

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 932 558**

21 Número de solicitud: 202130656

51 Int. Cl.:

**B01D 11/02** (2006.01)

**A23L 33/105** (2006.01)

**A61P 39/06** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**13.07.2021**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**20.01.2023**

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA (100.0%)**

**Avda. Medina Azahara, 5**

**14005 Córdoba (Córdoba) ES**

72 Inventor/es:

**DUEÑAS MAS, María Jesús;**

**BALLESTEROS GÓMEZ, Ana María y**

**RUBIO BRAVO, Soledad**

74 Agente/Representante:

**TEMIÑO CENICEROS, Ignacio**

54 Título: **PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LICOPENO A PARTIR DE SUBPRODUCTOS DEL TOMATE BASADO EN EL USO DE BIODISOLVENTES SUPRAMOLECULARES**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención y enriquecimiento de licopeno a partir de residuos procedentes del procesamiento de tomates, basado en el uso de biodisolventes supramoleculares o bioSUPRAS, y al uso del licopeno así obtenido como aditivo alimentario.

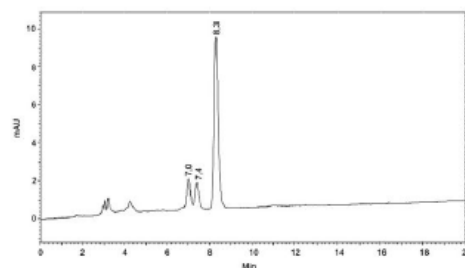


FIG.1

**DESCRIPCIÓN**PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LICOPENO A PARTIR DE SUBPRODUCTOS DEL TOMATE BASADO EN EL USO DE BIODISOLVENTES SUPRAMOLECULARES**Sector de la técnica**

La presente invención se enmarca en el campo general de la química de productos naturales y en particular se refiere a un procedimiento para la obtención de licopeno a partir de residuos de transformación de subproductos o residuos del tomate, y al uso de dicho producto como aditivo en la industria alimentaria.

**Estado de la técnica**

El carotenoide licopeno ( $C_{40}H_{56}$ ) es una biomolécula liposoluble con una gran actividad antioxidante presente en la dieta. Su capacidad para inhibir las especies de oxígeno reactivo es 2 y 10 veces superior a la del  $\beta$ -caroteno y  $\alpha$ -tocoferol, respectivamente [*Free Radical Res.* 2011, 45, 925–940]. Varios estudios han demostrado que su consumo está relacionado con una disminución del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y degenerativas, algunos tipos de cáncer (principalmente de próstata) y trastornos inflamatorios [*R.A. Venketeshwer, G.L. Young, L.G. Rao, Lycopene and Tomatoes in Human Nutrition and Health, CRC Press, 2018, ISBN 9781351110877*].

El licopeno está autorizado por la Unión Europea (UE) como aditivo alimentario (E 160d), con niveles máximos permitidos en el intervalo 5-500 mg/kg en 30 categorías de alimentos [*EFSA Journal* 2008, 674, 1–66]. Las fuentes de licopeno aprobadas por la UE incluyen el tomate (como fuente natural), la síntesis química y la producción biotecnológica con el microorganismo *Blakeslea trispora*. La Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE.UU (FDA) sólo ha aprobado el licopeno obtenido a partir de tomates como aditivo alimentario [21 CFR § 73.585, <https://www.law.cornell.edu/cfr/text/21/73.585>]. Tanto la UE como la FDA requieren que la concentración del licopeno derivado de tomates en las formulaciones utilizadas para enriquecer los alimentos sea al menos el 5 y 5.5%, respectivamente, y que la composición isomérica del licopeno en las mismas sea igual a la presente en el tomate (all-trans isómero: 90-95%; cis-isómeros: 5-10%).

El licopeno también se utiliza como nutracéutico, frecuentemente mezclado con otros compuestos bioactivos [ACS Sustainable Chem. Eng., 2016, 4, 643-650], y su uso en cosmética está creciendo exponencialmente dado su elevado poder antioxidante y solubilidad en ambientes lipofílicos como la piel [Cosmetics, 2015, 2, 82–92].

- 5 Se estima que el mercado mundial del licopeno alcanzará los 111 millones de euros en 2020 y tendrá una tasa anual compuesta de crecimiento del 5.0%, lo que permitiría alcanzar un valor de 143 millones de euros en 2025 [<https://www.globenewswire.com/news-release/2020/06/11/2046681/0/en/Global-Lycopene-Market-2020-to-2025-Growing-Demand-in-the-Pharmaceutical-Industry-Presents-Opportunities.html>].
- 10 En la actualidad, la fuente predominante para la producción de licopeno es la síntesis química dado que la producción de licopeno natural a partir de tomates cultivados para esta finalidad no es sostenible a la escala necesaria para satisfacer su demanda mundial. El precio del licopeno natural varía dependiendo de las compañías productoras y sobretodo de la concentración del mismo, oscilando entre 10 y 5.100 €/kg para formulaciones que
- 15 contienen licopeno en el intervalo 0.16-15% [<https://docplayer.es/9163145-Manual-de-compuestos-bioactivos-a-partir-de-residuos-del-procesado-del-tomate.html>].

El mercado de licopeno natural se enfrenta en la actualidad a dos grandes problemas técnicos: la búsqueda de fuentes más sostenibles y el abaratamiento de los costes de producción.

- 20 En este sentido, una de las posibles fuentes más atractivas para la producción de licopeno es el uso de los residuos de la industria de transformación del tomate. Se estima que la producción anual mundial de tomate es de alrededor de 160 millones de toneladas, de las que aproximadamente la cuarta parte (40 millones de toneladas) se transforma en tomate triturado (~56%), salsas y ketchup (~23%) y tomate enlatado (~21%)
- 25 [[http://www.tomatonews.com/en/background\\_47.html](http://www.tomatonews.com/en/background_47.html)]. Durante la transformación del tomate se genera un residuo sólido procedente del tamizado secuencial del tomate triturado a través de una criba (diámetro 1.0-1.2 mm) y una refinadora (diámetro inferior al de la criba). El residuo sólido, denominado pulpa, representa el 3-4% de la cantidad de tomate procesada (alrededor de 1.2 millones de toneladas) y consiste fundamentalmente de una
- 30 mezcla de pieles (55-65%) y semillas (35-45%) [<https://www.amitom.com>]. Las pieles también se generan en la producción de tomate pelado enlatado. Por otro lado, en algunas industrias se separan los residuos procedentes de la criba y la refinadora. Actualmente, los residuos sólidos se aprovechan como alimento para el ganado, se transfiere gratuitamente

a otras compañías, o se retiran de las empresas transformadoras con coste económico asociado.

El contenido del licopeno en la pulpa oscila entre 266 y 500 mg/kg, en la piel entre 500 y 700 mg/kg y en las semillas entre 20 y 30 mg/kg (todas las cantidades están referidas a materia seca). Ello implica, que sólo en la región del Mediterráneo, donde se transforman anualmente unas 17 millones de toneladas de tomates, se generan alrededor de 0.15 millones de toneladas de pulpa (expresadas como materia seca) que contienen unos 55.000 kg de licopeno. Por lo tanto, los residuos de la transformación del tomate (pulpa y/o piel) constituyen una fuente renovable y sostenible que puede paliar la escasez de licopeno natural. Sin embargo, su producción a partir de esta fuente no es rentable debido al elevado coste que conlleva su extracción y purificación [<https://docplayer.es/9163145-Manual-de-compuestos-bioactivos-a-partir-de-residuos-del-procesado-del-tomate.html>].

Los métodos conocidos para la extracción de licopeno a partir de los residuos de transformación del tomate constan de las siguientes etapas:

- (a) secado de la muestra;
- (b) ruptura de la pared celular;
- (c) extracción del licopeno; y
- (d) enriquecimiento del extracto.

La pulpa contiene alrededor del 70% de agua y, por tanto, el secado de la muestra es esencial para evitar la degradación del licopeno durante el almacenamiento de la misma, ya que es más conveniente su tratamiento una vez terminada la campaña de transformación del tomate. La eliminación del agua puede realizarse mediante secaderos de bandejas, de tambor o de lecho fluidizado o mediante liofilización [*Food Res. Int.* 2014, 65, 311–321].

La liberación del licopeno a partir de los cromoplastos se lleva a cabo mecánicamente (molienda, cizallamiento, etc.) hasta obtener un tamaño de partícula comprendido entre 0.1 y 1 mm [*Food Res. Int.* 2014, 65, 311–321]. También pueden utilizarse enzimas tales como las celulasas, hemicelulasas y pectinasas que incrementan la permeabilidad de la pared celular [*Biotech*, 2017, 7, 1-10]. Sin embargo, las enzimas disponibles comercialmente tienen importantes limitaciones incluyendo alto coste, incompleta hidrólisis de la pared celular y dificultad para el escalado industrial, debido a que el comportamiento de las enzimas varía a diferentes escalas [*Crit. Rev. Food Sci. and Nutr.*, 2016, 56, 686-709].

Para la extracción del licopeno a partir de los residuos del tomate se han propuesto dos estrategias generales basadas en el uso de disolventes orgánicos [*Int. J. Food Properties*, 2007, 10, 289-298; CN101449801A, 30.11.2007, University Tianjin Sci. & Tech; CN104938978A, 30.09.2015, Xinjiang TomatoRed Biotech Co. Ltd; CN103739434A; 5 23.04.2014, Guangzhou Danqi Daily Chemical Factory Co. Ltd] y fluidos supercríticos (normalmente dióxido de carbono) [*J. Food Eng.* 2012, 108, 290–296; *J. Supercrit. Fluids* 2014, 95, 618–627; *J. Supercrit. Fluids.* 2017, 120 1–6; CN107259562A, 27.05.2017, Xinjiang TomatoRed Biotech Co. Ltd]. La extracción se realiza en muchos casos en presencia de antioxidantes para evitar la degradación e isomerización del licopeno [*J.* 10 *Food Sci. Technol.*, 2013, 51, 4102–4107].

La extracción con disolventes orgánicos se ha realizado tradicionalmente con disolventes apolares tales como diclorometano, hexano, benceno o cloroformo [*J. Agricult. Food Chem.*, 2004, 52, 5796–5802]. También se han empleado mezclas de disolventes apolares y polares, tales como la mezcla de hexano con acetona, etanol o acetato de etilo [*Int. J.* 15 *Food Sci. Technol.*, 2011, 46, 23–29], y alternativas más benignas, como el uso de lactato de etilo [*J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57, 1051–1059]. En general, estos procesos conllevan el uso de un elevado volumen de disolvente (generalmente se requieren relaciones de muestra:disolvente, (g/mL) de 1:10 a 1:30), además de necesitar múltiples etapas de extracción, largos tiempos de contacto y temperaturas moderadas.

Se han propuesto algunas estrategias para reducir el tiempo de extracción y el consumo de disolventes orgánicos, como la extracción asistida por microondas (MAE) o ultrasonido (UAE), o la utilización de alta presión (HPH) [*Ultrasonics Sonochem.*, 2008, 15, 731–737, *Ultrasonics Sonochem.*, 2012, 19, 151–159, *Chem. Eng. Technol.*, 2006, 29(6), 736739]. Las principales desventajas de estos métodos son la degradación térmica del licopeno en 20 el caso de MAE, la posible formación de redes por desesterificación de las pectinas en el caso de UAE (lo que podría atrapar al licopeno disminuyendo su bioaccesibilidad), y la necesidad de equipos especiales para operar a alta presión en el caso de HPH. Por otro lado, muchas de estas técnicas son sofisticadas y de alto coste para uso industrial.

Tras la extracción, es necesario eliminar el disolvente orgánico ya que se requiere que la 30 concentración residual del mismo en el producto final sea inferior al 0.5% [*Guidance for Industry Q3C, FDA, 2012*]. La eliminación generalmente se lleva a cabo mediante filtración al vacío y re-distilación a baja temperatura (~30 °C).

La segunda estrategia para extracción de licopeno, uso de fluidos supercríticos (EFS) con CO<sub>2</sub>, tiene la ventaja de que es un proceso no contaminante [*J. Food Eng.*, 2012, 108 (2),

290–296]. Sin embargo, los costes de operación son muy elevados y se necesita una inversión inicial alta. La solubilidad del licopeno en dióxido de carbono es limitada, por lo que se requiere trabajar a presiones muy elevadas y adicionar modificadores orgánicos como agua, etanol, hexano, acetato de etilo, aceites vegetales, etc. para obtener rendimientos y tiempos de extracción aceptables [*J. Food Eng.*, 2008, 89, 298–302, *J. Food Eng.*, 2010, 99, 1-8, *J. Supercritical Fluids*, 2013, 75, 6–10, *J. Sci. Food Agric.*, 2010, 90, 1709–1718, *J. Supercritical Fluids*, 2004, 29, 87–96]. La adición de estos modificadores orgánicos mejora la solubilidad del licopeno, sin embargo, es necesario eliminar el modificador del extracto final, lo que conlleva una etapa adicional, y consecuentemente, un incremento en los costes.

Se ha investigado el uso de fases líquidas alternativas para la extracción de licopeno a partir de residuos de tomate con el objetivo de hacer más rentable el proceso. Así, se ha propuesto el uso de tensioactivos no iónicos (Span 20, Span 40 o Span 60) combinados con enzimas, pero las recuperaciones para la extracción de licopeno son bajas (máximo de 25% con Span 20) [*Acta Biochim. Polonica*, 2012, 59, 71-74]. Otras moléculas anfifílicas como el CPS (co-polímeros constituidos por ácido acrílico, estireno y acrilato de n-butilo) han proporcionado mejores recuperaciones para la extracción de licopeno que las obtenidas con disolventes orgánicos [*J. Chem. Educ.*, 2010, 87, 510–511]. Sin embargo, el proceso de extracción tiene como inconveniente la toxicidad de los reactivos necesarios para la síntesis de CPS y la necesidad de usar compuestos muy corrosivos tales como el ácido fosfórico [*J. Chem. Educ.*, 2008, 85, 256]. Se ha comparado el uso de tensioactivos sintéticos (*Tween 80*, *Tween 60*, *Tween 20* y *Span 20*) y tensioactivos naturales de origen vegetal (lecitina y saponina) o microbiano (ramnolípidos y monopalmitato de sacarosa) utilizando co-disolventes (glicerol, propilenglicol, propanol y etanol) [*Food Chem.*, 2016, 197, 1002-1009]. Los resultados óptimos (rendimiento de extracción del 35%) se hallaron con saponina y glicerol utilizando ultrasonidos y pretratamiento enzimático. También se ha investigado el uso de microemulsiones constituidas por una mezcla de lecitina, propanol, aceite de oliva y agua [*Food Chem.*, 2019, 272, 568-573]. La eficacia alcanzada para la extracción del licopeno en pulpa de tomate (relación muestra:microemulsión, 1:5) fue del 88% tras cuatro ciclos de extracción.

El enriquecimiento en licopeno del extracto final obtenido es esencial para su uso como aditivo alimentario (la concentración mínima en la formulación final debe ser al menos de 5% en la UE y 5.5% en USA). Este enriquecimiento no es necesario cuando se utilizan tomates cultivados para la producción del licopeno en los que la concentración de este carotenoide puede alcanzar hasta 2300 mg/kg [*US6797303-B2*, 04.09.2002, *LycoRed*,

*Natural Product Industries Ltd*] pero es esencial cuando la fuente son residuos de tomates, donde la concentración de licopeno es menor. El enriquecimiento puede realizarse mediante técnicas cromatográficas, ultrafiltración o cristalización [WO2008/015490A1, 02.08.2006, Leonardo Rescio]. Una vez purificados, los extractos deben secarse para su almacenamiento, utilizándose para este fin liofilización, secado por aspersion o secado rotatorio a vacío.

Teniendo en cuenta lo previamente descrito, se han realizado estudios, a partir de los conocimientos conocidos en este estado de la técnica, de la viabilidad económica de extraer licopeno a partir de pulpa de tomate utilizando extracción con disolventes y fluidos supercríticos. Estos estudios demuestran que los procedimientos implicados y conocidos en este sector sólo son rentables en el caso de que se traten de forma centralizada los residuos procedentes de la transformación de al menos 1.5 millones de toneladas de tomates [<https://docplayer.es/9163145-Manual-de-compuestos-bioactivos-a-partir-de-residuos-del-procesado-del-tomate.html>]. Por otro lado, también se ve que en ninguno de estos procesos conocidos se obtienen extractos con concentración adecuada de licopeno para su uso como aditivo alimentario.

Habida cuenta de los problemas técnicos existentes en este campo y dadas las limitaciones de los procesos conocidos y estudios realizados previamente, existe la necesidad de desarrollar métodos de extracción eficiente de licopeno a partir de residuos del tomate, donde estos procesos sean rápidos, económicos y seguros, que no requieran de instalaciones especiales u operaciones complicadas, y proporcionen un producto final que sea apto para su uso como aditivo alimentario.

### **Breve descripción de la invención**

La presente invención desarrolla un procedimiento para la extracción eficiente de licopeno a partir de residuos de procesado del tomate, basado en el uso de biodisolventes supramoleculares, conocidos como bioSUPRAS.

El método de extracción es rápido, simple y de bajo coste, se desarrolla a presión atmosférica y temperatura ambiente, y proporciona rendimientos de extracción superiores al 80% para licopeno, utilizando una única etapa de equilibrio entre el subproducto y el bioSUPRAS. El enriquecimiento del extracto de bioSUPRAS mediante cristalización del licopeno permite la obtención de un producto que contiene 10-25 % de licopeno (> 90% all-trans), dependiendo del contenido del mismo en el residuo de tomate utilizado como materia prima.

Los biodisolventes supramoleculares son líquidos nanoestructurados obtenidos mediante procesos espontáneos de autoensamblaje y coacervación de biomoléculas anfifílicas. Las nanoestructuras en los bioSUPRAS pueden diseñarse para maximizar las energías de interacción con el licopeno. Las condiciones experimentales suaves en las que se desarrolla todo el proceso permiten mantener la composición isomérica del licopeno. Por otro lado, los bioSUPRAS cumplen con los criterios establecidos para los disolventes verdes [*Chem. Soc. Rev.*, 2013, 42, 9550-9570] y por lo tanto permiten el desarrollo de procedimientos inocuos y respetuosos con el medio ambiente.

Así pues, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de licopeno a partir de residuos de transformación del tomate, que comprende la producción del bioSUPRAS, la extracción del licopeno y el enriquecimiento del extracto de bioSUPRAS, de acuerdo a las siguientes etapas:

a) disolver una biomolécula anfifílica en un disolvente orgánico polar y adicionar agua hasta la aparición en la mezcla de gotitas aceitosas de coacervado.

b) centrifugar la mezcla obtenida en a) hasta la separación del bioSUPRAS de la disolución hidro-orgánica.

c) separar y almacenar las dos fases líquidas obtenidas en la etapa b)

d) mezclar el subproducto de tomate con un volumen de la fase hidro-orgánica (utilizada como humectante) y el bioSUPRAS (utilizado como extractante) obtenidos en la etapa c) y agitar la mezcla.

e) centrifugar la mezcla obtenida en d) hasta obtener 3 fases diferenciadas: el bioSUPRAS que contiene el licopeno (en la parte superior), la disolución hidro-orgánica intermedia y los residuos no extraíbles del subproducto del tomate.

f) enriquecimiento del extracto de bioSUPRAS obtenido en e) mediante cristalización del licopeno

En un aspecto particular de la presente invención, la biomolécula anfifílica comprende una cadena hidrocarbonada de entre 6 y 18 átomos de carbono y al menos un grupo polar seleccionado de entre grupos carboxílicos, alcoholes, y fosfatos.

En otro aspecto particular de la presente invención, la biomolécula anfifílica se selecciona de entre glicolípidos, ácidos grasos, fosfolípidos, lipopéptidos, lípidos neutros, ramnolípidos o cualquier biomolécula de origen natural.

En otro aspecto particular de la presente invención, el disolvente orgánico miscible en agua es seleccionado de entre etanol, etilenglicol, acetona, propanol, tetrahidrofurano, acetonitrilo, dioxano y metanol.

En otro aspecto particular de la presente invención, la cristalización del licopeno en el extracto de bioSUPRAS se realiza mediante la adición de un disolvente polar.

En un aspecto particular de la presente invención, la fuente utilizada son residuos sólidos de tomate de la industria agroalimentaria.

En otro aspecto particular de la presente invención, el residuo agroalimentario comprende un pretratamiento de secado y triturado.

- 10 En otro aspecto particular, la presente invención se refiere al uso del producto enriquecido en licopeno, obtenido mediante el procedimiento de la presente invención, como aditivo alimentario. Este producto cumple con los requisitos establecidos por EFSA y la FDA para esta aplicación; así su concentración es superior al 5.5%, y la composición isomérica del licopeno es igual a la presente en el tomate.
- 15 La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos y figuras que describen de forma detallada los objetos de la invención. Estos ejemplos no deben ser considerados como limitativos del alcance de la invención sino como ilustrativos de la misma.

### **Breve descripción de las figuras**

- 20 La Figura 1 muestra el cromatograma obtenido mediante el análisis de una disolución estándar de licopeno en hexano (~6 mg/L); La Figura 2 muestra el extracto obtenido tras la extracción de pulpa, previa dilución en hexano (~8 mg/L) y la Figura 3 muestra el extracto obtenido tras la extracción de piel, previa dilución con hexano (~8 mg/L), ambas (Fig.2 y Fig.3) siguiendo el procedimiento descrito en la invención.
- 25 El hexano utilizado para las diluciones contenía 250 mg/L de butilhidroxitolueno para evitar la oxidación del licopeno.

- La columna utilizada para el análisis cromatográfico de los extractos fue una columna en fase reversa C30 (5 µm, 250 mm x 4.6 mm de diámetro interno) suministrada por THERMO Scientific y termostatada a 30 °C. Para la elución se utilizó una fase móvil constituida por
- 30 metanol:isopropanol:tetrahidrofurano conteniendo 250 mg/L de butilhidroxitolueno y 0.05% de trietilamina con un gradiente isocrático a una velocidad de flujo de 1 mL/min. El intervalo de longitudes de onda medido en el detector de diodos en fila fue de 200 a 800 nm.

Concretamente, en la Fig.1 se puede observar el cromatograma LC-UV (472 nm) de una disolución estándar de trans-licopeno en hexano (~6 mg/L), donde el pico aparece a 8.3 min, los picos a 7.0 y 7.4 min corresponden a isómeros de cis-licopeno.

En la Fig.2 se puede observar el cromatograma LC-UV (472 nm) de una disolución del extracto obtenido tras la extracción de pulpa, previa dilución en hexano (~8 mg/L). El pico a 7.0 min corresponde a un isómero de cis-licopeno.

En la Fig.3 se puede observar el cromatograma LC-UV (472 nm) de una disolución del extracto obtenido tras la extracción de la piel, previa dilución en hexano (~8 mg/L). El pico a 7.0 min corresponde a un isómero de cis-licopeno.

10

### Descripción detallada de la invención

La presente invención utiliza biodisolventes supramoleculares o bioSUPRAS como alternativa eficiente y de bajo coste al uso de disolventes orgánicos convencionales y fluidos supercríticos para la obtención rentable de licopeno a partir de residuos de la transformación del tomate.

La ventaja más relevante de los bioSUPRAS como extractantes de compuestos bioactivos a partir de residuos agroalimentarios es que pueden diseñarse *ad hoc* para maximizar las interacciones con el compuesto bioactivo de interés, lo que posibilita la obtención de elevados rendimientos de extracción.

Asimismo, las biomoléculas anfifílicas componentes del bioSUPRAS pueden seleccionarse entre aquellas que constituyen la matriz de la muestra o similares a las mismas, con lo que el compuesto bioactivo, una vez extraído, se encontrará en un ambiente natural que favorecerá su estabilización. Este último aspecto es relevante en el caso del licopeno ya que se trata de una molécula muy inestable cuando se expone al calor, la luz, el oxígeno, etc., experimentando oxidación e isomerización.

Los bioSUPRAS se forman espontáneamente a partir de biomoléculas anfifílicas en disolución cuando las condiciones ambientales en la misma se modifican para favorecer su agregación a través de enlaces no-covalentes [C. Caballo, MD Sicilia, S Rubio, *The application of green solvents in separation processes, Chapter 5, 111-137, ISBN: 978-0-12-805297-6*]. La modificación puede ser un cambio en el pH o la temperatura, la adición de una sal o un disolvente en el que la biomolécula es insoluble. El proceso de síntesis es cuantitativo (prácticamente toda la biomolécula se incorpora al bioSUPRAS) y no requiere consumo energético. El diseño *ad hoc* del bioSUPRAS puede obtenerse fácilmente a partir

de la selección de la biomolécula o las condiciones ambientales apropiadas [*Anal. Chem.*, 2012, 84, 342-349].

#### Diseño y síntesis de bioSUPRAS para la extracción de licopeno

El licopeno es un hidrocarburo alifático acíclico que posee trece dobles enlaces de los cuales once son conjugados, linealmente ordenados, que lo convierten en extremadamente hidrófobo ( $\log K_{ow}$  15.6). Por tanto, la biomolécula anfifílica seleccionada para la síntesis del bioSUPRAS y las nanoestructuras formadas por las mismas deben proporcionar el mayor número posible de interacciones de dispersión. Asimismo, las biomoléculas seleccionadas deben proporcionar un ambiente que evite la degradación del licopeno mediante oxidación o isomerización durante el proceso de extracción.

Con todas estas premisas, las biomoléculas anfifílicas seleccionadas constan de una cadena hidrocarbonada de entre 6 y 18 átomos de carbono, con enlaces simples o dobles, y al menos un grupo polar seleccionado de entre grupos carboxílicos, alcoholes, y fosfatos. Las biomoléculas anfifílicas deben ser solubles en disolventes miscibles con el agua, ya que en el medio hidro-orgánico las biomoléculas se asocian como agregados hexagonales inversos que contienen cavidades acuosas cuyo tamaño puede modelarse. Los bioSUPRAS deben producirse espontáneamente al adicionar agua a la disolución de la biomolécula en el disolvente orgánico.

Ejemplos de disolventes orgánicos que pueden utilizarse para la síntesis de los bioSUPRAS son el tetrahidrofurano, etilenglicol, dioxano, acetona, propanol, etanol, acetonitrilo, metanol, etc. El porcentaje de disolvente orgánico en el medio de síntesis del bioSUPRAS debería estar comprendido entre el 10 y el 45%.

#### Procedimiento de extracción de licopeno en residuos de tomate

El proceso desarrollado en la presente invención es aplicable a la extracción de licopeno a partir de la pulpa y la piel provenientes del procesado de tomates.

La pulpa y la piel del tomate preferentemente están secas y trituradas.

Se sintetiza el bioSUPRAS y se separa de la disolución hidro-orgánica en equilibrio con la misma mediante centrifugación.

Se adiciona un volumen de bioSUPRAS y de la disolución de equilibrio a la pulpa y/o piel seca y triturada. La función de la disolución de equilibrio es rehidratar el residuo. La relación muestra:fase hidro-orgánica:bioSUPRAS (p/v/v; g/mL/mL) varía en el intervalo 1:7:1.8 y 1:9:4.5.

La mezcla se agita en el intervalo 5-10 min y preferentemente durante 5 min y después se centrifuga hasta la obtención de tres fases; una fase sólida que contiene el residuo agroalimentario; una fase líquida intermedia que es la disolución de equilibrio hidro-orgánica y el bioSUPRAS que contiene el licopeno y los ácidos grasos de la muestra.

- 5 El proceso permite la extracción de licopeno a partir de pulpa y piel con un porcentaje de recuperación en el intervalo 80-100 % utilizando una única etapa de equilibrio entre la muestra y el bioSUPRAS.

La disolución de equilibrio hidro-orgánica puede reciclarse para la síntesis del bioSUPRAS mientras los principales componentes del residuo del tomate no extraídos (proteínas y fibra dietética) pueden también aprovecharse. Así la presente invención podría formar parte del diagrama de flujo de proceso de una biorefinería.

#### Enriquecimiento del licopeno en el extracto del bioSUPRAS

El enriquecimiento de licopeno en el extracto del bioSUPRAS se realiza mediante cristalización adicionando un disolvente orgánico polar. Posteriormente se centrifuga para favorecer la precipitación. La formulación final contiene licopeno a concentraciones entre el 10 y 25 %, dependiendo de la concentración del mismo en la materia prima, y fibra. El licopeno se encuentra fundamentalmente en la forma isomérica all-trans (Figura 1), lo cual demuestra que no experimenta degradación durante el proceso.

### 20 **Descripción de unos modos y ejemplos de realización de la invención**

#### Ejemplo 1: Síntesis del bioSUPRAS

La biomolécula anfífilica se disolvió en tetrahidrofurano (10%, p/v) y la disolución se diluyó con agua por un factor de 2. La mezcla se homogenizó mediante agitación magnética durante 5 min. El bioSUPRAS, producido espontáneamente, se separó de la disolución hidro-orgánica en equilibrio con la misma mediante centrifugación a 2,500 rpm durante 5 min. Ambas fases se mantuvieron en recipientes herméticamente cerrados hasta su uso.

#### Ejemplo 2. Extracción de licopeno a partir de pulpa de tomate

La cantidad apropiada de pulpa de tomate, seca y triturada, se mezcló con la disolución de equilibrio hidro-orgánica y el bioSUPRAS, sintetizado de acuerdo al procedimiento descrito en el ejemplo anterior, en una proporción 1:7:1.8 (p/v/v). La mezcla se agitó magnéticamente durante 5 min a 900 rpm y a continuación se centrifugó durante 20 min a 3,000 rpm para la separación física de tres fases. A la fase bioSUPRAS, que contiene el licopeno, se añadió metanol en una proporción de 1:1 v/v, retirando el sobrenadante, previa

precipitación mediante centrifugación. La fase sólida resultante constituye el extracto enriquecido en licopeno (10-25%). Esta se deja secar a temperatura ambiente o mediante una corriente de N<sub>2</sub> y se almacena a -20 °C.

Ejemplo 3. Extracción de licopeno a partir de piel de tomate

- 5 El procedimiento de extracción de licopeno a partir de piel de tomate, seca y triturada, así como los productos obtenidos, son similares a los descritos en el ejemplo 2 para muestras de pulpa de tomate. La relación muestra:disolución de equilibrio hidro-orgánica:bioSUPRAS recomendada es 1:9:4.5 (p/v/v) en este caso.
  
- 10 A partir de estos ejemplos y lo descrito con anterioridad se puede decir que el procedimiento para la obtención de licopeno a partir de residuos de tomate objeto de la presente invención comprende las siguientes etapas:
  - a) disolver una biomolécula anfifílica en un disolvente orgánico polar y adicionar agua, en una proporción de cada componente en la mezcla comprendida entre
   
15 1:1.1:20 y 1:11:10 (g:mL:mL).
  - b) centrifugar la mezcla obtenida en a), a al menos 2,500 rpm durante 5 min, obteniendo una fase hidro-orgánica y un biodisolvente supramolecular o bioSUPRAS,
  - c) separar las dos fases obtenidas en la etapa b)
  - 20 d) mezclar la muestra con la fase hidro-orgánica y el bioSUPRAS obtenidos en la etapa b) en una relación comprendida entre 1:7:1.8 y 1:9:4.5 (g:mL:mL),
  - e) agitar la mezcla obtenida en d) durante 5 min a 900 rpm
  - f) centrifugar la mezcla obtenida en e) durante al menos 20 minutos a al menos 3,000 rpm, obteniendo 3 fases diferenciadas: un extracto de bioSUPRAS, una fase
   
25 hidro-orgánica intermedia y un residuo sólido del tomate.
  - g) cristalizar el licopeno a partir del extracto de bioSUPRAS para obtener una formulación que contenga concentraciones comprendidas entre el 10 y el 25%.

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la obtención de licopeno a partir de residuos de tomate que comprende las siguientes etapas:
  - 5 a) disolver una biomolécula anfifílica en un disolvente orgánico polar y adicionar agua, en una proporción de cada componente en la mezcla comprendida entre 1:1.1:20 y 1:11:10 (g:mL:mL).
  - b) centrifugar la mezcla obtenida en a), a al menos 2,500 rpm durante 5 min, obteniendo una fase hidro-orgánica y un biodisolvente supramolecular o bioSUPRAS,
  - 10 c) separar las dos fases obtenidas en la etapa b)
  - d) mezclar la muestra con la fase hidro-orgánica y el bioSUPRAS obtenidos en la etapa b) en una relación comprendida entre 1:7:1.8 y 1:9:4.5 (g:mL:mL),
  - e) agitar la mezcla obtenida en d) durante 5 min a 900 rpm
  - f) centrifugar la mezcla obtenida en e) durante al menos 20 minutos a al menos 3,000 rpm,
  - 15 obteniendo 3 fases diferenciadas: un extracto de bioSUPRAS, una fase hidro-orgánica intermedia y un residuo sólido del tomate.
  - g) cristalizar el licopeno a partir del extracto de bioSUPRAS para obtener una formulación que contenga concentraciones comprendidas entre el 10 y el 25%.
- 20 2. Procedimiento para la obtención de licopeno según la reivindicación 1, donde la biomolécula anfifílica comprende una cadena hidrocarbonada de entre 6 y 18 átomos de carbono, con enlaces simples y/o dobles, y al menos un grupo polar seleccionado de entre grupos carboxílicos, alcoholes, y fosfatos.
- 25 3. Procedimiento para la obtención de licopeno según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde la biomolécula anfifílica se selecciona de entre glicolípidos, ácidos grasos, fosfolípidos, lipopéptidos, lípidos neutros, o cualquier tensioactivo de origen natural.
- 30 4. Procedimiento para la obtención de licopeno según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el disolvente orgánico es seleccionado de entre tetrahidrofurano, etilenglicol, dioxano, acetona, propanol, etanol y acetonitrilo.

5. Procedimiento para la obtención de licopeno según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la etapa f) de cristalización se realiza mediante la purificación del extracto con un disolvente polar, y posterior retirada del sobrenadante.

5

6. Procedimiento para la obtención de licopeno según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la muestra son residuos procedentes de la transformación del tomate.

10 7. Procedimiento para la obtención de licopeno según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde el residuo agroalimentario comprende un pretratamiento de secado y triturado.

8. Uso del extracto obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 como aditivo alimentario.

15

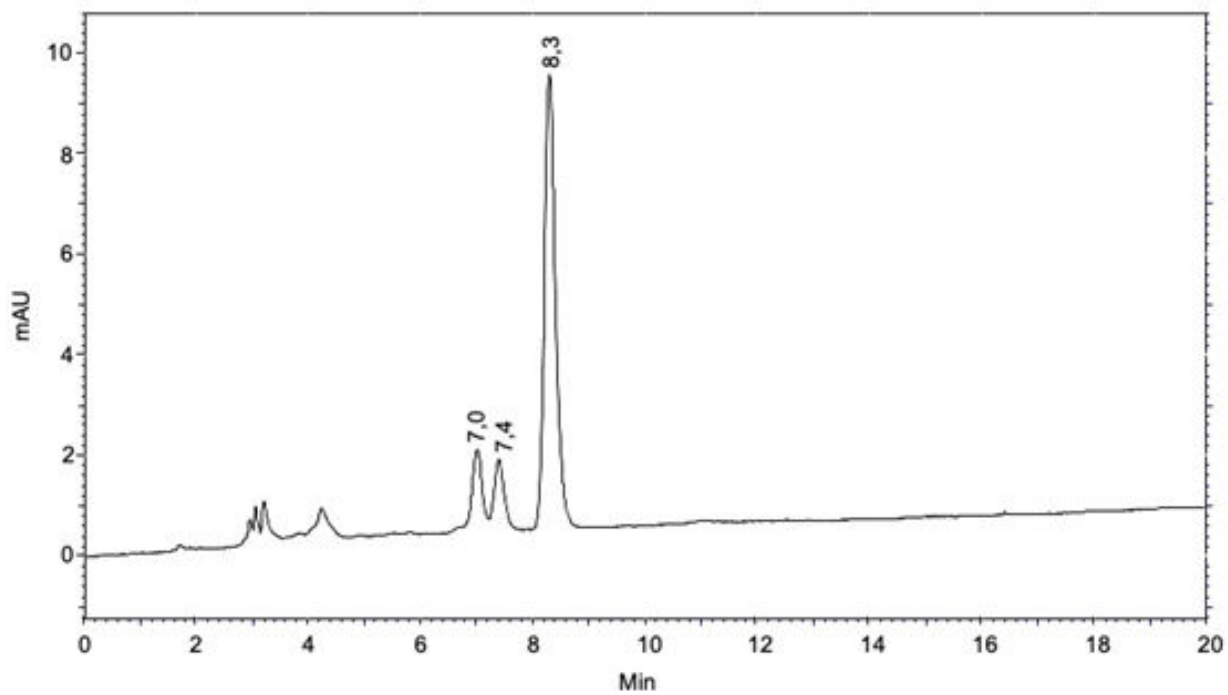


FIG.1

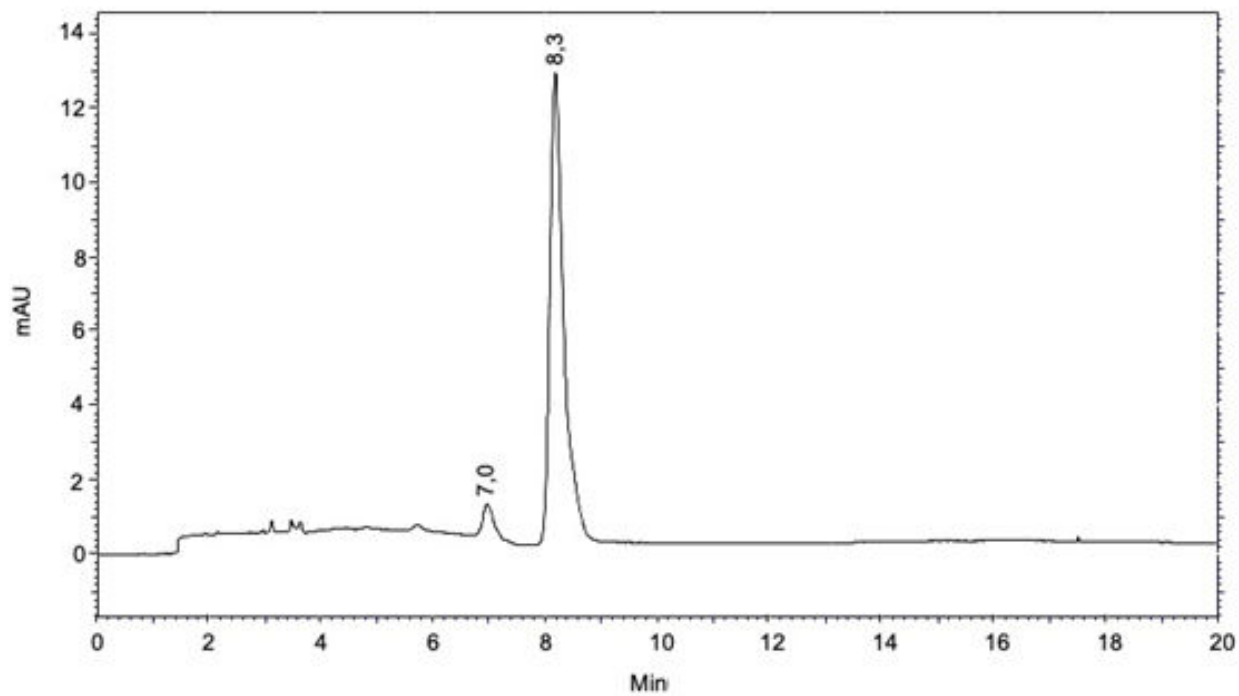
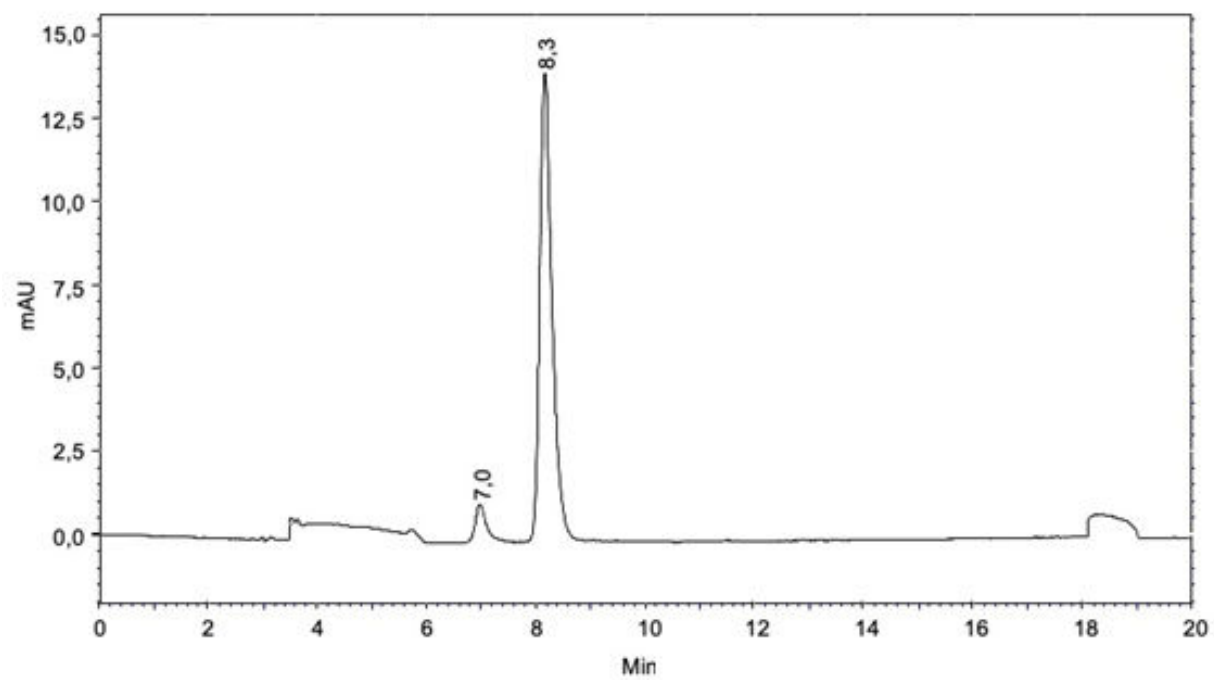


FIG.2



**FIG.3**



- ②① N.º solicitud: 202130656  
②② Fecha de presentación de la solicitud: 13.07.2021  
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑤⑥ Documentos citados                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| A         | WO 0240003 A1 (UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA) 23/05/2002, Ejemplos 1 y 2.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 1-8                        |
| A         | PATARO, G. et al. Recovery of lycopene from industrially derived tomato processing by-products by pulsed electric fields-assisted extraction. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 28/04/2020, Vol. 63, Páginas 1-10 [en línea][recuperado el 7/04/2022]. Recuperado de Internet <URL: <a href="http://www.elsevier.com/locate/foodchem">www.elsevier.com/locate/foodchem</a> > apartados 2.1-2.4.                                                         | 1-8                        |
| A         | BRIONES-LABARCA, V. et al. Optimization of extraction yield, flavonoids, and lycopene from tomato pulp by high hydrostatic pressure-assisted extraction. Food Chemistry, 22/11/2018, Vol. 278(2019), Páginas 751-759 [en línea][recuperado el 07/04/2022] Recuperado de Internet <URL: <a href="http://www.elsevier.com/locate/foodchem">www.elsevier.com/locate/foodchem</a> > Resumen; apartados 2.1, 2.2, 2-3, 2.3.1., 2.3.2, 4                                       | 1-8                        |
| A         | CABALLO, C. et al. Determination of supplemental feeding needs for astaxanthin and canthaxanthin in salmonids by supramolecular solvent-based microextraction and liquid chromatography-UV/VIS spectroscopy. Food Chemistry, 2012, Vol. 134, Páginas 1244-1249 [en línea] [recuperado el 07/04/2022]. Recuperado de Internet <URL: <a href="http://www.elsevier.com/locate/foodchem">http://www.elsevier.com/locate/foodchem</a> >. Resumen; apartados 2.3, 2.4.1, 2.4.2 | 1-8                        |
| A         | TORRES-VALENZUELA, L. et al. Separation and Purification Technology, 2019, Vol. 228, Páginas 115759 [en línea] [recuperado el 07/04/2022]. Recuperado de Internet <URL: <a href="http://www.elsevier.com/locate/seppuv">http://www.elsevier.com/locate/seppuv</a> > Resumen; apartados 2.4 y 2.5</p>                                                                                                                                                                     | 1-8                        |

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
12.04.2022

Examinador  
J. López Nieto

Página  
1/2

## CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**B01D11/02** (2006.01)

**A23L33/105** (2016.01)

**A61P39/06** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

B01D, A23L, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, INTERNET