, E. H. y Stephen, A. M. (1983) Some new aspects of the molecular-structure of acacia-senegal gum (gum arabic), Carbohydr. Re., 123, 267-279
15. Nie, S.-P., Wang, C., Cui, S. W., Wang, Q., Xie, M.-Y., & Phillips, G. O. (2013). The core carbohydrate structure of Acacia seyal var. seyal (Gum arabic). Food Hydrocolloids 32, 221-227
16. Randall, R. C., Phillips, G. O. y Williams, P. A. (1988) The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum arabic, Food Hydrocolloids, 2, 131-140
17. Randall, R. C., Phillips, G. O. y Williams, P. A. (1989) Fractionation and chracterization of gum from Acacia-senegal., Food Hydrocolloids, 3, 65-75
18. Williams, P. A. y Phillips, G. O. (2000) in Handbook of Hydrocolloids (P. A. Williams, Ed.) pp 155-168, CRC Press, Cambridge, England
19. Siddig, N. E., Osman, M. E., Al-Assaf, S., Phillips, G. O. y Williams, P. A. (2005) Studies on acacia exudate gums, partIV. Distribution of molecular component in Acacia seyal in relation to Acacia senegal, Food Hydrocolloids, 19, 679-686
20. Flindt, C., Al-Assaf, S., Phillips, G. O. y Williams, P. A. (2005) Studies on acacia exudate gums.. Part V. Structural features of Acacia seyal, Food Hydrocolloids, 19, 681-701
21. Fauconnier, M.-L., Blecker, C., Groyne, J., Razafindralambo, H., Vanzeveren, E., Marlier, M. y Paquot, M. (2000) Characterization of two Acacia gums and thier fractions using a langmuir film balance., J. Agric. Food Chem., 48, 2709-2712
22. Elmanan, M., Alssaf, S., Phillips, G. O., & Williams, P. A. (2008). Studies on Acacia exudate gums: Part VI. Interfacial rheologyof Acacia senegal and Acacia seyal. Food Hydrocolloids, 22(4), 682-689
23. Buffo, R. A., Reineccius, G. A. y Oehlert, G. W. (2001) Factors Affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsion, Food Hydrocolloids, 15, 53-66
24. Al-Assaf, S., Cirre, J., Andres-Brull, M., Phillips., G. O Correlation of Acacia gum characteristics with functional

- properties. *Foods & Food Ingredients Journal of Japan* Vol 3, 337-381 (2008).
25. Al-Assaf, S., y col., *Food Hydrocolloids*, 19: 647-660 (2005); Al-Assaf, S., y col., *Food Hydrocolloids*, 21:319-328 (2007) (www.cybercolloids.net/library/jecfa/gum-arabic)
- 5 26. Marina Andres-Brull, Ishragha G. Abdalla, Jesus Cirre, James Edwards, Mohammed E. Osman, Glyn O Phillips, Saphwan Al-Assaf. Studies on Acacia gums: Part VII: Effect of exudates form and tree age on the characteristics of Acacia seyal var. seyal and Acacia seyal var. fistula. *Food Hydrocolloids* 45 (2015) 279-285
27. Elmanan, M., Al-Assaf, S., Phillips, G. O., & Williams, P. A. (2008). Studies on Acacia exudate gums; Part VI. Interfacial rheology of Acacia senegal and Acacia seyal. *Food Hydrocolloids*. 22(4), 682-689
- 10 28. Hassan, E. A., Al-Assaf, S., Phillips, G. O. y Williams, P. A. (2005) Studies on Acacia gums: Part III molecular weight characteristics of Acacia seyal var. seyal and Acacia seyal var sistula, *Food Hydrocolloids*, 19, 669-677
29. Elmanan, M., Al-Assaf, S., Phillips, G. O., & Williams, P. A. (2008). Studies on Acacia exudate gums: Part VI. Interfacial rheology of Acacia senegal and Acacia seyal. *Food Hydrocolloids*, 22(4), 682-689
30. Dickinson, E. (2003) *Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed system*, *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39
- 15 31. E. A. Hassan, S. Al-Assaf, G. O. Phillips y P. A. Williams. Studies on Acacia Gums: Part III Molecular Weight Characteristics of Acacia seyal var. seyal and Acacia seyal var fistula. *Food Hydrocolloids* 19, 669-677 (2005)
32. S. Al-Assaf, G. O. Phillips y P. A. Willimas. Studies on Acacia Exudate Gums. Part I: The Molecular Weight of Acacia senegal Gum Exudate. *Food Hydrocolloids* 19, 647-660 (2005)
- 20 33. S. Al-Assaf, G. O. Phillips y P. A. Williams. Studies on Acacia exudates gums: Part II Molecular Weight Comparison of the Vulgares and Gummiferae series of Acacia gums. *Food Hydrocolloids* 19, 661-677 (2005)

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para preparar una goma arábica mejorada que comprende las etapas de
- proporcionar una goma arábica de *Acacia seyal*
 - seleccionar goma arábica que tiene un contenido de tanino > 700 ppm (p/p),
- 5 en el que la goma arábica mejorada tiene rendimiento de emulsificación mejorado.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la goma arábica de *Acacia seyal* se selecciona de goma arábica de *Acacia seyal* var., *Acacia seyal* var. *fistula* y mezclas de las mismas.
3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el contenido de tanino es > 750 ppm (p/p), >1000 o > 2000 ppm (p/p).
- 10 4. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la goma tiene
- i) un índice de color Garnder de al menos 2,5, más preferentemente 2,5-3,0 e incluso más preferentemente > 3 al 1 % en peso en agua o
 - ii) un índice de color Garnder de al menos 15, más preferentemente 15-16 e incluso más preferentemente > 16 al 20 % en peso en agua.
- 15 5. Un procedimiento para mejorar goma arábica que comprende las etapas de
- proporcionar goma arábica
 - preparar una dispersión de goma arábica
 - añadir una fuente de fenol seleccionada de corteza, polifenoles y ácido gálico,
- en el que la goma arábica mejorada tiene comportamiento mejorado de emulsificación.
- 20 6. El procedimiento de la reivindicación 5 en el que la goma arábica es goma arábica de *Acacia seyal*, goma arábica de *Acacia senegal* o una mezcla de las mismas.
7. El procedimiento de la reivindicación 5 o 6 en el que la relación (p/p) de goma arábica: fuente de fenol es 100:1 a 100:5.
8. Una composición que comprende
- 25
- goma arábica
 - una fuente de fenol añadida seleccionada de corteza, polifenoles y ácido gálico.
9. La composición de la reivindicación 8 en la que la goma arábica es goma arábica de *Acacia seyal*, goma arábica de *Acacia senegal* o una mezcla de las mismas.
- 30 10. La composición de la reivindicación 8 o 9 en la que la goma arábica de *Acacia seyal* se selecciona de goma arábica de *Acacia seyal* var., *Acacia seyal* var. *fistula* y mezclas de las mismas.
11. Un procedimiento para mejorar la goma arábica de *Acacia senegal* que comprende la etapa de:
- combinar goma arábica de *Acacia seyal* con goma arábica de *Acacia senegal*,
- en el que la goma arábica mejorada tiene rendimiento mejorado de emulsificación.
12. Una composición que comprende:
- 35
- goma arábica de *Acacia seyal*
 - goma arábica de *Acacia senegal*.
13. El procedimiento de la reivindicación 11 o la composición de la reivindicación 12 en la que la goma arábica de *Acacia seyal* tiene un contenido de tanino > 700 ppm (p/p).
14. Emulsión que comprende agua, aceite y una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 o 12.
- 40 15. Bebida o alimento que comprende la emulsión de la reivindicación 14.

Figura 1a

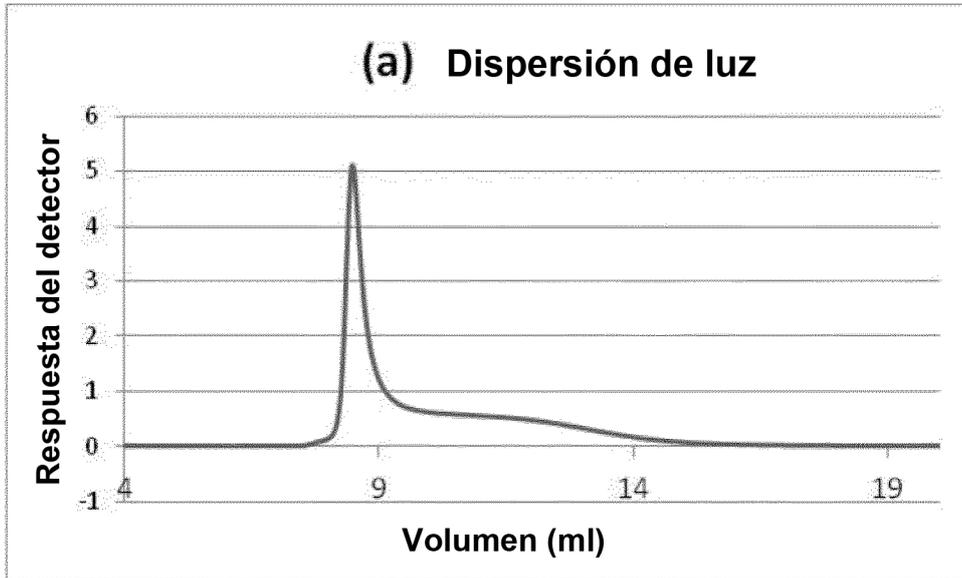


Figura 1b

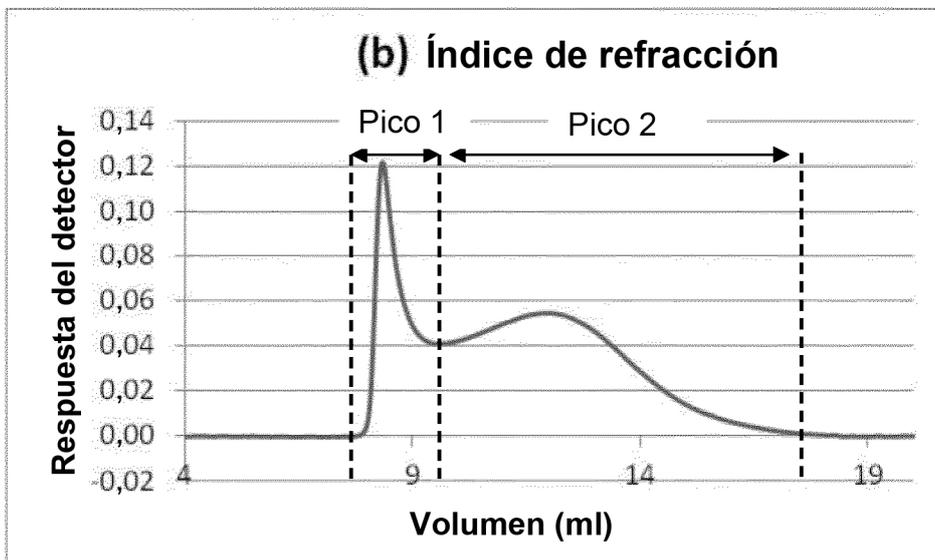


Figura 1c

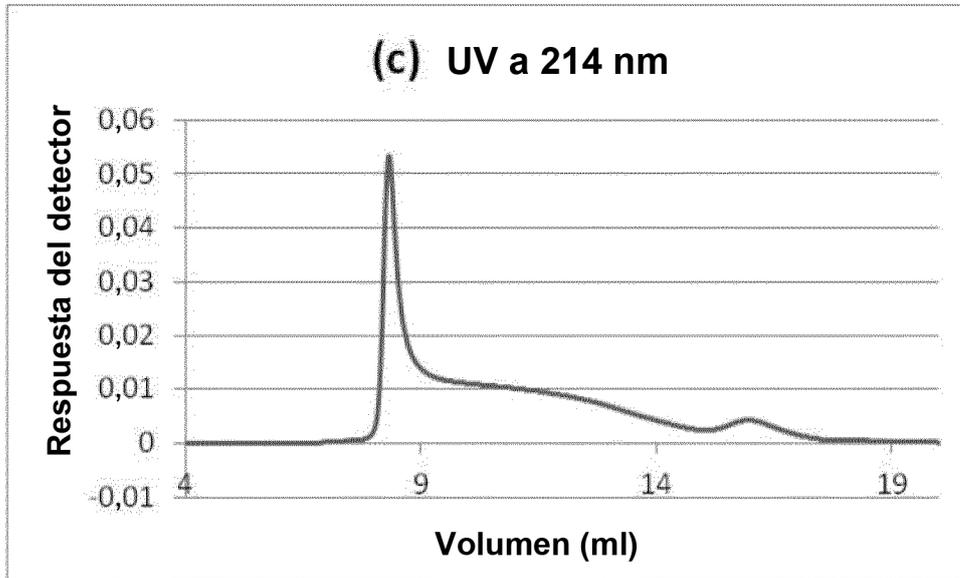


Figura 2

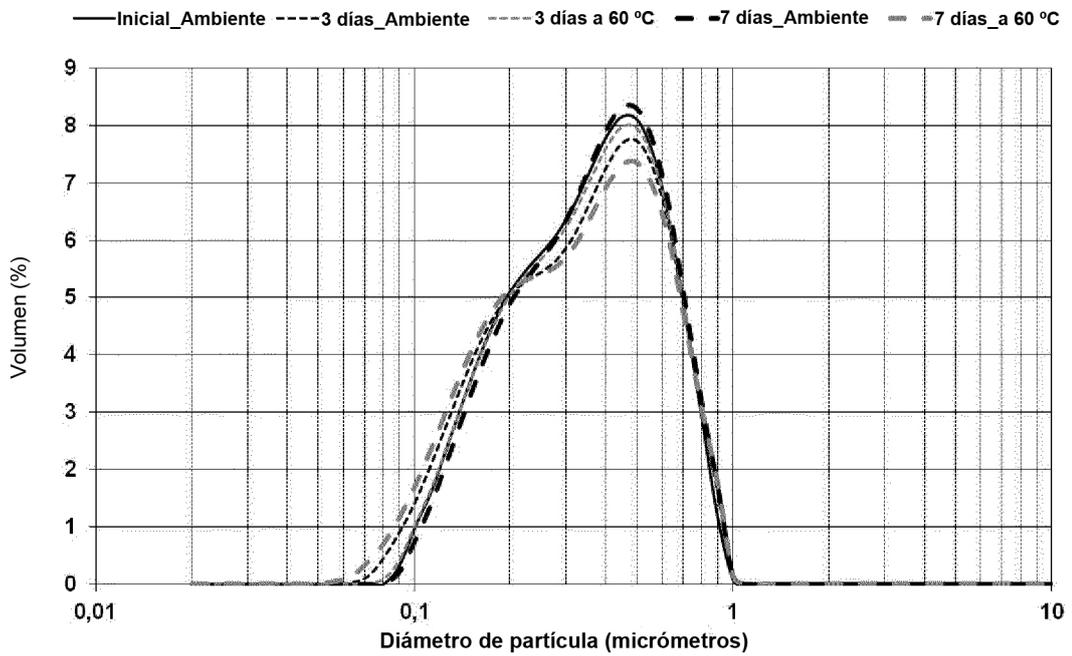


Figura 3

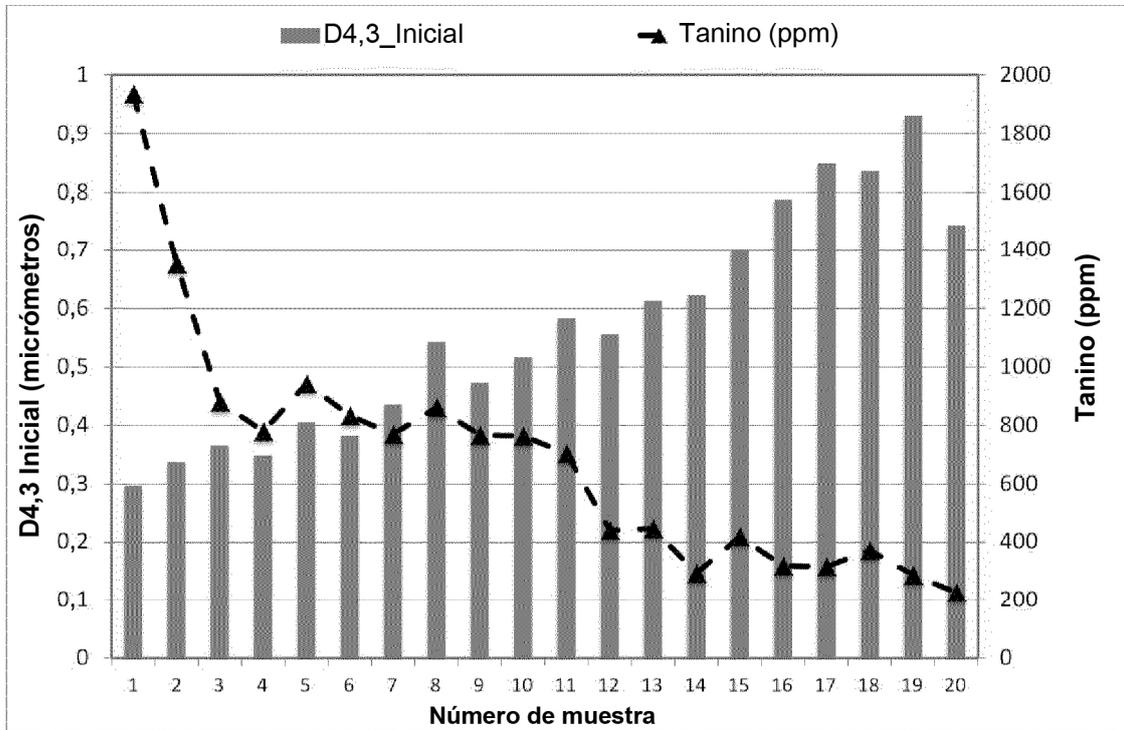


Figura 4

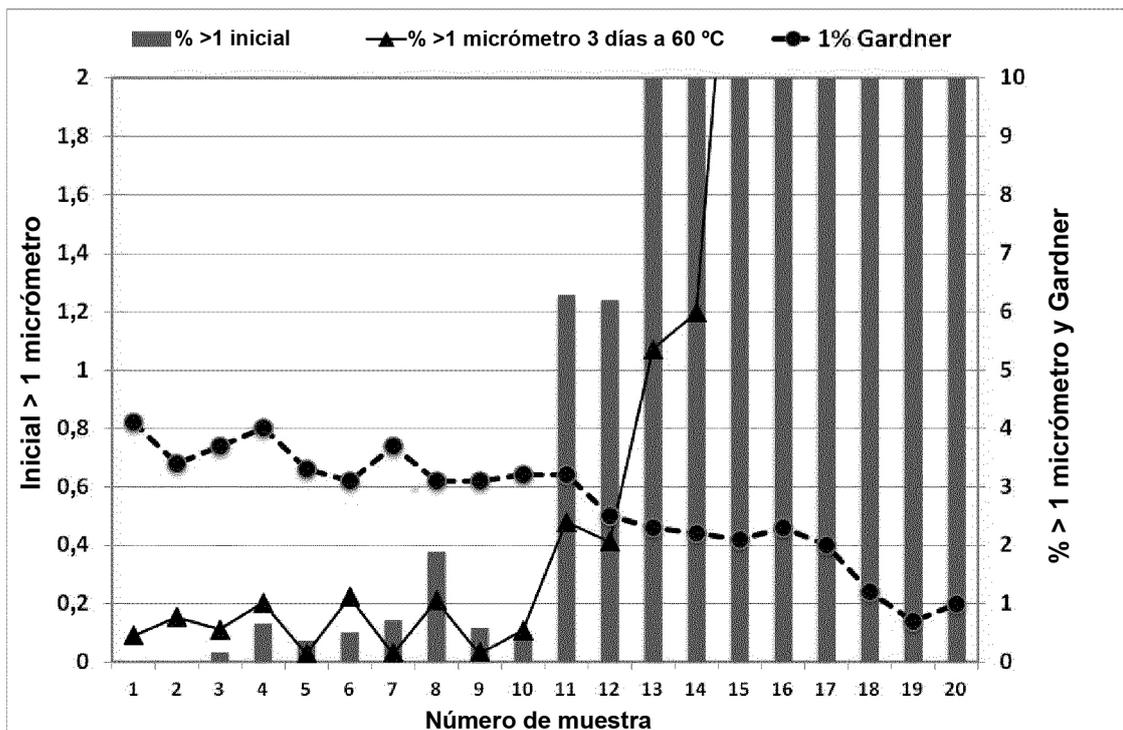


Figura 5

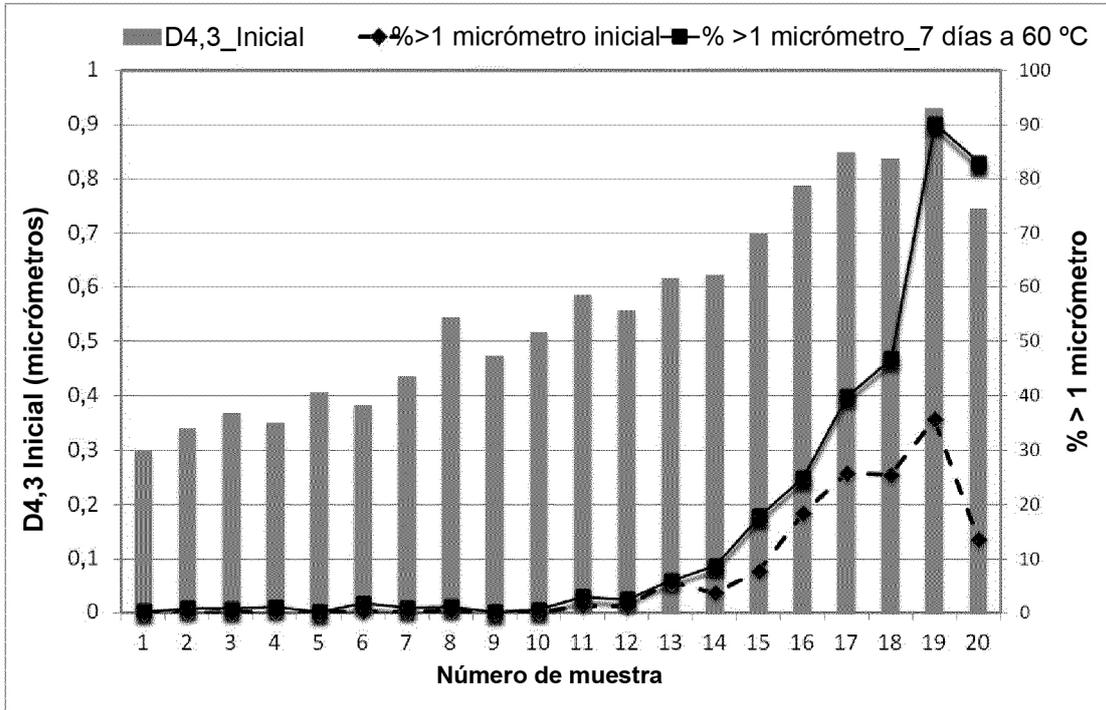


Figura 6

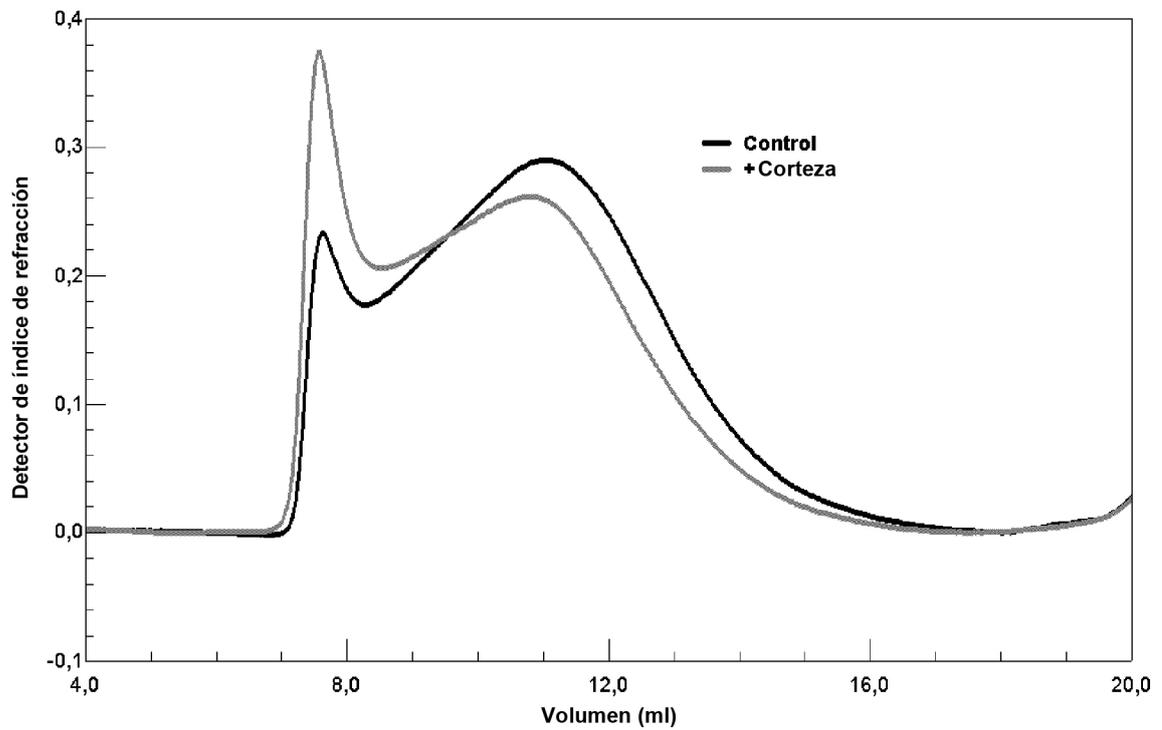


Figura 7

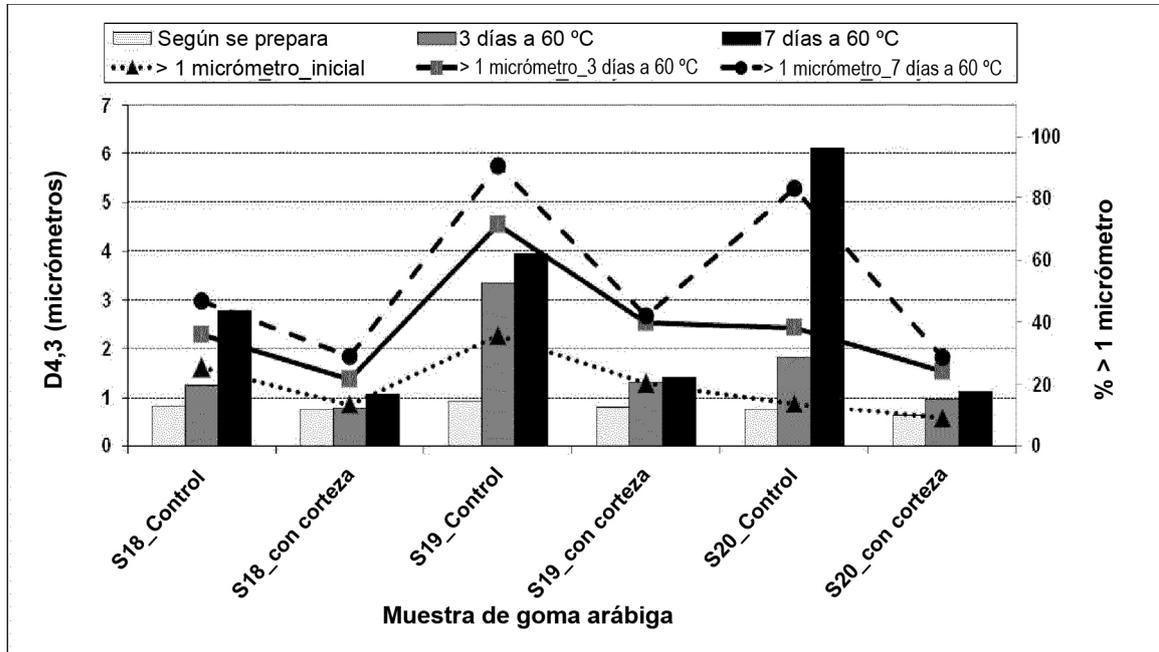


Figura 8a

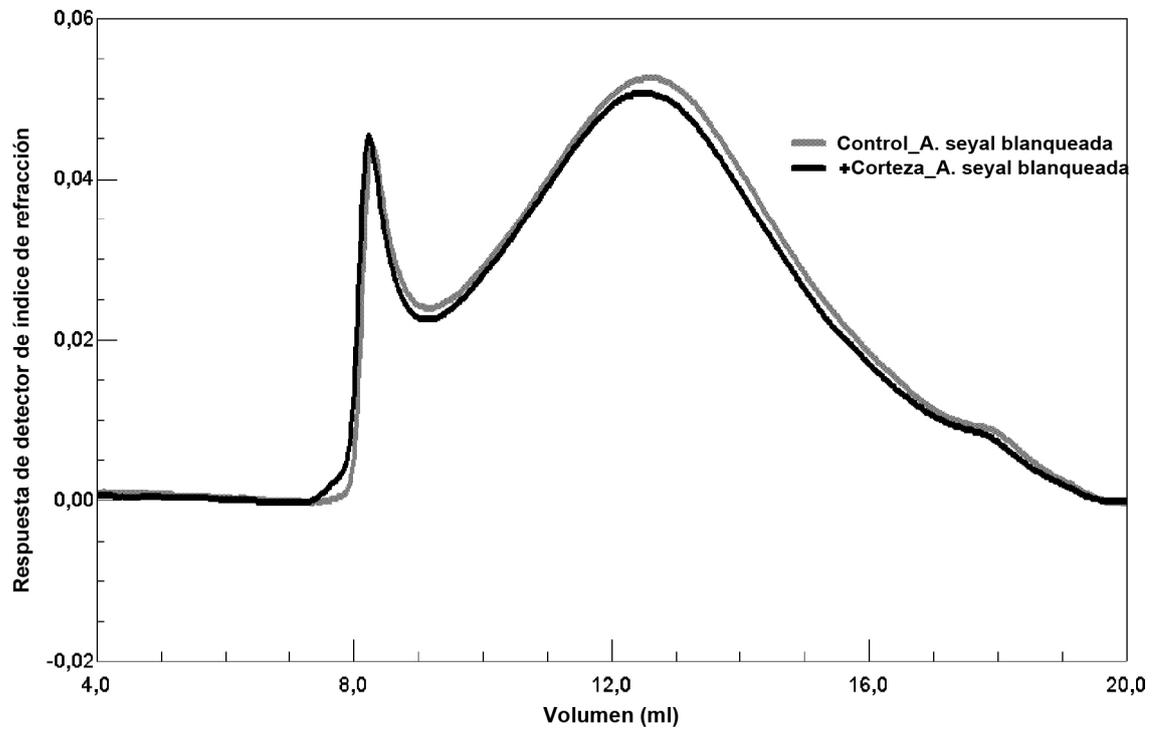


Figura 8b

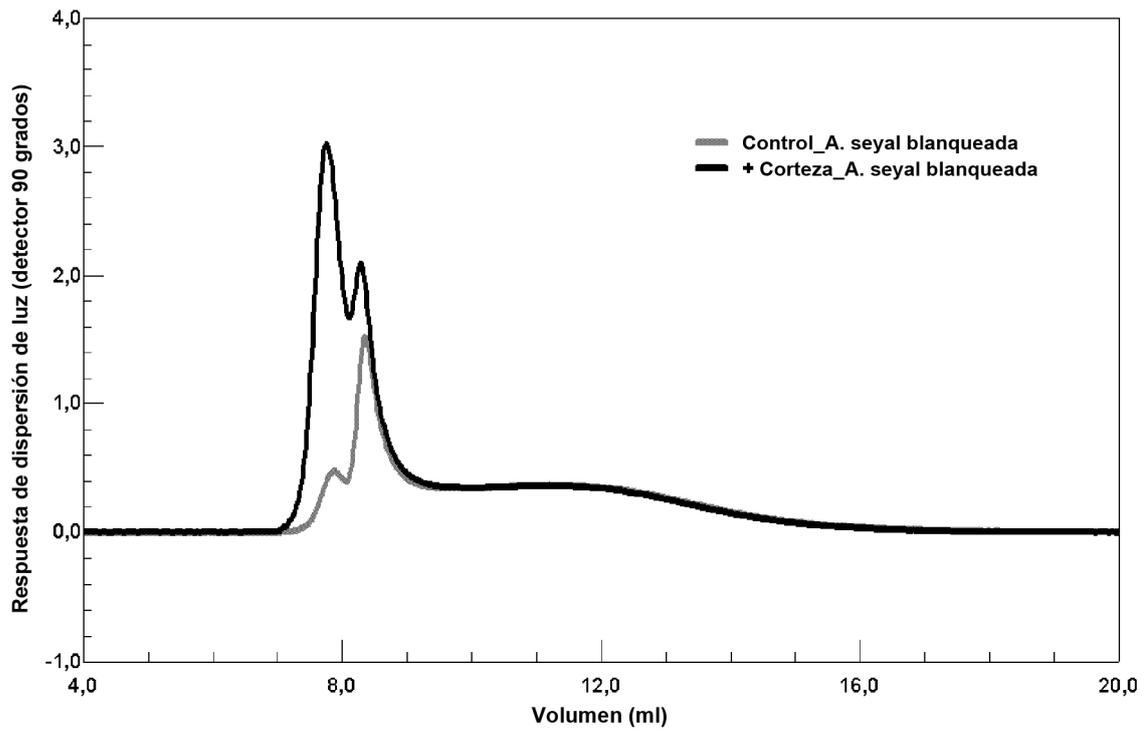


Figura 8c

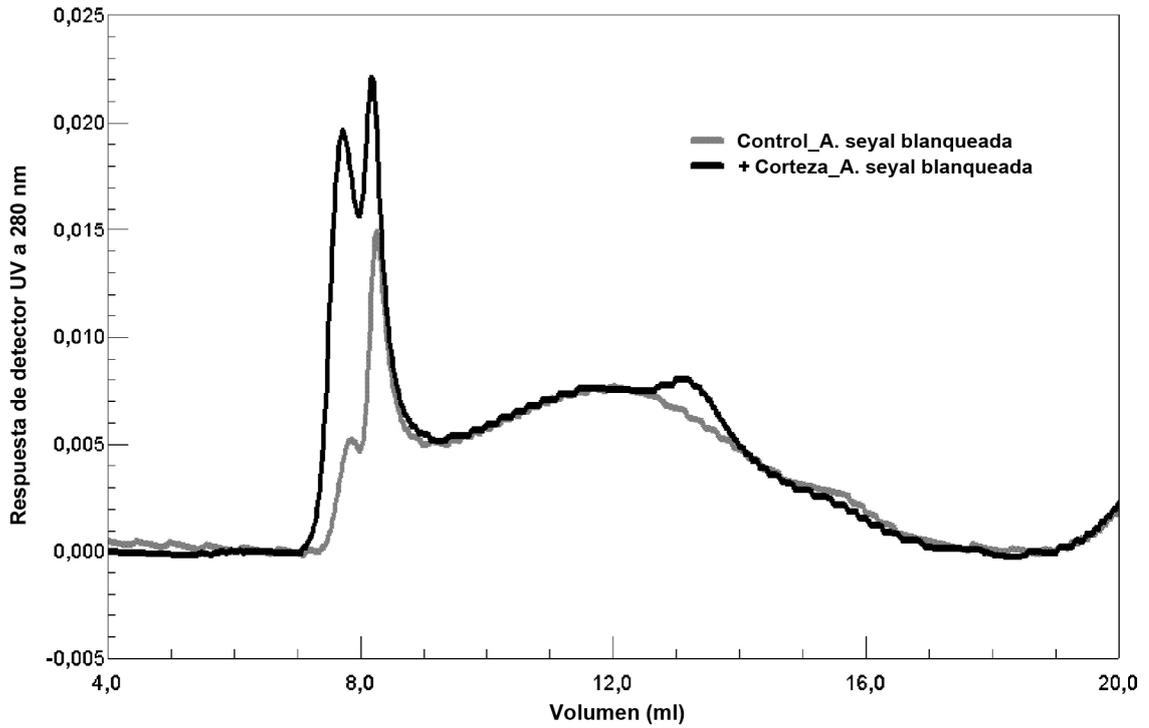


Figura 9

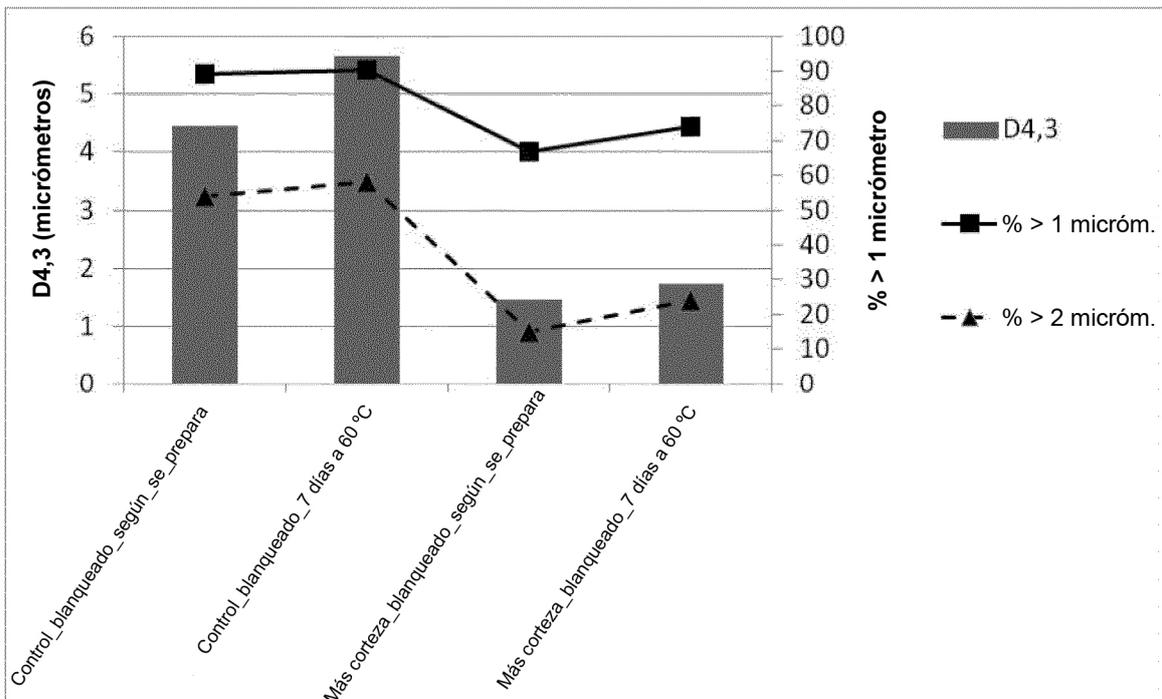


Figura 10a

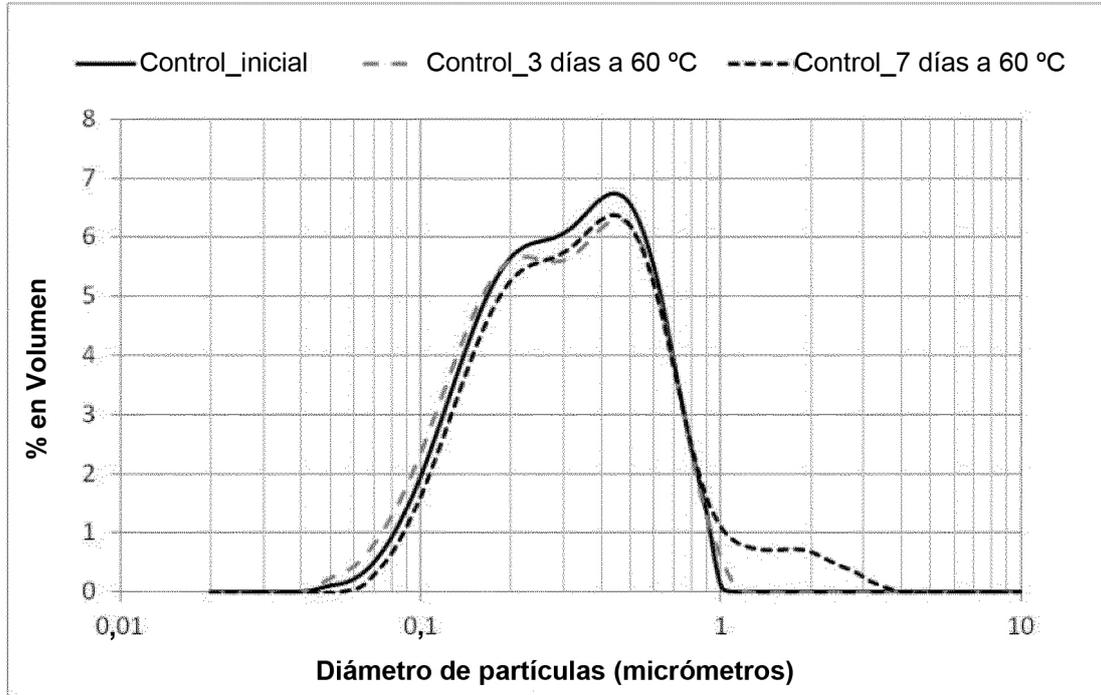


Figura 10b

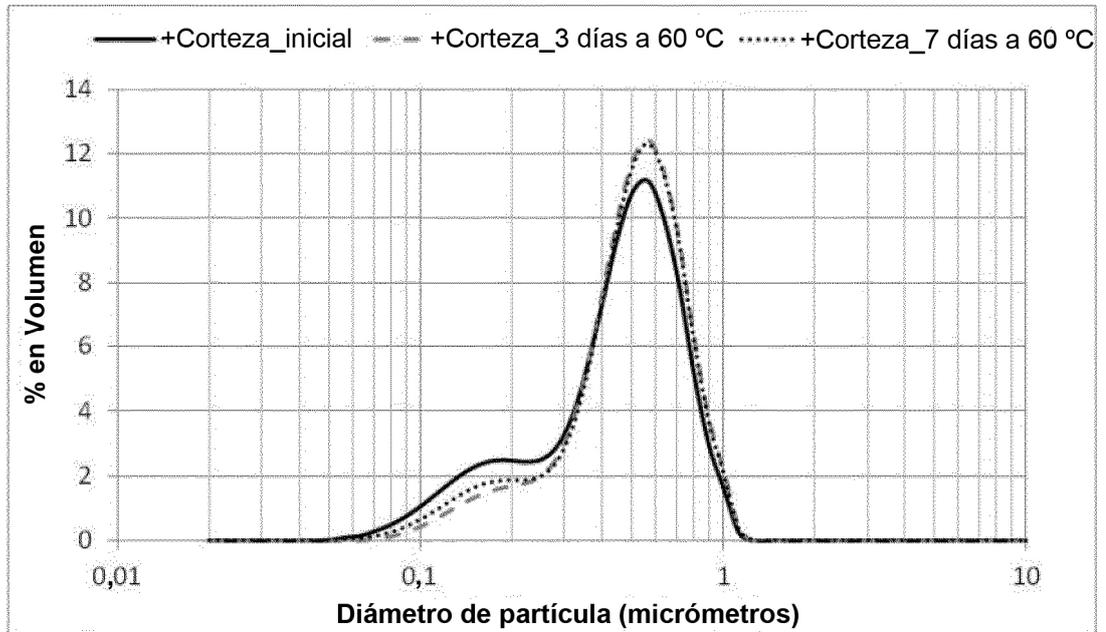


Figura 10c

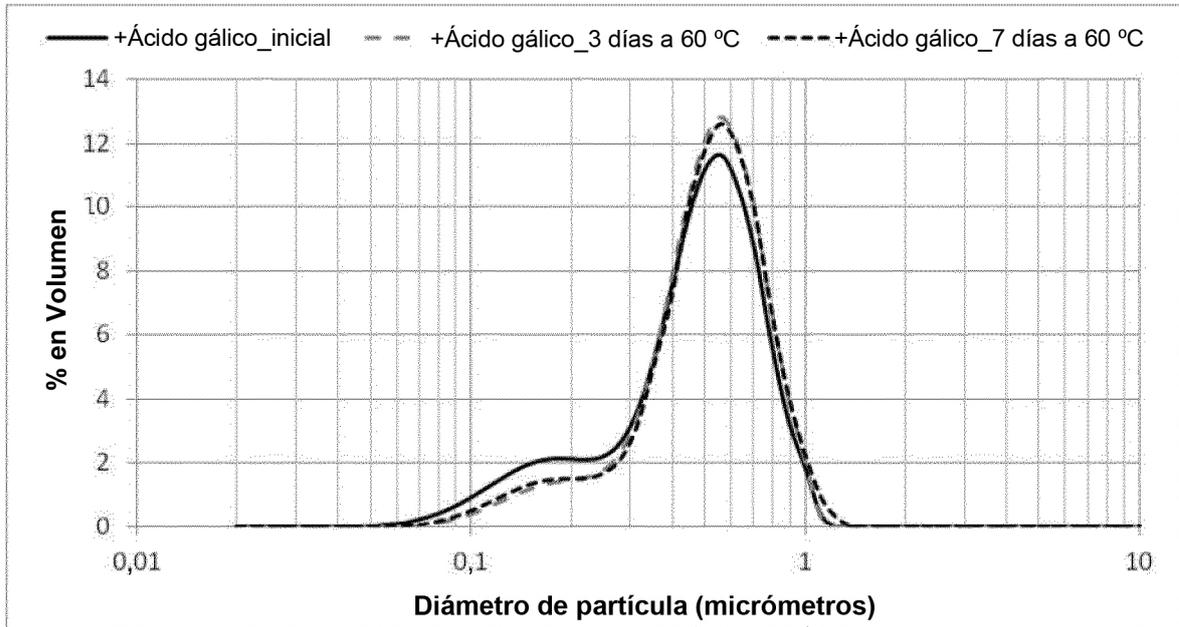


Figura 11

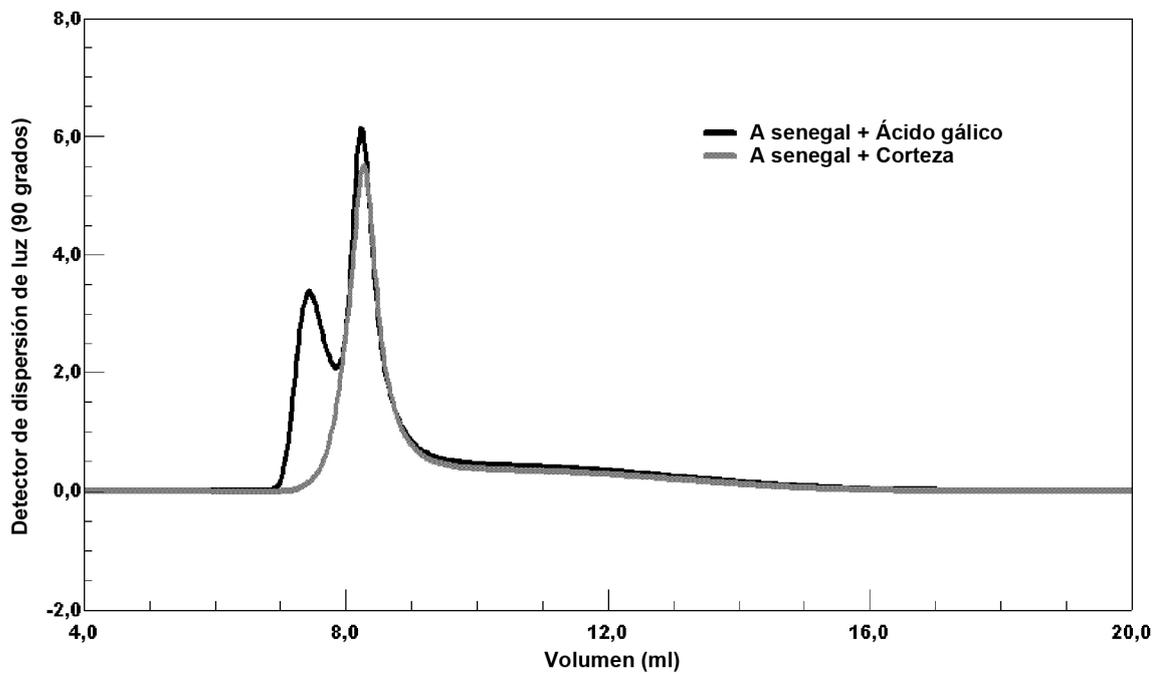


Figura 12a

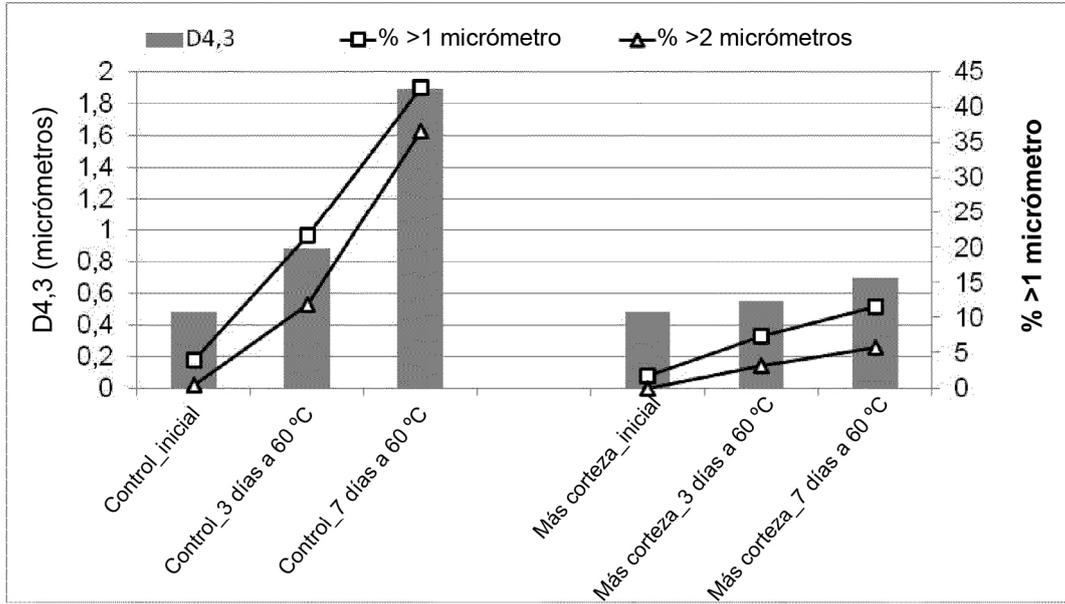


Figura 12b

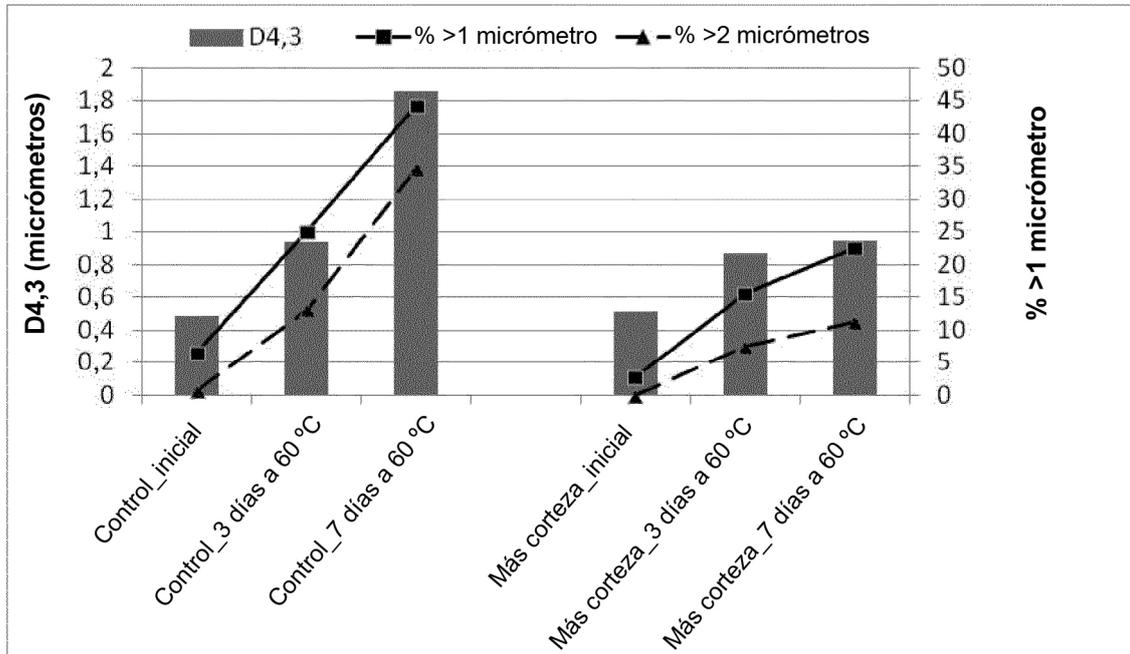


Figura 13

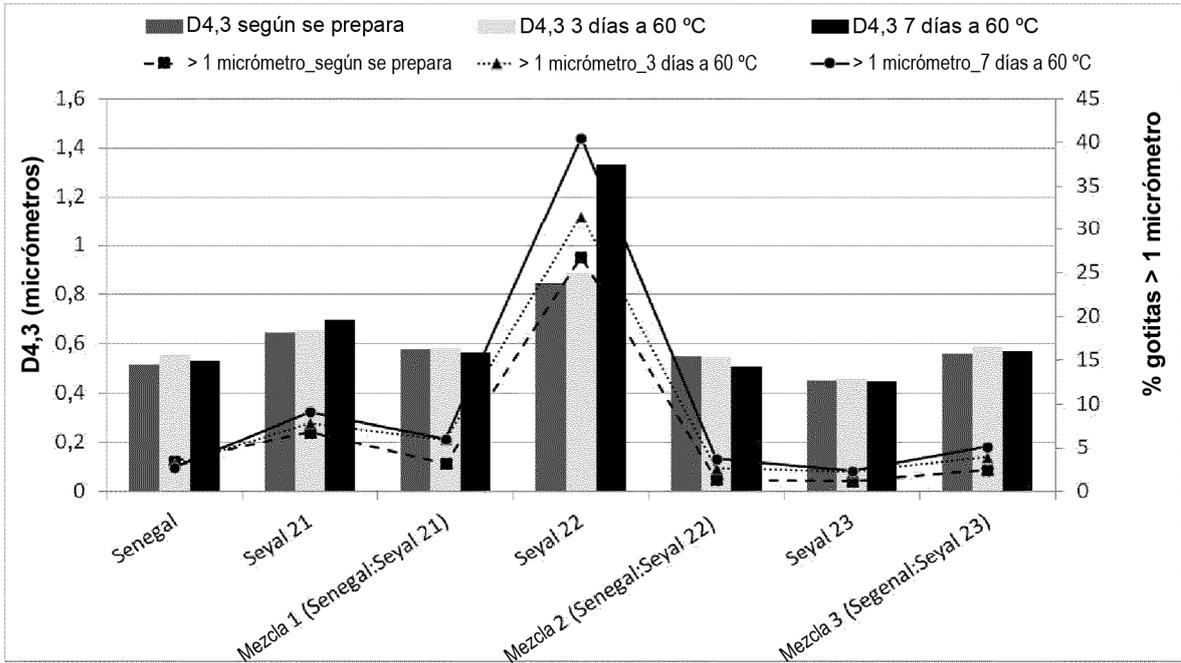


Figura 14

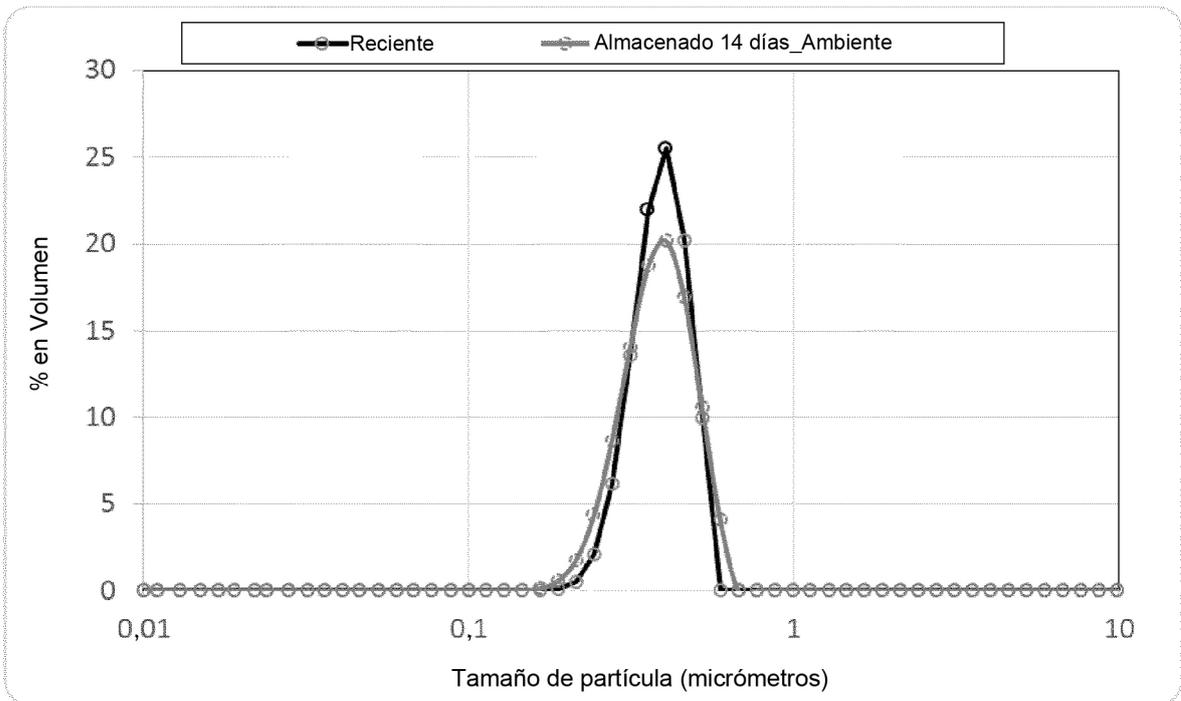


Figura 15

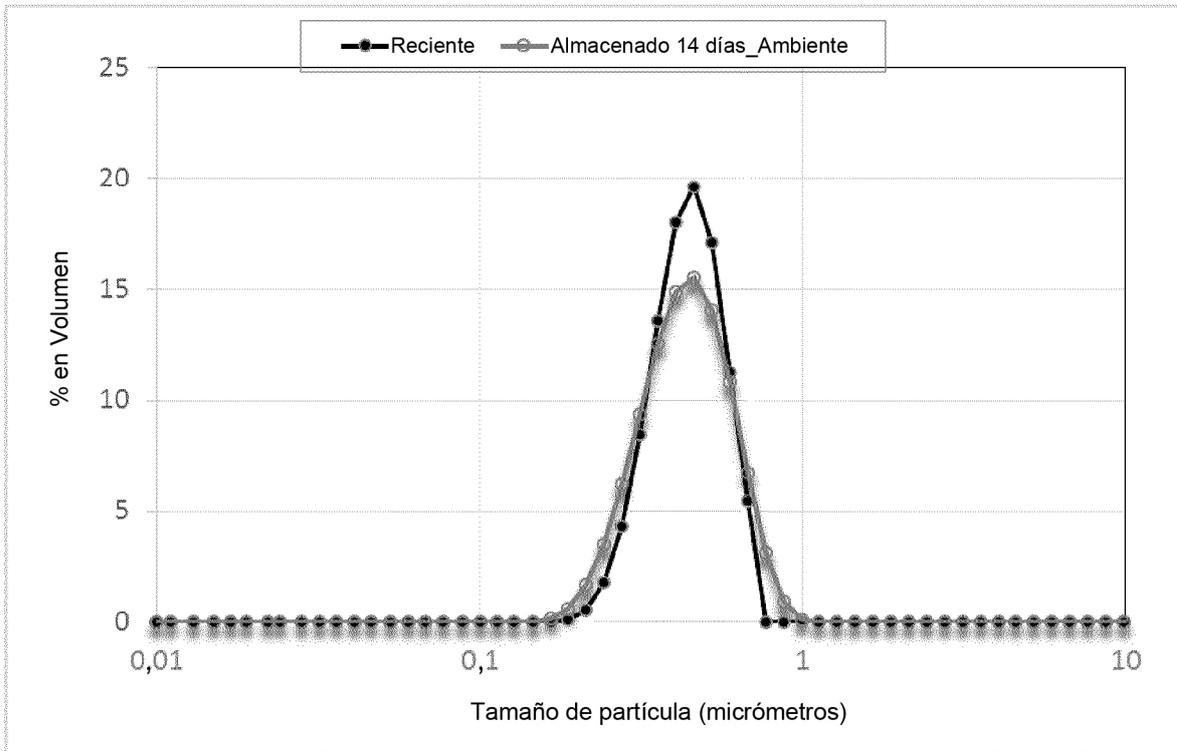


Figura 16A

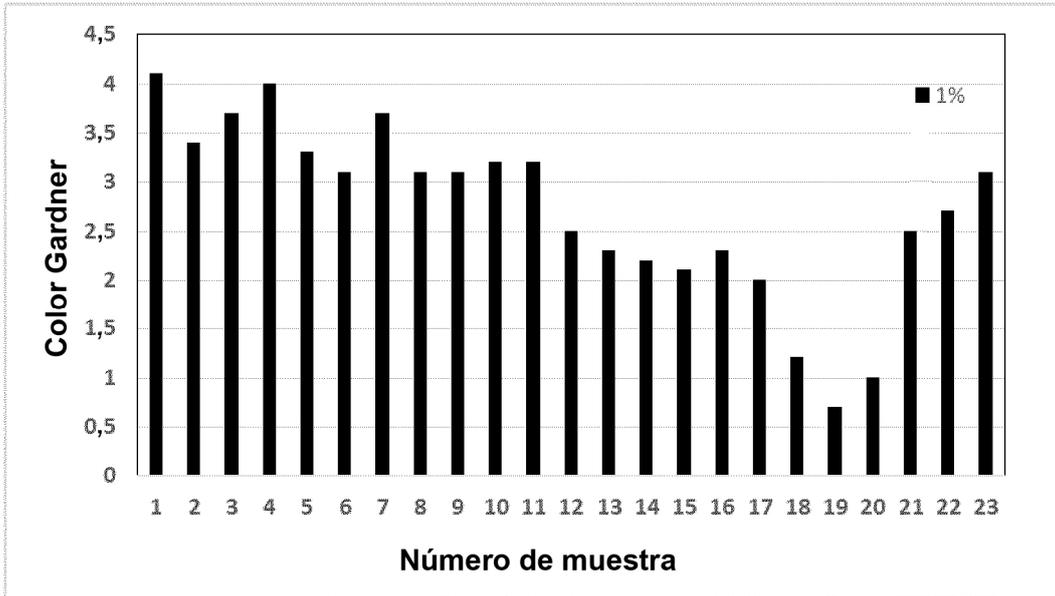


Figura 16B

