(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 606 663**

(51) Int. Cl.:
C09B 61/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.02.2005 PCT/EP2005/001265**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **18.08.2005 WO05075575**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.02.2005 E 05715277 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016 EP 1716210**

(54) Título: **Composiciones que contienen isómeros cis de carotenoides y método correspondiente**

(30) Prioridad:

10.02.2004 EP 04002853
06.07.2004 EP 04015865

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.03.2017

(73) Titular/es:

NESTEC S.A. (100.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH

(72) Inventor/es:

BORTLIK, KARLHEINZ;
RICHELLE, MYRIAM;
LAMBELET, PIERRE y
SAUCY, FRANCOISE

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 606 663 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

Composiciones que contienen isómeros *cis* de carotenoides y método correspondiente

La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de una composición primaria que incluye al menos un material que contiene carotenoide enriquecido en isómeros cis del compuesto carotenoide.

Antecedentes de la invención

Las composiciones disponibles en el mercado que incluyen carotenoides, concretamente licopeno, ya son conocidas. El licopeno es un producto natural que se sabe que tiene múltiples tareas, en particular la de un antioxidante que alivia las enfermedades crónicas.

El licopeno está presente en diversos productos naturales, en particular tomates, melones, guayabas y pomelos. La composición generalmente disponible en el mercado que comprende licopeno es una oleorresina. El problema con esta oleorresina es que el licopeno presente en la misma está insuficientemente biodisponible.

Por ejemplo, la patente europea 278 284 se refiere a una composición pulverulenta que comprende un carotenoide sintético. El problema con esta composición es que no puede usarse en el campo de la alimentación y, además, está ideada con un fin colorante.

Aunque el documento EP 1 289 383 proporciona una composición primaria que incluye al menos un compuesto bioactivo lipófilo y una proteína de lactosuero en una cantidad eficaz para aumentar la biodisponibilidad del compuesto bioactivo lipófilo, aún existe la necesidad de un producto que contenga carotenoide que tenga mayor biodisponibilidad y bioeficacia que los productos actualmente en el mercado. La composición que contiene carotenoide debe ser soluble en lípidos y en disolventes orgánicos menos propensos a cristalización, y debe tener una tendencia inferior a agregarse.

El artículo "Thermal interconversion among 15-cis-, 13-cis- and all trans-.beta.-carotene: kinetics, Arrhenius parameters, thermochemistry, and potential relevance to anticarcinogenicity of all-trans-. beta.-carotene", W. Von Doering et. al., Journal of the American Chemical Society, vol. 117, n.º 10, 1 de marzo de 1995 (1995-03-01), páginas 2747-2757), XP055023033 describe la interconversión térmica de licopeno entre licopeno trans a cis en un zumo de tomate y los resultados sobre su absorción por los seres humanos. La composición del zumo de tomate una vez calentado presenta una relación de *cis:trans* de licopeno de 20 - 30 (todo *cis*) : 80 - 70 (*trans*).

Sumario de la invención

Por consiguiente, un primer objetivo de la invención es proporcionar una proceso para la preparación de una composición primaria que comprende someter a un material que contiene carotenoide a condiciones suficientes para aumentar su contenido en isómeros *cis* hasta una cantidad eficaz para aumentar la biodisponibilidad y/o la bioeficacia del compuesto carotenoide en la composición primaria. Dichas condiciones son el objetivo de la reivindicación 1.

La composición primaria de la invención se somete adicionalmente a una solubilización de los isómeros *cis* en disolventes orgánicos seleccionados seguida por separación de fases usando centrifugación o filtración.

De forma ventajosa y como se describe en la siguiente descripción, la relación de isómero *cis:trans* del compuesto carotenoide en la composición primaria es de 30:70 a 90:10.

Preferiblemente y de acuerdo con la invención, el compuesto carotenoide es licopeno, zeaxantina, astaxantina, β-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno o fitoeno, y donde el material que contiene carotenoide está en forma de un extracto, de un concentrado o de una oleorresina.

El material que contiene carotenoide es un extracto, un concentrado o una oleorresina obtenida, extraída, enriquecida o purificada de forma ventajosa de una planta o de un material vegetal, microorganismo, levadura o producto de origen animal.

La forma preferida de la composición primaria es como un aditivo en un producto alimentario para administración oral, tal como en una composición nutritiva, en un suplemento alimentario, en un pienso para mascotas, en una preparación cosmética o en una preparación farmacéutica.

De acuerdo con la invención, la composición primaria está integrada en un producto alimentario, en un suplemento alimentario, en una preparación cosmética o en una preparación farmacéutica que contiene la misma.

La composición primaria que usa el proceso de la invención comprende al menos un material que contiene carotenoide enriquecido en isómeros *cis*, para la preparación de una composición oral, cosmética o farmacéutica

pretendida para mejorar la salud de la piel, en particular para la fotoprotección de la piel o para proteger el tejido de la piel contra el envejecimiento.

La composición primaria puede usarse para la preparación de una composición oral, cosmética o farmacéutica para prevenir o tratar enfermedades cardiovasculares o cánceres.

La presente invención ahora hace que esté disponible para el consumidor una composición mejorada obtenida de productos naturales. Proporciona una composición primaria que tiene un contenido de isómeros *cis* de carotenoide mayor de las composiciones existentes. La composición primaria proporciona carotenoides en una forma altamente biocompatible y/o bioeficaz particularmente, que es muy soluble en lípidos, menos propensa a cristalización y que tiene una tendencia inferior a agregarse.

Las características de la presente invención pueden entenderse mejor junto con objetivos adicionales y ventajas por referencias a la siguiente descripción, tomada en relación con los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 muestra un cromatograma de HPLC típico de isómeros de licopeno generados por irradiación de microondas, que ilustra los productos obtenidos por el proceso de acuerdo con la presente invención.

La Fig. 2 resume la ventaja de la irradiación de microondas frente al calentamiento convencional.

La Fig. 3 muestra cromatogramas comparativos de HPLC de isómeros de licopeno: (A) generados por irradiación de microondas de oleorresina de tomate; (B) generados por irradiación de microondas y enriquecido por fraccionamiento en disolvente.

La Fig. 4 muestra cromatogramas de HPLC de isómeros de licopeno: (A) generados por fotoisomerización catalizada por yodo de oleorresina de tomate; (B) generados por fotoisomerización catalizada por yodo y enriquecidos por fraccionamiento en disolvente.

La Fig. 5 muestra cromatogramas comparativos de HPLC de isómeros de licopeno: (A) generados por calentamiento de oleorresina de tomate en acetato de etilo; (B) generados por calentamiento de oleorresina de tomate en acetato de etilo y enriquecidos por fraccionamiento en disolvente.

Descripción detallada de la invención

De acuerdo con el primer objetivo, se describe un proceso para preparar una composición primaria que comprende un material que contiene carotenoide enriquecido en isómeros *cis* de dicho compuesto carotenoide.

En una realización preferida, el material que contiene carotenoide está en forma de un extracto, de un concentrado o de una oleorresina, por ejemplo. Dentro de la siguiente descripción, se entiende que el término "oleorresina" significa un extracto lipídico de un material que contiene carotenoide, que incluye carotenoides, triglicéridos, fosfolípidos, tocoferoles, tocotrienoles, fitosteroles y otros compuestos menos significativos.

De forma ventajosa, el material que contiene carotenoide es un extracto, un concentrado o una oleorresina, que se obtiene, extrae, enriquece o purifica de una planta o material vegetal, de un microorganismo, de una levadura o de un producto de origen animal. Se somete adicionalmente a un tratamiento para aumentar su contenido de isómeros *cis* de carotenoide, como se describe a continuación.

Si la fuente de carotenoides es de origen vegetal, pueden ser verduras, hojas, flores, frutos y otras partes de la planta. En una realización preferida, la fuente de carotenoides es de tomates (es decir, tomate completo, extracto de tomate, pulpa de tomate, puré de tomate, piel de tomate, con o sin las semillas), zanahorias, melocotones, albaricoques, naranjas, melones, guayabas, papayas, pomelos, rosa mosqueta, soja, té verde, granos de café verdes, especias tales como jengibre u otras, uvas y cacao, por ejemplo. Los concentrados de plantas o de vegetales adecuados se pueden obtener, por ejemplo, secando o secando por congelación las plantas frescas o las verduras o las raíces, los frutos o las semillas respectivas de los mismos y después moliendo opcionalmente o granulando el material secado. Los métodos adecuados para obtener extractos de las plantas o de verduras mencionados anteriormente son conocidos en la técnica. Los extractos de plantas o de verduras se pueden obtener, por ejemplo, extrayendo de las plantas o las verduras frescas o procesadas o de las raíces, frutos o semillas respectivas de los mismos, por ejemplo, con agua o con uno más disolventes de calidad alimentaria o con una mezcla de agua y uno o más disolventes de calidad alimentaria. Preferiblemente, los extractos y concentrados de acuerdo con la presente invención pueden ser lipídicos o acuoso. Como los carotenoides son liposolubles, la extracción con agua retirará os constituyentes indeseados que son solubles en agua tales como los azúcares, aminoácidos, proteínas solubles, ácidos orgánicos, por ejemplo.

Si el material que contiene carotenoides se obtiene de un microorganismo, puede usarse cualquier microorganismo

que produzca carotenoides, en particular microorganismos probióticos, tales como bacterias acidolácticas, por ejemplo. Además, el producto de origen animal puede ser de salmón, camarones, por ejemplo, o un extracto hepático o una fracción de leche. Se entiende que la expresión "fracción de leche" significa cualquier parte de la leche.

En una realización más preferida, el material que contiene carotenoide es una oleorresina. Los métodos adecuados para obtener oleorresinas de las plantas o verduras mencionadas anteriormente son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la oleorresina se obtiene por extracción lipídica usando un disolvente compatible con el sector alimentario, cosméticos o agentes farmacéuticos. Las oleorresinas preparadas por métodos convencionales tienen un contenido de carotenoides de aproximadamente el 0,05 % al 50 % en peso. Su contenido del isómero todo trans de carotenoides es habitualmente mayor del de isómeros *cis*, por ejemplo, la relación de isómeros cis-trans de licopeno en una oleorresina de tomate seleccionada es de aproximadamente 7:93. Las oleorresinas son un material de partida preferido para obtener la composición primaria de acuerdo con la presente invención, porque contienen otros carotenoides o antioxidantes tales como vitamina E, que también estabilizan la composición. La actividad y estabilidad del compuesto carotenoide en la oleorresina se mejora, en particular, durante el proceso de isomerización y también se aumenta el rendimiento del cis-licopeno en la composición primaria.

El material que contiene carotenoide preferiblemente incluye carotenos y xantofilas, tales como licopeno, caroteno, zeaxantina, astaxantina, β-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno o fitoeno, por ejemplo. Dichos compuestos carotenoides se han sometido a un tratamiento para aumentar la fracción de isómero-cis en la composición primaria.

El objetivo de la invención es proporcionar un proceso para la preparación de dicha composición primaria que comprende la etapa de someter a un material que contiene carotenoide como se describe anteriormente, en condiciones suficientes para aumentar su contenido en isómeros *cis* de carotenoide hasta una cantidad eficaz para aumentar la biodisponibilidad y/o bioeficacia del compuesto carotenoide en la composición primaria.

El material que contiene carotenoide que está en forma de un extracto, de un concentrado o de una oleorresina, se somete a una irradiación de microondas. Las condiciones de la irradiación de microondas dependen de la cantidad y calidad del material. Si se usa una oleorresina, la potencia y tiempo se ajustan de modo que la temperatura del horno microondas sea de al menos 100 ºC, preferiblemente de 100 a 180 ºC y mucho más preferiblemente de 115 a 140 ºC. Si se usa un extracto acuoso, puede usarse un medio adaptado para irradiación de microondas. El objetivo del medio es solubilizar o dispersar los carotenoides. Las pérdidas pueden minimizarse cuando se realiza la isomerización en nitrógeno en presencia de antioxidantes y en ausencia de luz. El rendimiento de isomerización también puede mejorarse añadiendo lípidos exógenos en el medio.

Los isómeros del compuesto que contiene carotenoide generado de los mismos pueden someterse a un tratamiento adicional pretendido para modificar el perfil de isómeros de la composición primaria de acuerdo con el uso pretendido. El enriquecimiento en algunos isómeros *cis* específicos puede conseguirse por solubilización de los isómeros *cis* en disolventes orgánicos seleccionados, seguido por separación de fases usando, por ejemplo, centrifugación o filtración.

La relación de isómero *cis:trans* en la composición primaria entonces puede aumentarse hasta al menos 20:80, preferiblemente entre 20:80 y 95:5, más preferiblemente de 30:70 a 90:10.

El proceso de la presente invención por tanto conduce a una composición primaria, en forma de un polvo, líquido o gel, que comprende un compuesto carotenoide que tiene una mejor biodisponibilidad y/o bioeficacia que el compuesto en solitario. Además, la composición primaria puede estar en forma de una composición altamente dispersable en agua, si se elige la forma en polvo. En este caso, el polvo es dispersable en agua a temperatura ambiente. La composición primaria también proporciona carotenoides en una forma altamente soluble particularmente en lípidos y en disolventes orgánicos, menos propensa a cristalización y que tiene una tendencia inferior a agregarse.

La composición primaria obtenida por el proceso de la invención puede usarse en solitario o en asociación con otros compuestos activos tales como vitamina C, vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles), carotenoides (carotenos, licopeno, luteína, zeaxantina, β-criptoxantina, etc.), ubiquinonas (por ejemplo, CoQ_{10}), catequinas (por ejemplo, galato de epigalocatequina), extractos de café que contienen polifenoles y/o diterpenos (por ejemplo, kahweol y cafestol), extractos de achicoria, extractos de ginkgo biloba, extractos de uva o de semillas de uva ricos en proantocianidinas, extractos de especias (por ejemplo, romero), extractos de soja que contienen isoflavonas y fitoestrógenos relacionados y otras fuentes de flavonoides con actividad antioxidante, ácidos grasos, por ejemplo, ácidos grasos n-3, fitosteroles, fibras prebióticas, microorganismos probióticos, taurina, resveratrol, aminoácidos, selenio y precursores de glutatión, o proteínas, tales como proteínas de lactosuero, por ejemplo.

La composición comprende adicionalmente uno o más emulsionantes, estabilizantes y otros aditivos. Se hace uso de emulsionantes compatibles en el campo de la alimentación, tal como fosfolípidos, por ejemplo, lecitina; mono o triestearato, monolaurato, monopalmitato, mono o trioleato de polioxietilen sorbitán; un mono o diglicérido. Puede

hacerse uso también de cualquier tipo de estabilizante que sea conocido en el sector alimentario, en cosmética y en agentes farmacéuticos. Se hace uso, como aditivos, de aromatizantes, colorantes y cualquier otro aditivo conocido en el sector alimentario, en cosmética y en agentes farmacéuticos. Estos emulsionantes, estabilizantes y aditivos se añaden de acuerdo con el uso final de la composición primaria.

Una realización adicional se refiere a una composición oral que comprende la composición primaria descrita anteriormente en un producto alimentario, en un suplemento alimentario, en un pienso para mascotas, en una preparación cosmética o en una preparación farmacéutica.

En una realización adicional, una composición alimentaria para consumo humano se suplementa por la composición primaria anterior. Esta composición puede ser una fórmula completa nutritiva, un producto lácteo, una bebida refrigerada o de larga duración, un agua mineral, una bebida líquida, una sopa, un suplemento dietético, un remplazo alimentario, una barra nutritiva, un artículo de repostería, una leche o un producto de leche fermentada, un yogur, un polvo basado en leche, un producto de nutrición enteral, una fórmula infantil, un producto nutricional infantil, un producto de cereales o un producto basado en cereales fermentados, un helado, un chocolate, café, un producto culinario tal como mahonesa, puré de tomate o un aliño para ensaladas o un pienso para mascotas.

En este caso, el polvo se disuelve en los alimentos o bebidas mencionados anteriormente para obtener una ingesta diaria entre 0,001 y 50 mg de carotenoides contenidos en la composición primaria, por ejemplo, tal como licopeno. Preferiblemente se prevé una ingesta diaria del orden de aproximadamente 5 a 20 mg por día.

El suplemento nutricional para administración oral puede estar en capsulas, capsulas de gelatina, capsulas blandas, comprimidos, comprimidos recubiertos de azúcar, píldoras, pastas o pastillas, gomas, o soluciones o emulsiones bebibles, jarabes o geles, con unas dosis de aproximadamente el 0,001 al 100 % de la composición primaria, que después puede tomarse directamente con agua o por cualquier otro medio conocido. Este suplemento también puede incluir un edulcorante, un estabilizante, un aditivo, un aromatizante o un colorante. Un suplemento con fines cosméticos puede comprender adicionalmente un compuesto activo con respecto a la piel. Los métodos para prepararlos son de conocimiento común.

En otra realización, puede administrarse una composición farmacéutica para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se administran a un paciente que ya padece una enfermedad, como se describe en este documento, en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Una cantidad adecuada para conseguir esto se define como "una dosis terapéuticamente eficaz". Las cantidades eficaces para esto dependerán de la gravedad de la enfermedad y el peso y estado general del paciente.

En aplicaciones profilácticas, las composiciones de acuerdo con las realizaciones se administran a un paciente susceptible a o de otro modo en riesgo de una enfermedad particular. Dicha cantidad se define como "una dosis profilácticamente eficaz". En este uso, las cantidades precisas de nuevo dependen del estado de salud y el peso del paciente.

Los compuestos de las realizaciones descritas en este documento se administran preferiblemente con un vehículo aceptable farmacéutico, difiriendo la naturaleza del vehículo con el modo de administración, por ejemplo, vía parenteral, intravenosa, oral y tópica (incluyendo oftálmica). La formulación deseada puede prepararse usando una diversidad de excipientes incluyendo, por ejemplo, calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina celulosa sódica, carbonato de magnesio. Esta composición puede ser un comprimido, una cápsula, una píldora, una solución, una suspensión, un jarabe, un suplemento oral seco, un suplemento oral húmedo, un alimento por sonda seco, un alimento por sonda húmedo, etc.

Preferiblemente, para seres humanos la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención comprende una cantidad de la composición primaria descrita anteriormente para una administración diaria, de modo que la cantidad de carotenoides es de aproximadamente 0.01 mg a 100 mg. Cuando se administra diariamente a mascotas, la cantidad de carotenoides es de aproximadamente 0,01 mg a 100 mg.

Se apreciará que los expertos en la materia seleccionarán, basándose en su propio conocimiento, los componentes apropiados y forma galénica para dirigir el compuesto activo al tejido de interés, por ejemplo, la piel, colon, estómago, riñón o hígado, teniendo en cuenta la vía de administración que puede ser mediante inyección, aplicación tópica, administración intranasal, administración por sistemas de liberación sostenida implantados o transdérmicos, y similares.

El proceso de la presente invención también se refiere a una composición cosmética que comprende la composición primaria descrita anteriormente. Puede formularse en lociones, champús, cremas, protectores solares, cremas para después del sol, cremas antienvejecimiento y/o pomadas, por ejemplo. En este caso, el contenido de composición primaria es entre 10^{-10} y el 10 %. La composición cosmética preferiblemente comprende entre el 10^{-8} y el 5 % de compuesto carotenoide. Esta composición que puede usarse de forma tópica adicionalmente comprende una grasa o un aceite que puede usarse en cosmética, por ejemplo, las mencionadas en el CTFA work, Cosmetic Ingredients

Handbook, Washington. También es posible añadir otros ingredientes cosméticamente activos. La composición comprende adicionalmente un agente de estructuración y un emulsionante. También pueden añadirse otros excipientes, colorantes, fragancias u opacificantes a la composición. Se apreciará que los presentes productos cosméticos contendrán una mezcla de diferentes ingredientes conocidos para los expertos en la materia, asegurando una rápida penetración de la sustancia objetivo en la piel y evitando la degradación de la misma durante el almacenamiento.

El efecto de una suplementación alimentaria en la composición primaria de acuerdo con el proceso de la presente invención, sobre la piel de seres humanos o de mascotas, puede medirse usando métodos convencionales incluyendo dosis mínima eritematosa (MED), colorimetría, pérdida de agua transepitelial, reparación de ADN (por ejemplo, p.53), medición de interleuquinas y producción de proteoglicanos, o actividad colagenasa, función de barrera o renovación celular o ecografía por ultrasonidos.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención en más detalle sin restringir la misma a estos. Todos los porcentajes se dan en peso salvo que se indique lo contrario.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de una composición primaria por tratamiento de microondas

Se someten 25 g de oleorresina de licopeno fabricada por LycoRed Natural Products Industries, Ltd. en Israel, a un tratamiento de microondas de 150 segundos a 2,45 GHz a una temperatura de aproximadamente 105 ºC. La composición primaria así obtenida se enfría en nitrógeno para evitar la degradación de los carotenoides. La relación del isómero *cis:trans* para el licopeno es de aproximadamente 65:35 en la composición resultante.

Ejemplo 2 (Referencia):

Preparación de una composición primaria por tratamiento térmico

Se isomerizan 0,28 g de oleorresina (licopeno Indena al 10 %) en 30 ml de acetato de etilo por calentamiento durante 1 h a reflujo en una atmosfera de nitrógeno y evaporación del disolvente a presión reducida. La relación de isómero *cis:trans* es de aproximadamente el 35 % después del calentamiento.

Ejemplo 3 (Referencia):

Preparación de composición primaria por reacción de radicales

Se mezclan 2 g de oleorresina (licopeno Indena al 10 %) en 100 ml de CH_2Cl_2 con 116 µl de solución de yodo (2,8 mg de yodo en 298 µl de CH_2Cl_2). La mezcla se fotoisomeriza durante 1 h 50 minutos a temperatura ambiente y se retira el disolvente a presión reducida. La relación de isómero *cis:trans* es de aproximadamente el 77 % después de la fotoisomerización.

Ejemplo 4 (Referencia):

Preparación de una composición primaria por reacción térmica

Se mezclan 10 g de pasta de tomate (Thomy) con 10 g de aceite de girasol alto oleico (Trisun) a temperatura ambiente. La mezcla se calienta usando un calentador de placa durante 15 minutos (temperatura final 100 ºC). La relación de isómero *cis:trans* es igual al 40 % después del calentamiento.

Ejemplo 5: Comparación de la isomerización de licopeno por tratamiento de microondas y calentamiento convencional

Se mide el rendimiento de la isomerización de una oleorresina de tomate de LycoRed Natural Products Industries, Ltd. en Israel, que se trató por microondas o por calentamiento convencional (baño de aceite).

Para esto, se irradió a una oleorresina de tomate (Lycored al 6 %) en viales de vidrio en un horno microondas (2,45 GHz) durante diversos periodos de tiempo hasta 150 s. Al final de cada periodo de exposición se midió la temperatura en la muestra de oleorresina. Después de enfriarlas, las muestras se disolvieron en n-hexano (que contenía 200 ppm de BHT) y se analizaron por HPLC para la formación de isómeros. Adicionalmente, se calentaron oleorresinas de tomate en viales de vidrio en un baño de aceite a las mismas temperaturas que las medidas previamente al final de los tratamientos de microondas. Se retiraron inmediatamente del baño de aceite, se dejaron enfriar y se analizaron del mismo modo que las muestras irradiadas con microondas. El método de HPLC para la determinación del isómero de licopeno se adaptó de Schierle et al. (1997) Food Chem. 59,459-65.

Los resultados se ilustran en las Figuras 1 y 2. La Fig. 1 muestra que se generaban isómeros predominantemente 9 y 13-*cis* de licopeno por irradiación de microondas, además de algunos otros isómeros no identificados y el licopeno *todo-trans* restante. La Fig. 2 muestra que la isomerización del licopeno es más fuerte en la oleorresina tratada por microondas y las temperaturas necesarias para generar isómeros *cis* eran inferiores en comparación con las muestras calentadas de forma convencional.

En conclusión, las microondas son un método muy eficaz para generar isómeros geométricos de licopeno.

Ejemplo 6: Cantidad de isómeros *cis* de licopeno en oleorresina de tomate procesada y fraccionada

El perfil de isómeros de licopeno en una oleorresina de tomate de Indena, spa., se determina por HPLC como en el Ejemplo 5, para comparar los siguientes tratamientos:

- isomerización de licopeno por tratamiento de microondas de 2 g de oleorresina (Indena, al 10 %) a 2,45 GHz durante 90 s (Fig. 3A) seguido por resuspensión en etanol, centrifugación (13.000 x g, 5 minutos, temperatura ambiente), rechazo de la fracción sólida y evaporación del disolvente a presión reducida (Fig. 3B)

- generación de isómeros de licopeno por fotoisomerización catalizada por yodo (1 h 50 min.) de 2 g de oleorresina (Indena, al 10 %) en CH_2Cl_2 (Fig. 4A), seguida por evaporación de CH_2Cl_2, resuspensión en etanol, centrifugación (13.000 x g, 5 minutos, temperatura ambiente), resuspensión de la fracción sólida en acetato de etilo, centrifugación (13.000 x g, 5 minutos, temperatura ambiente), rechazo de la fracción sólida y evaporación del disolvente a presión reducida (Fig. 4B)

- isomerización de licopeno llevando a reflujo 0,28 g de oleorresina (Indena, al 10 %) en 30 ml de acetato de etilo durante 1 h (Fig. 5A), seguida por evaporación de acetato de etilo, resuspensión en etanol, centrifugación (13.000 x g, 5 minutos, temperatura ambiente), rechazo de la fracción sólida y evaporación del disolvente a presión reducida (Fig. 5B)

Resultados

La Fig. 3A muestra que el tratamiento de MW de oleorresina de tomate inducía la formación de una amplia gama de isómeros *cis* de licopeno. La Fig. 3B muestra que el fraccionamiento con disolvente aumenta específicamente la relación de isómero *cis* a *trans* en oleorresina de tomate tratada con MW.

La Fig. 4A muestra que se forma predominantemente el isómero *5-cis* durante la fotoisomerización de oleorresina de tomate. La Fig. 4B muestra que se recuperan casi exclusivamente los isómeros todo-*trans* y *5-cis* después del fraccionamiento con disolvente.

La Fig. 5A muestra que el isómero *13-cis* se forma predominantemente durante un corto tiempo de reflujo de la oleorresina de tomate en acetato de etilo. La Fig. 5B muestra que se retiene principalmente el isómero *13-cis* en la fracción soluble después del fraccionamiento con disolvente.

Ejemplo 7: Cosmético para administración oral

Una composición en forma de una capsula dura tiene la siguiente formulación:

Composición	mg por cápsula
Composición primaria del Ejemplo 1	250
Excipiente para el núcleo de recubrimiento	
Celulosa microcristalina	70
Encompress TM	60
Estearato de magnesio	3
Sílice coloidal anhidra	1
Agente de recubrimiento	
Goma laca	5
Talco	61
Sacarosa	250
Polividona	6
Dióxido de titanio	0,3
Agente colorante	5

La composición puede administrarse al individuo en una cantidad de 2 a 3 cápsulas al día.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de una composición primaria, que comprende someter un material que contiene carotenoide a un tratamiento que aumenta su contenido en isómeros *cis* del compuesto carotenoide en el que dicho tratamiento es irradiación por microondas.

2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición primaria se somete adicionalmente a una solubilización de isómeros *cis* en disolventes orgánicos seleccionados seguido por separación de fases usando centrifugación o filtración.

3. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que la relación de isómero *cis:trans* del compuesto carotenoide en la composición primaria es de 30:70 a 90:10.

4. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el compuesto carotenoide es licopeno, zeaxantina, astaxantina, β-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno o fitoeno, y en el que el material que contiene carotenoide está en forma de un extracto, de un concentrado o de una oleorresina.

5. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el material que contiene carotenoide se obtiene, extrae o purifica de una planta o material vegetal, microorganismo, levadura o producto de origen animal.

6. El proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la planta o material vegetal es tomates, zanahorias, melocotones, albaricoques, naranjas, melones, guayabas, papayas, pomelos, rosa mosqueta, soja, té verde, granos verdes de café, especias, uvas o cacao.

7. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la composición primaria está en forma de líquido, gel o polvo.

8. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la composición primaria se integra en un producto alimentario, en un suplemento alimentario, en un pienso para mascotas, en una preparación cosmética o en una preparación farmacéutica.

9. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el producto alimentario se elige del grupo que consiste en una fórmula completa nutricional, un producto lácteo, una bebida refrigerada o de larga duración, un agua mineral, una bebida líquida, una sopa, un suplemento dietético, un remplazo alimentario, una barra nutritiva, un artículo de repostería, una leche o un producto de leche fermentada, un yogur, un polvo basado en leche, un producto de nutrición enteral, una fórmula infantil, un producto nutricional infantil, un producto de cereales o un producto basado en cereales fermentados, un helado, un chocolate, café, un producto culinario o un pienso para mascotas.

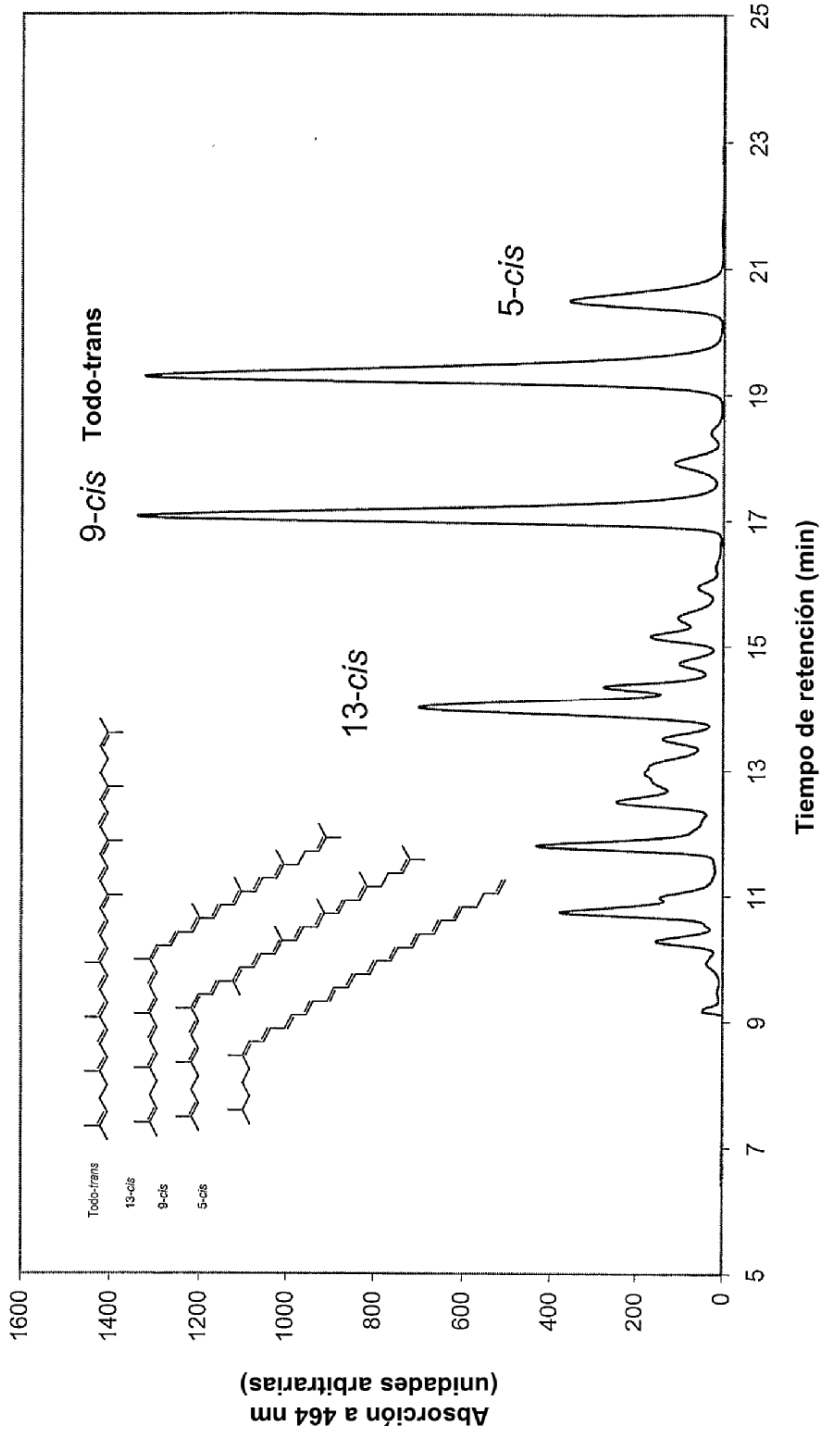


Figura 1: Cromatograma típico de HPLC de isómeros de licopeno obtenidos por irradiación con microondas de oleorresina de tomate. Los picos identificados están marcados

Figura 2: Isomerización de licopeno en oleorresina de tomate por irradiación con microondas en comparación con calentamiento convencional

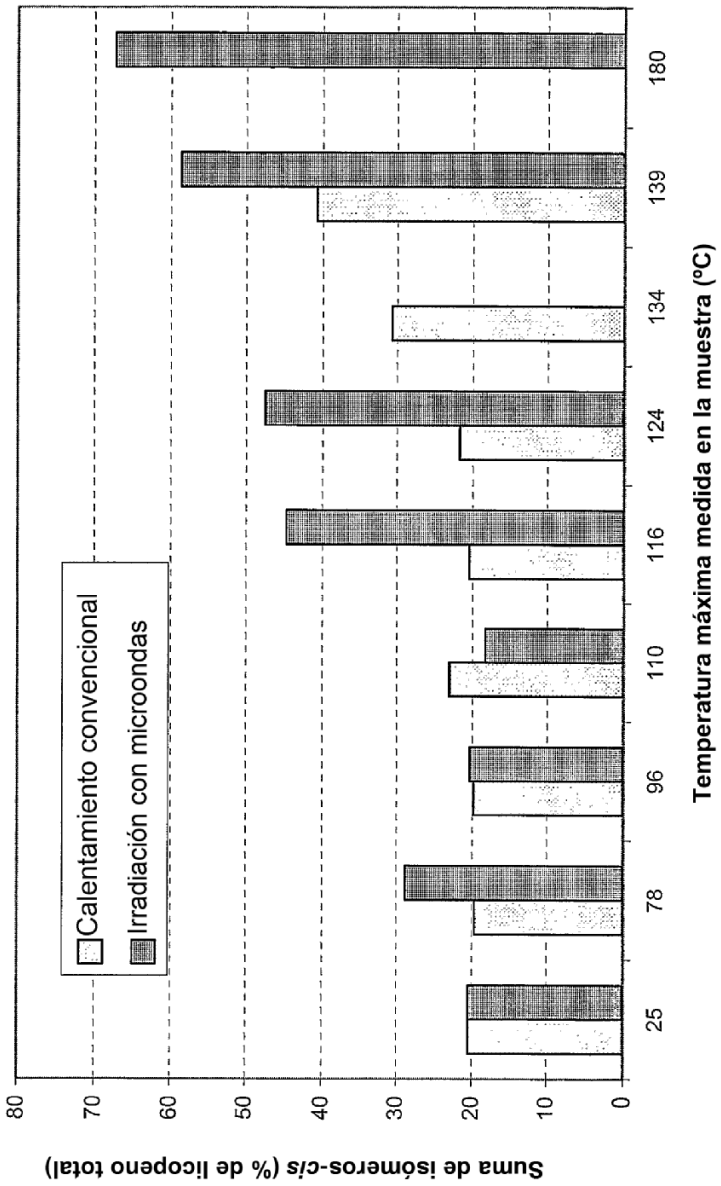
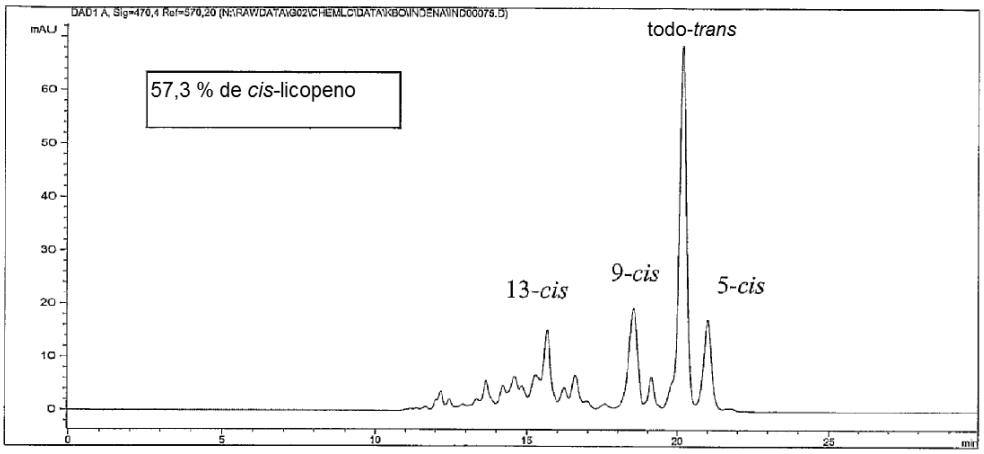


FIGURA 3

A


mAU
57,3 % de *cis*-licopeno
todo-*trans*
13-*cis*
9-*cis*
5-*cis*
min

B

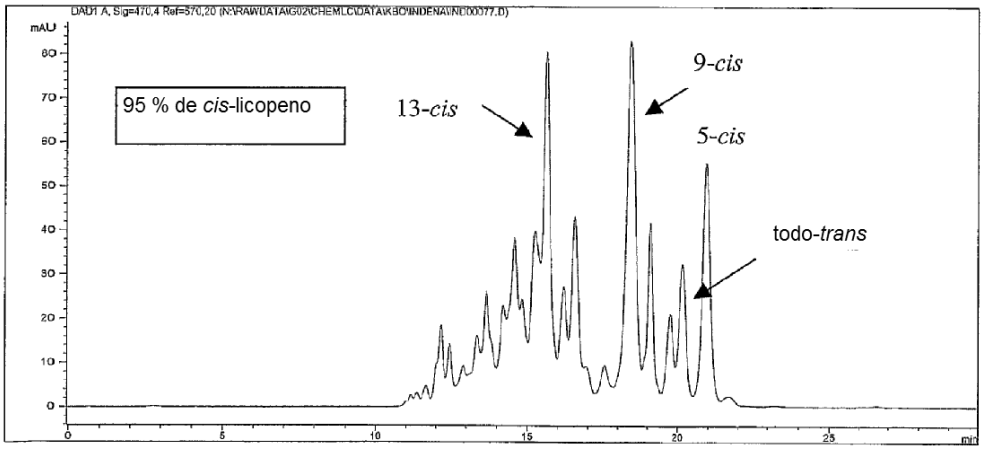
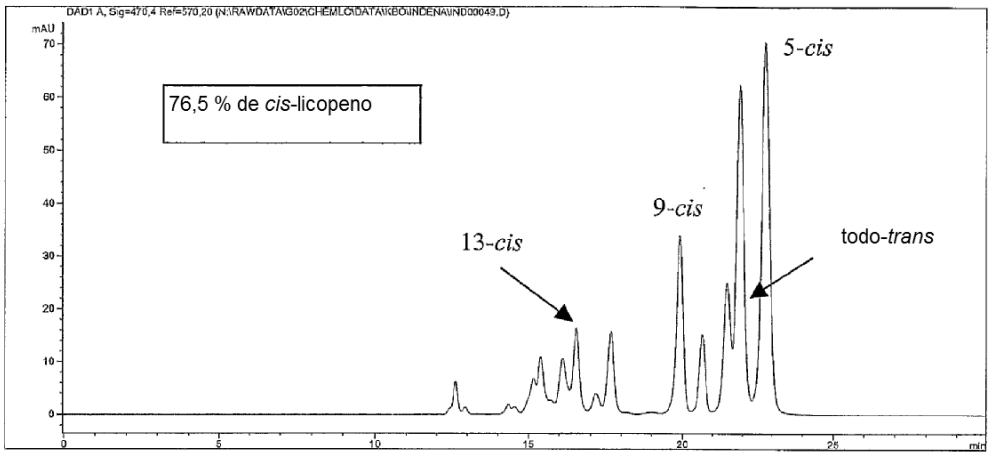

mAU
95 % de *cis*-licopeno
13-*cis*
9-*cis*
5-*cis*
todo-*trans*
min

FIGURA 4

A


76,5 % de *cis*-licopeno
13-*cis*
9-*cis*
5-*cis*
todo-*trans*
mAU
min

B

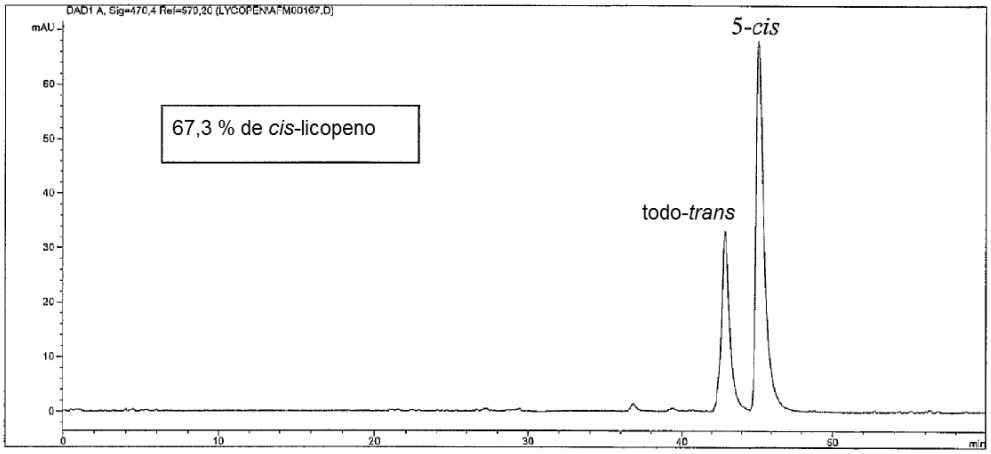
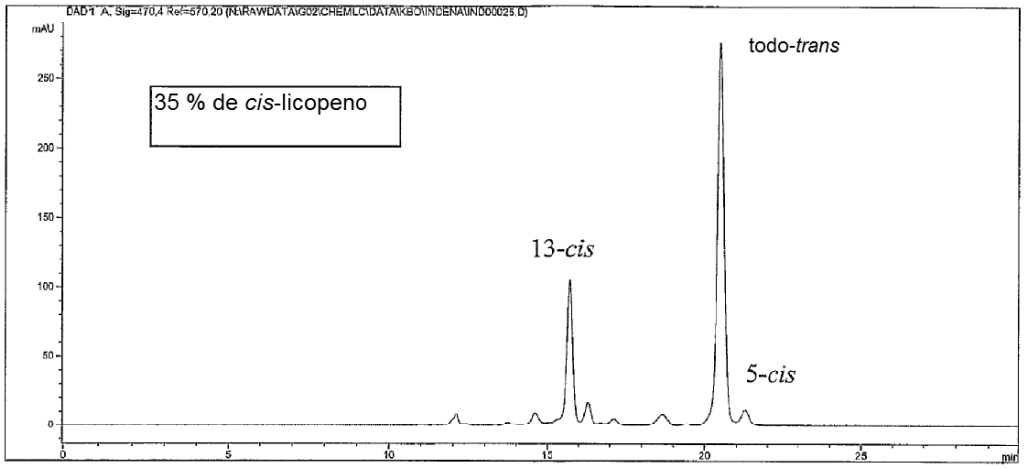
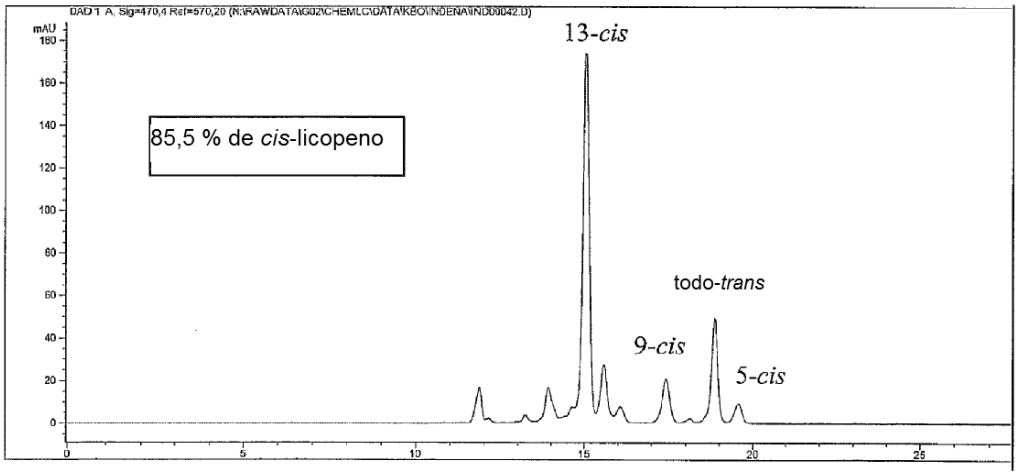

67,3 % de *cis*-licopeno
5-*cis*
todo-*trans*
mAU
min

FIGURA 5

A


DAD1 A, Sig=470,4 Ref=570,20 (N:\RAWDATA\G02\CHEMLC\DATA\KBO\INDENA\IND00025.D)
mAU
35 % de *cis*-licopeno
13-*cis*
todo-*trans*
5-*cis*
min

B


DAD1 A, Sig=470,4 Ref=570,20 (N:\RAWDATA\G02\CHEMLC\DATA\KBO\INDENA\IND00042.D)
mAU
85,5 % de *cis*-licopeno
13-*cis*
9-*cis*
todo-*trans*
5-*cis*