

ITALIAN PATENT OFFICE

Document No.

102009901794973A1

Publication Date

20110622

Applicant

BIOSPHERE S.P.A.

Title

METODO PER L'ESTRAZIONE DI SOSTANZE CAROTENOIDI DA MATRICI
VEGETALI.

DESCRIZIONE del brevetto per invenzione industriale
avente per titolo: **“Metodo per l'estrazione di sostanze
carotenoidi da matrici vegetali”**, appartenente a
BIOSPHERE SPA VIA BENEDETTO CROCE, 7 47023
CESENA (FC)

Depositato il

al No.

TESTO DELLA DESCRIZIONE

La presente invenzione riguarda il recupero e la purificazione di sostanze di origine naturale dalla loro matrice, ed in particolare riguarda un metodo per l'estrazione di sostanze carotenoidi da matrice di origine vegetale.

I carotenoidi sono pigmenti contenuti nelle piante e in altri organismi fotosintetici come le alghe, nelle quali svolgono una importante funzione nel processo di fotosintesi. Il licopene, ad esempio, si trova prevalentemente nei pomodori, il beta carotene nelle carote e la luteina è presente negli ortaggi a foglia verde, come gli spinaci.

Dal punto di vista chimico i carotenoidi si dividono in caroteni quando le molecole sono costituite da soli atomi di carbonio e idrogeno (ad esempio beta-carotene e licopene) e xantofille quando sono presenti anche atomi di ossigeno (ad esempio luteina).

Già da tempo l'attenzione dell'industria chimica,

alimentare e, recentemente, anche quella farmaceutica, si è rivolta alle sostanze carotenoidi, per le numerose proprietà di queste molecole. I carotenoidi, infatti, oltre ad essere degli importanti coloranti naturali per l'industria alimentare (ad esempio il licopene è conosciuto come colorante E160d e la luteina E161b) hanno importanti proprietà antiossidanti; inoltre numerosi studi clinici hanno dimostrato che alcuni carotenoidi hanno la capacità di prevenire malattie tumorali.

L'interesse crescente verso questo tipo di molecole e la possibilità di coniugare e integrare il processo di estrazione dei carotenoidi ad un processo agroalimentare pre-esistente, in una ottica di bioraffineria, ha portato allo studio e sviluppo della presente invenzione.

Dal punto di vista industriale i carotenoidi possono essere ottenuti per estrazione con solventi organici o con fluidi supercritici di frutta ed ortaggi, che le contengono in rilevanti quantità, oppure per fermentazione di alcune specie di microrganismi (funghi o batteri) oppure per sintesi chimica.

Allo stato della tecnica sono state affrontate numerose problematiche inerenti il recupero e la purificazione di carotenoidi dai prodotti vegetali. In generale, il problema sta proprio nel riuscire a portare avanti il recupero di tali molecole organiche da una matrice che è di tipo sostanzialmente cellulosico, e che per di più si trova in un

contesto prevalentemente acquoso. Inoltre il processo che si voleva realizzare doveva essere robusto ed efficace in modo da poter essere applicato a diverse matrici vegetali: a titolo esemplificativo ma non esaustivo ai frutti e ortaggi freschi, ai prodotti e sottoprodotti della lavorazione industriale delle conserve (succhi, polpe, concentrati, ecc.) e infine ai loro scarti. A tale scopo, sono stati sviluppati dei metodi per l'estrazione di queste molecole che prevedano l'uso di una particolare miscela di enzimi, in grado di facilitare la disgregazione della matrice cellulosica e rendere così più disponibili i carotenoidi all'estrazione con solvente.

WO03/020053 descrive il processo di estrazione dei carotenoidi da pomodori, carote, wolfberry; il materiale vegetale viene miscelato con acqua fino a raggiungere Bx non superiore a 10, triturato e poi la polpa viene separata dal siero mediante tecniche convenzionali di decantazione, centrifugazione o filtrazione; la polpa viene successivamente estratta con solvente e recuperata l'oleoresina per evaporazione del solvente.

WO97/48287 descrive la separazione della polpa dal siero mediante un decanter. La polpa viene sottoposta ad estrazione.

US5830738 descrive un processo di estrazione di carotenoidi da materiale vegetale, precisando che il materiale vegetale deve essere triturato perché minore sono le

dimensioni del materiale e maggiore è la superficie di contatto con l'enzima. La matrice vegetale viene trattata con enzimi per facilitare la rottura delle pareti vegetali poi, dopo separazione dalla fase acquosa contenente gli enzimi, estratta con solvente per recuperare i carotenoidi.

Food Chemistry 102 (2007) 77-81 describe alcune prove di estrazione del Licopene da pomodori (buccia, polpa e scarti dell'industria del pomodoro) previo trattamento enzimatico con enzimi cellulosici e pectinolitici, in diversi rapporti. La matrice vegetale trattata enzimaticamente viene filtrata e il residuo solido estratto con solventi come etere di petrolio e acetone, ripetutamente.

J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 3063-3067 describe l'aumento della resa di estrazione di capsacinoidi e carotenoidi dal peperoncino mediante il pretrattamento enzimatico con enzimi cellulasici e pectinolitici della matrice vegetale. Il residuo vegetale viene essiccato e poi estratto con solvente.

Gli ultimi 3 documenti riportati sopra descrivono processi che prevedono sempre una fase di separazione intermedia tra il trattamento enzimatico e l'estrazione con solvente, mediante le comuni tecniche di separazione quali la centrifugazione o la filtrazione; questa fase di separazione costituisce un costo significativo nell'investimento della realizzazione industriale del processo e inoltre rappresenta

una potenziale fonte di perdita del prodotto.

Nella domanda di brevetto RM2007A000540 viene descritto un metodo che prevede l'estrazione di carotenoidi da matrice vegetale, mediante l'utilizzazione di due fasi immiscibili; cui le due fasi immiscibili sono costituite da una fase acquosa contenente uno o più enzimi, ed una fase non acquosa, apolare o limitatamente polare, costituita dal solvente. Questo procedimento ha il vantaggio di mettere a contatto la fase acquosa in cui sono introdotti gli enzimi con una fase apolare in cui i carotenoidi sono molto più solubili, evitando di dover passare attraverso una fase di separazione intermedia. Il problema di questo metodo sta principalmente nel fatto che è sviluppato in ambito di laboratorio, e non mostra affatto una analisi approfondita delle problematiche relative alla sua applicazione su scala operativa, né a livello di impianto pilota né tanto meno di impianto industriale propriamente detto.

Il documento Eur. Food. Res. Technol., 228: 153-158 del 2008 descrive l'estrazione di Licopene dalle bucce di pomodoro mediante pretrattamento con enzimi (cellulasici, emicellulasici e pectinolitici) e successiva estrazione con solvente. L'articolo dimostra che l'uso degli enzimi migliora la resa di estrazione ma vengono solo riportati esempi di utilizzo degli enzimi singolarmente, non in miscela e solo su scala di laboratorio.

Scopo della presente invenzione è pertanto fornire un metodo migliorato per l'estrazione delle sostanze carotenoidi da matrice vegetale che possa essere applicato a processi industriali e che in tale modo permetta di ottenere risultati significativi sia dal punto di vista della purezza del prodotto che da quello dell'economia e dell'efficienza del processo stesso.

Oggetto della presente invenzione è pertanto un metodo per l'estrazione di sostanze carotenoidi da matrici vegetali, comprendente le fasi di: condizionamento della matrice vegetale; trattamento della matrice con un preparato enzimatico in fase acquosa; trattamento della miscela comprendente matrice vegetale e preparato enzimatico con un solvente organico; separazione delle tre fasi, quella acquosa contenente il preparato enzimatico che viene riciclato, quella organica che contiene i carotenoidi e quella solida cioè la matrice vegetale; evaporazione del solvente organico e recupero dell'oleoresina; purificazione delle sostanze carotenoidi contenute nell'oleoresina ottenuta.

In una forma esecutiva preferita, il condizionamento della matrice vegetale viene condotto per triturazione in modo da rendere la superficie della detta matrice quando più disponibile ai processi che andranno condotti sulla medesima. Alla triturazione può, in alcuni casi, seguire una fase di omogeneizzazione ad alta pressione della matrice

vegetale già finemente triturata, allo scopo di ridurre ulteriormente le dimensioni della matrice. Il carotenoide verso il quale la ricerca che ha condotto alla presente invenzione si è maggiormente focalizzata è il licopene, ed in particolare quello ottenibile dal pomodoro.

Il preparato enzimatico comprende una pluralità di enzimi destinati al trattamento della matrice vegetale, tali da rompere la parete cellulare del vegetale e rendere così le sostanze carotenoidi più disponibili alla estrazione successiva con solvente. In particolare, il preparato enzimatico comprende enzimi pectinolitici, emicellulasici e cellulasici. A titolo esemplificativo ma non esaustivo posso essere utilizzati i preparati enzimatici commercialmente disponibili, con attività pectinolitica, emicellulasica e cellulasica, quali Pectinex, Viscozyme, Citrozym di Novozymes oppure Peclyve, Brewlyve, Cellulyve di Lyven. Il solvente che viene utilizzato di preferenza è un solvente apolare aprotico, quale in particolare esano od acetato di etile o loro miscele.

Ulteriori vantaggi e caratteristiche del metodo secondo la presente invenzione risulteranno evidenti dalla seguente descrizione dettagliata di una forma esecutiva della medesima, eseguita, a scopo esemplificativo e non limitativo, con riferimento alla tavola di disegni allegata.

la figura 1 è un diagramma blocchi e che illustra le fasi

del metodo secondo la presente invenzione.

Nella figura 1 è illustrato il diagramma a blocchi del metodo secondo la presente invenzione; con 10 è indicata la fase di triturazione della matrice vegetale, alla quale triturazione segue una fase di centrifugazione 20 con eliminazione di acqua (21). Successivamente, ha luogo la fase 30 di pretrattamento enzimatico, alla quale segue l'estrazione 40 con solvente organico; nella successiva fase 50 di separazione delle fasi vengono separati le diverse fasi: la fase acquosa 51, il solvente organico 53 contenente il carotenoide e la matrice vegetale esausta 52. Successivamente la fase acquosa 51 viene riciclata alla fase 30 di pretrattamento, in quanto contiene gli enzimi che in tale fase sono riutilizzabili; la matrice vegetale esausta 52 viene inviata alla desolventizzazione; la fase organica 53 viene avviata all'evaporazione 60 dalla quale si recupera il solvente puro 61, che può essere riutilizzato nella fase 40 di estrazione, mentre l'oleoresina 62 viene sottoposta alla purificazione 70 e si ottengono i cristalli 71 di carotenoide.

Il funzionamento del metodo secondo la presente invenzione apparirà evidente da quanto segue. La fase di triturazione è condotta mediante normali tecniche conosciute, ad esempio mediante mulini a lame o a martelli o a sfere; preferibilmente si utilizza una particolare passatrice dotata di una serie di pale disposte in modo elicoidale su di

un albero che trituranò il prodotto e lo spingono verso un setaccio che consente il passaggio della polpa e delle bucce triturate, mentre i semi e le parti grossolane vengono trattenute nella macchina; la purea ottenuta dalla raffinatrice viene avviata al processo. I fori del setaccio hanno una sezione dei inferiore ai 3 mm. In questo modo la materia prima viene tritata finemente e separata dai semi e dal materiale più grossolano che ridurrebbero la resa di estrazione e la purezza del prodotto finale. Successivamente il prodotto che ha un elevato contenuto di acqua, viene concentrato fino a 15 Bx mediante tecniche comuni come la centrifugazione in decantatore.

La materia prima di maggiore interesse in questo caso è il pomodoro e i suoi derivati. A titolo esemplificativo ma non esaustivo la materia prima da utilizzare per l'estrazione del licopene può essere pomodori freschi, pomodori selezionati ad alto contenuto di licopene, scarti, prodotti e sottoprodotti della lavorazione del pomodoro. Gli scarti della lavorazione del pomodoro possono essere costituiti dalle bucce provenienti da operazioni di pelatura dei pomodori destinati alla produzione di polpa a cubetti, oppure dalle bucce provenienti dal processo di produzione di passata e concentrato di pomodoro. Lo scarto è sempre costituito da bucce e semi di pomodoro. Il contenuto prevalente di licopene si trova nelle bucce. Il processo può essere

applicato allo scarto contenente anche i semi, oppure alle sole bucce dopo una operazione di separazione.

I prodotti della lavorazione del pomodoro possono essere a titolo esemplificativo ma non esaustivo: pomodori non pelati, pomodori pelati, polpa di pomodoro a cubetti, passata, succo di pomodoro, concentrato di pomodoro.

Secondo un metodo preferito la materia prima è lo scarto della pelatura dei pomodori destinati alla produzione di cubettato di pomodoro. Tale scarto è costituito dalle bucce di pomodoro ricche di fibra e di pompa adesiva e qualche seme; questo scarto ha un elevato contenuto di licopene (3÷5 g/kg di sostanza secca).

L'uso degli scarti della lavorazione industriale del pomodoro come materia prima del processo permette di recuperare un materiale che attualmente viene destinato all'alimentazione animale o addirittura costituisce un rifiuto; l'estrazione di licopene dallo scarto della lavorazione industriale del pomodoro rappresenta un esempio di bioraffineria cioè di un processo innovativo che si innesta ad un processo industriale consolidato, in questo caso la lavorazione industriale del pomodoro, per recuperare sostanze ad alto valore aggiunto. Tale realizzazione rappresenta un'importante passo avanti per migliorare la sostenibilità della industria moderna.

Il materiale vegetale condizionato come descritto per

le fasi precedenti viene quindi sottoposto ad un pretrattamento enzimatico 30. Il rapporto tra il preparato enzimatico e la materia prima è compreso tra 0,08 e 0,17 ml/g di materia prima. Il preparato enzimatico viene diluito in acqua perché il trattamento è più efficace quando il materiale vegetale è uniformemente disperso in acqua. Per ottenere una buona dispersione in acqua della materia prima si utilizza un rapporto acqua/materia prima compreso tra 1 e 2 ml/g, preferibilmente 1,7 ml/g. Il pretrattamento viene condotto ad una temperatura compresa tra 40° e 70° C, e preferibilmente a 50°C, con un pH ottimale per l'azione degli enzimi, normalmente compreso tra 3 e 6, preferibilmente di 4,5. Il trattamento enzimatico si protrarrà per un periodo compreso tra 3 e 6 ore.

La fase acquosa 51 contenente gli enzimi, dopo estrazione con solvente, viene recuperata e riutilizzata per i cicli successivi dato che gli enzimi non vengono denaturati dal solvente. E' possibile effettuare almeno 12 ricicli con un piccolo reintegro di enzima fresco, ad esempio del 5%. Questo significa che dopo 12 ricicli il reale rapporto tra preparato enzimatico e la materia prima è <0,02 ml/g, con un risparmio del 85%.

Industrialmente il processo di pretrattamento avviene all'interno di reattori chiusi, agitati, termostatati a 50°C, in assenza di aria per evitare l'ossidazione del licopene. Il

riciclo degli enzimi è fondamentale perché il processo industriale sia economicamente sostenibile e, mediante piccolo reintegro, garantisce rese costanti dopo almeno 12 ricicli.

Per ciò che riguarda la scelta degli enzimi da utilizzare, sono stati utilizzati prodotti commerciali in misure diverse, ed è risultata più specificamente attiva la preparazione enzimatica seguente: 1/6 Peclyve PR o CP (attività pectinolitica), 1/6 Brewlyve 1500AXC (attività emicellulasica) e 4/6 Cellulyve 50LC (attività cellulasica). L'uso di una miscela enzimatica al posto di un singolo preparato enzimatico è estremamente importante perché ha un effetto sinergico, superiore alla somma degli effetti dei singoli preparati enzimatici, usati separatamente.

Terminata la fase di pretrattamento si aggiunge solvente direttamente alla miscela pretrattata, senza alcuna separazione intermedia, e viene condotta la fase 40 di estrazione. L'estrazione avviene quindi in presenza di 2 fasi immiscibili: la fase acquosa contenente gli enzimi e quella organica, il solvente, che estrae il licopene dalla matrice vegetale. Aggiungere direttamente il solvente alla miscela pretrattata, senza nessuna separazione intermedia, è fondamentale sia perché significa minori costi industriali e inoltre la presenza della fase acquosa durante l'estrazione rende più efficace l'estrazione, perché la matrice vegetale

viene così dispersa più uniformemente. Il rapporto tra la fase organica e fase acquosa è compresa tra 0,5 e 4 v/v, e preferibilmente di 1,7 v/v. Il rapporto tra il solvente e la materia prima vegetale è compreso tra 1 e 5 ml/g e preferibilmente di 2,5 ml/g. La temperatura di estrazione è compresa tra 25°C e 60°C, e di preferenza è di 40°C. La durata dell'estrazione 40 è in genere compresa tra 30 minuti e 4 ore, e di preferenza è di un'ora. L'estrazione può essere ripetuta in più cicli successivi e può essere effettuata mediante processo batch o continuo.

La separazione 50 delle 3 fasi, fase organica 53, fase acquosa 51 e residuo vegetale 52 può essere condotta mediante le normali tecniche di separazione, ad esempio mediante centrifugazione, decantazione, filtrazione per separare la matrice vegetale seguita dalla separazione tra le 2 fasi liquide immiscibili. Secondo un metodo preferito si usa un decantatore centrifugo a tre fasi, noto come Tricanter[®], in grado di separare efficacemente le 3 fasi in un solo step. La fase organica 53 viene evaporata (60) sotto vuoto per recuperare il solvente e l'oleoresina. L'oleoresina ha un contenuto in licopene circa del 4%. La fase acquosa 51, opportunamente filtrata, viene riutilizzata per il pretrattamento enzimatico 30 di altra materia prima (riciclo) e il residuo solido 52 viene inviato al processo di desolventizzazione e poi destinato come alimento per

animali. La resa complessiva di recupero del licopene è compresa tra 75÷90%.

Il processo prevede la purificazione dell'oleoresina al 4% di Licopene mediante trattamento con etanolo o acetone in un rapporto compreso tra 1:5 e 1:10, a temperatura ambiente, per un periodo compreso tra 10 e 60 min. e successiva filtrazione ed essiccamento dei cristalli. I cristalli ottenuti hanno una purezza compresa tra 40 e 90% e la resa di purificazione è nell'ordine del 90%.

Il metodo secondo la presente invenzione sarà meglio comprensibile con riferimento agli esempi di seguito riportati.

Esempio 1

100,0 kg di scarto della lavorazione industriale del pomodoro, con un contenuto di licopene pari a 3,7 g/kg di sostanza secca, sono stati sottoposti al processo di estrazione del licopene previa pretrattamento enzimatico.

Il materiale è stato triturato fino ad ottenere frammenti di dimensioni inferiori a 2 mm, quindi centrifugato per eliminare l'eccesso di siero. Il solido centrifugato è stato sottoposto a pretrattamento enzimatico con 150 litri di una soluzione enzimatica diluita al 10%, contenente una miscela di enzimi composta da 1/6 di Peclyve PR o CP (attività pectinolitica), 1/6

Brewlyve 1500AXC (attività emicellulasica) e 4/6 Cellulyve 50 LC (attività cellulasica).

Il pretrattamento enzimatico è stato condotto alla temperatura di 50°C, pH 4,5 per un tempo di 3 ore. L'estrazione del licopene è stata realizzata per successiva aggiunta di 255 litri di acetato di etile alla temperatura di 40°C per 1 ora.

Le tre fasi, organica, acquosa e solida sono state separate per centrifugazione; la fase organica è stata evaporata sottovuoto e il solvente è stato recuperato per un successivo riutilizzo. Sono stati ottenuti 1.180 g di oleoresina, contenente 47,2 g di licopene ad una concentrazione del 4% circa.

L'oleoresina così ottenuta può essere utilizzata come ingrediente per la preparazione di alimenti con caratteristiche funzionali, oppure come colorante.

Esempio 2:

Questo esempio illustra l'effetto della composizione della miscela enzimatica sulla resa di estrazione, a parità degli altri parametri di processo per le fasi di pretrattamento enzimatico e di estrazione con solvente.

Sono state utilizzate 7 diverse miscele enzimatiche allo scopo di individuare la composizione ottimale ai fini della resa di estrazione del licopene. I parametri di processo utilizzati sono gli stessi descritti nell'esempio n. 1. I risultati sono riportati nella seguente tabella 1.

Tabella 1

Miscela	Rapporto			Resa %
	Peclyve PR	Cellulyve 50LC	Brewlyve 1500AXC	
1	1			69
2		1		82
3			1	68
4	1/3	1/3	1/3	86
5	4/6	1/6	1/6	72
6	1/6	4/6	1/6	91
7	1/6	1/6	4/6	78

Esempio 3:

La fase acquosa recuperata per centrifugazione della miscela trifasica di cui all'esempio 1 contiene in soluzione la miscela enzimatica utilizzata per il pretrattamento.

Tale fase acquosa è stata filtrata per eliminare tracce di solidi sospesi, e quindi riutilizzata per un successivo ciclo di pretrattamento ed estrazione.

Il riciclo della fase acquosa contenente la miscela enzimatica è stato ripetuto per un numero di cicli uguale a 12, mantenendo sostanzialmente invariata la resa di estrazione, e adottando un reintegro di miscela enzimatica pari al 5% della quantità impiegata nel primo ciclo, allo scopo di compensare le perdite fisiche e di attività degli enzimi.

Il risultato complessivo del riutilizzo e reintegro è rappresentato quantitativamente in tabella 2, e corrisponde ad una

riduzione dell'utilizzo della quantità di preparato enzimatico pari all'87% in 12 cicli.

Tabella 2

Ciclo	Resa di estrazione %	Rapporto preparato enzimatico/materia prima
1	95,8%	0,150
2	88,0%	0,079
3	94,9%	0,055
4	93,6%	0,043
5	95,4%	0,036
6	97,2%	0,031
7	95,9%	0,028
8	90,9%	0,025
9	91,7%	0,023
10	94,2%	0,022
11	91,1%	0,020
12	89,7%	0,019

Esempio 4:

L'oleoresina ottenuta secondo il procedimento di cui all'esempio 1 è stata ulteriormente trattata allo scopo di aumentarne il titolo in licopene.

500 g di oleoresina di licopene al 4% sono stati trattati con 5,0 litri di etanolo a temperatura ambiente per 10 minuti. I cristalli di licopene sono stati recuperati per filtrazione e successivo essiccamento sotto vuoto. Sono stati ottenuti 26,4 g di licopene al 72%.

I cristalli possono essere utilizzati per ottenere diverse

formulazioni, ad esempio mediante sospensione in olio, o come prodotti microincapsulati.

RIVENDICAZIONI

- 1.** Metodo per l'estrazione di sostanze carotenoidi da matrici vegetali, comprendente le fasi di: condizionamento della matrice vegetale; trattamento della matrice con un preparato enzimatico in fase acquosa; estrazione della miscela comprendente matrice e preparato enzimatico con un solvente organico; separazione della fase acquosa da quella organica e ricupero del preparato enzimatico; eliminazione del solvente organico e purificazione delle sostanze carotenoidi in questo modo ottenute.
- 2.** Metodo secondo, il condizionamento della matrice vegetale viene condotto per triturazione ed eventualmente omogeneizzazione ad alta pressione.
- 3.** Metodo secondo la rivendicazione 2, in cui detto condizionamento è eseguito con una macchina raffinatrice con un setaccio inferiore od uguale a 3 mm.
- 4.** Metodo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti da 1 a 3, in cui il preparato enzimatico comprende enzimi pectinolitici, emicellulasici e cellulasici.
- 5.** Metodo secondo la rivendicazione 4, in cui il preparato enzimatico ha la seguente composizione: 1/6 Peclyve PR o CP (attività pectinolitica), 1/6 Brewlyve 1500AXC (attività emicellulasica) e 4/6 Cellulyve 50 LC (attività cellulasica).
- 6.** Metodo secondo una qualunque delle rivendicazioni da 1 a 5, in cui detto trattamento con il detto preparato

enzimatico viene condotto ad una temperatura di compresa tra 40° e 70° C, e preferibilmente a 50°C.

7. Metodo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti da 1 a 6, in cui detto trattamento con il detto preparato enzimatico viene condotto ad un pH compreso tra 3 e 6 e preferibilmente di 4,5.

8. Metodo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti da 1 a 7, in cui detto trattamento enzimatico si protrae per un periodo compreso tra 3 e 6 ore.

9. Metodo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti da 1 a 8, in cui il solvente che viene utilizzato nella fase di estrazione è di preferenza è un solvente apolare aprotico,

10. Metodo secondo la rivendicazione 9, in cui detto solvente è esano oppure acetato di etile oppure una miscela di essi.

11. Metodo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti da 1 a 10, in cui detta matrice vegetale comprende lo scarto di lavorazione industriale del pomodoro.

12. Metodo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti da 1 a 10, in cui detta matrice vegetale comprende i prodotti della lavorazione del pomodoro.

13. Estratto di bucce di pomodoro, comprendente una oleoresina contenente licopene, ottenuto secondo il metodo della rivendicazione 11.

14. Estratto secondo la rivendicazione 13, in cui detta

oleoresina contiene almeno il 2% in licopene, e preferibilmente contiene il 4% in licopene.

CLAIMS

1. Method for extracting carotenoid substances from plant matrices, comprising the steps of: conditioning the plant matrix; treating the matrix with an enzymatic formulation in aqueous phase; extracting the mixture comprising the matrix and the enzymatic formulation with an organic solvent; separating the aqueous phase from the organic phase and recovering the enzymatic formulation; removing the organic solvent and purifying the so-obtained carotenoid substances.
2. Method according to claim 1, wherein the conditioning of the plant matrix is carried out by grinding and, if necessary, high-pressure homogenization.
3. Method according to claim 2, wherein said conditioning is carried out on a refining machine with a sieve of 3 mm or less in size.
4. Method according to any one of the preceding claims 1 to 3, wherein the enzymatic formulation includes pectinolytic enzymes, hemicellulase enzymes and cellulase enzymes.
5. Method according to claim 4, wherein the enzymatic formulation is of the following composition: 1/6 Peclyve PR or CP (pectinolytic activity), 1/6 Brewlyve 1500AXC (hemicellulase activity) and 4/6 Cellulyve 50 LC (cellulase activity).
6. Method according to any one of claims 1 to 5, wherein said treatment with said enzymatic formulation is carried out

at a temperature ranging from 40° to 70°C, and preferably at 50°C.

7. Method according to any one of claims 1 to 6, wherein said treatment with said enzymatic formulation is carried out at a pH ranging from 3 to 6, and preferably at pH 4.5.

8. Method according to any one of the preceding claims 1 to 7, wherein said enzymatic treatment is carried out over a time period ranging from 3 to 6 hours.

9. Method according to any one of the preceding claims 1 to 8, wherein the solvent to be used in the extraction step is preferably an apolar aprotic solvent.

10. Method according to claim 9, wherein said solvent is hexane or ethyl acetate or a mixture thereof.

11. Method according to any one of the preceding claims 1 to 10, wherein said plant matrix comprises the waste of industrial tomato processing.

12. Method according to any one of the preceding claims 1 to 10, wherein said plant matrix comprises tomato processing products.

13. Tomato skin extract comprising an oleoresin containing lycopene, obtainable according to the method of claim 11.

14. Extract according to claim 13, wherein said oleoresin includes at least 2% lycopene, and preferably it includes 4% lycopene.

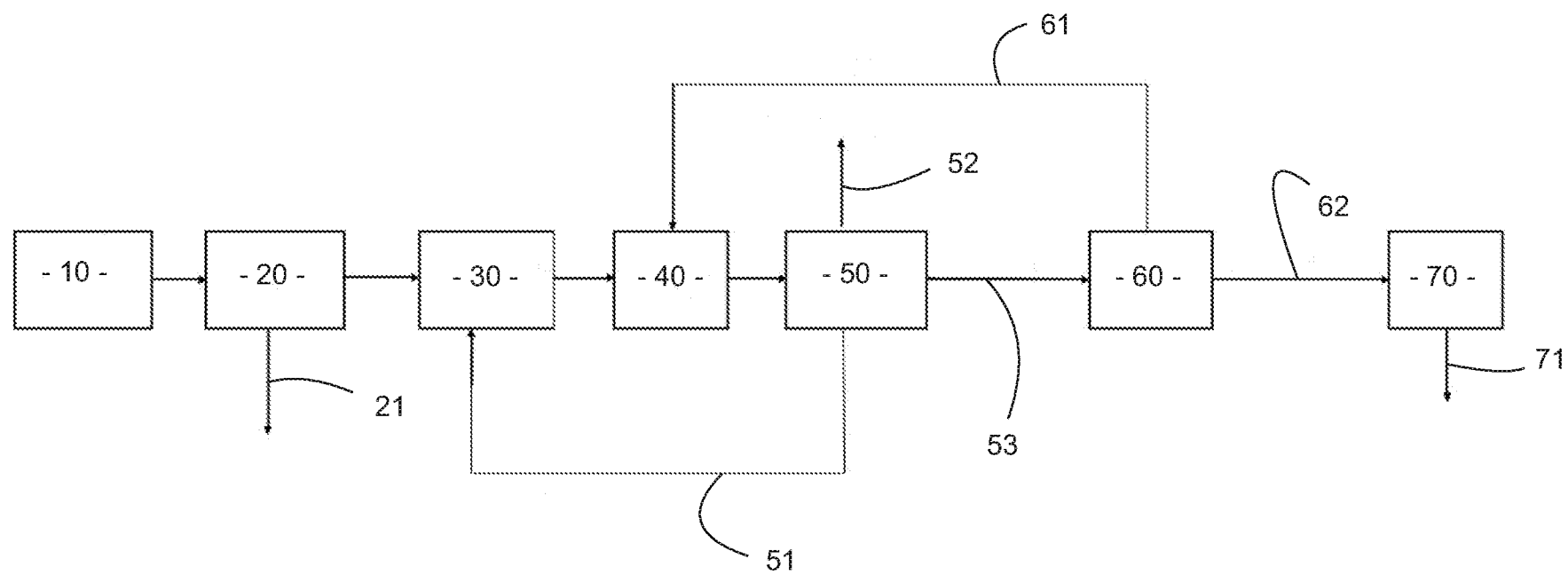


Fig. 1