

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 311 394**

21 Número de solicitud: 200700555

51 Int. Cl.:  
**A23D 9/007** (2006.01)  
**A23L 1/30** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación: **22.02.2007**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **01.02.2009**

Fecha de la concesión: **06.10.2009**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **21.10.2009**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**21.10.2009**

73 Titular/es: **Universidad de Granada  
Hospital Real - Cuesta del Hospicio, s/n  
18071 Granada, ES**

72 Inventor/es:  
**García-Granados López de Hierro, Andrés y  
Parra Sánchez, Andrés**

74 Agente: **No consta**

54 Título: **Alimento funcional obtenido por reincorporación de ingredientes naturales de la aceituna al aceite de oliva.**

57 Resumen:

Alimento funcional obtenido por reincorporación de ingredientes naturales de la aceituna al aceite de oliva, aprovechando componentes beneficiosos naturales contenidos originalmente en la aceituna y que eliminan del aceite resultante en el usual procesado industrial de la aceituna, principalmente la de los ácidos oleanólico y/o maslínico y los biofenoles tirosol y/o hidroxitirosol.

ES 2 311 394 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Alimento funcional obtenido por reincorporación de ingredientes naturales de la aceituna al aceite de oliva.

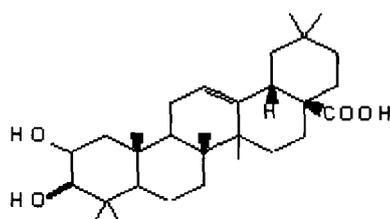
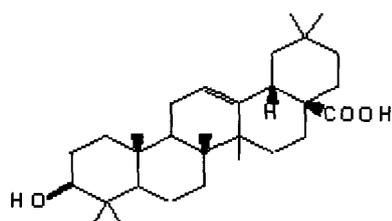
5 La presente invención se refiere a un aceite de oliva virgen o extra virgen que comprende un extracto terpénico y un extracto biofenólico. Más particularmente un extracto terpénico con una riqueza mayor del 80% de ácido maslínico y un extracto biofenólico con una riqueza mayor del 60% en hidroxitirosol. Además, la presente invención se refiere al uso de dicho aceite como alimento funcional y a su procedimiento de obtención.

10 **Estado de la técnica anterior**

El cultivo del olivo posee una gran importancia en los países templados de casi todo el mundo. Su aprovechamiento principal es el aceite de oliva, del que en España se produce actualmente más de un millón de Tm. Los procedimientos clásicos para la molturación de la aceituna y la producción de aceite son los denominados de “tres fases”, tanto en forma continua como discontinua. Mediante estos procedimientos, además del aceite, se obtienen subproductos tales como el alpechín, fracción acuosa de la aceituna con o sin adición de agua, y los orujos de diversos tipos, que son generalmente extraídos para un adicional aprovechamiento de aceite. En la actualidad, además de los procedimientos de tres fases, se utiliza el denominado de “dos fases” en el que, además del aceite, se obtiene una masa que contiene los restos de la pulpa y, usualmente aunque no siempre, el hueso de la aceituna, mezclados con el agua de vegetación, dando lugar a un subproducto que se conoce con el nombre de “alpeorujo”.

El ácido oleanólico (3-betahidroxi-28-carboxioleanano) es un ácido triterpénico ubicuamente repartido en el reino vegetal. Así, la base de datos fitoquímica del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos [<http://probe.nalusda.gov:8300/cgi-bin/browse/phytochemdb>] recoge su presencia en casi un centenar de plantas, entre las que se encuentra la *Olea europaea*, así como una serie de actividades biológicas comprobadas (antiabortivo, anticariogénico, antifertilidad, antihepatotóxico, antiinflamatorio, antisarcómico, preventivo del cáncer, cardiotónico, diurético, hepatoprotector y uterotónico). Son continuas las publicaciones sobre la posible actividad biológica de este ácido y de sus glicósidos. Así, se ha estudiado su actividad como inhibidor de la proliferación de células leucémicas [Essady, D., Najid, A., Simo, A., Denizot, Y., Chulia, A.J. and Delage, C.; *Mediators of Inflammation* (1994) 3, 181-184], como hipoglucemiante [Yoshikawa, M., Matsuda, H., Harada, E., Mukarami, T., Wariishi, N., Murakami, N. And Yamahara, J.; *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, (1994) 42, 1354-1356] antitumoral [Ohigashi, H., Mukarami, A. and Koshimizu, K *ACS Symposium Series* (1994) 547, 251-261], productor de efectos antagonistas en el shock anafiláctico [Zhang, L.R. and Ma, T.X.; *Acta Pharmacológica Sinica* (1995)16, 527-530], hepatoprotector [Liu, J., Liu, Y.P., Parkinson, A. and Klaassen, C.D.; *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, (1995) 275, 768-774; Connolly, J.D. and Hill, R.A. *Natural Product Reports* 12, 609-638 (1995)], antiinflamatorio [Recio, M.D., Giner, R.M., Manez, S. And Rios, J.L.; *Planta Medica* (1995) 61, 182-185]. Se ha publicado una revisión específica de la actividad farmacológica del ácido oleanólico [Liu, J. *Journal of Ethnopharmacology* (1995) 49, 57-68]. Quizás la mejor prueba del interés que suscita a nivel mundial está en las patentes internacionales que sobre este ácido existen: “Use of oleanolic acid as a vasodilator and restorer agent for endothelial dysfunction” (WO2004ES00190 20040430); “Cosmetic and dermatopharmaceutical compositions for skin prone to acne” (WO2002fr03344 20021001); “Cosmetic composition for care of sensitive skin includes oleanolic acid or vegetable extract rich in oleanolic acid, and at least one other vegetable extract chosen from shea-butter flower and solanum lycocarpum” (FR20000008758 20000705); “Process for preparing food products fortified with oleanolic acid” (US19990468637 19991222); “Oleanolic acid-based anti-pruritus agent” (JP19970183075 19970623); “Angiogenesis inhibitor composition comprising oleanolic acid” (KR19920021117 19921111).

El ácido maslínico (2-alfa,3-betadihidroxi-28-carboxioleanano), también denominado ácido crataególico, es un ácido mucho menos repartido en la naturaleza, habiendo sido detectado en una decena de plantas [<http://probe.nalusda.gov:8300/cgi-bin/browse/phytochemdb>]. Se conoce su actividad como antihistamínico y antiinflamatorio [<http://probe.nalusda.gov:8300/cgi-bin/browse/phytochemdb>], aunque su escasez hace que no se haya estudiado extensamente. El aislamiento de los ácidos oleanólico y maslínico de las ceras de la superficie del fruto de la *Olea europaea*, ha sido descrito [Bianchi, G., Pozzi, N. And Vlahov, G. *Phytochemistry* (1994) 37, 205-207] mediante la extracción metanólica de olivas previamente lavadas con cloroformo. La separación de este tipo de ácidos ha sido descrita mediante cromatografía en contracorriente de alta velocidad (HSCCC) [Du, Q.Z., Xiong, X.P. and Ito, Y., *Journal of Liquid Chromatography* (1995) 18, 1997-2004].

**Ácido oleanólico****Ácido maslínico**

25 Otros derivados del ácido oleanólico, como el ácido equinocístico (16-hidroxioleanólico) han demostrado efectos inhibidores frente a la replicación del HIV en células H-9 con valores  $EC_{50}$  de 2.3 mM [*Anti AIDS agents, 21. Triterpenoid saponins as anti-HIV principles from fruits of Gleditsia japonica and Gymnocladus chinensis, and a structure-activity correlation*, Konoshima, Takao; Yasuda, Ichiro; Kashiwada, Yoshiki; Cosentino, L. Mark; Lee, Kuo-Hsiung, *J. Nat. Prod.*, 58(9), 1372-7, (1995)]. Otros muchos derivados directos han demostrado ser antagonistas del leucotrieno  $D_4$  [*Leukotriene D4 antagonists in Tripterygium wilfordii*, Morota, Takashi; Saitoh, Kazuko; Maruno, Masao; Yang, Chun-Xin; Qin, Wan-Zhang; Yang, Bing-Hui, *Nat. Med.*, 49(4), 468-71 (1995)] y lo más esperanzador es que una búsqueda farmacófora de inhibidores de proteasas del HIV-1, realizada en el Instituto Nacional del Cáncer (Bethesda, USA) ha señalado a un derivado del ácido maslínico como una base prometedora del desarrollo futuro en esta actividad [*Discovery of Novel, Non-Peptide HIV-1 Protease Inhibitors by Pharmacophore Searching*, Wang, Shaomeng; Milne, G. W. A.; Yan, Xinjian; Posey, Isadora; Nicklaus, Marc C.; Graham X Lisa; Rice, William G., *J. Med. Chem.*, 39(10), 2047-54 (1996)]. Se ha descubierto recientemente que el ácido maslínico posee una potente actividad inhibidora *in vitro* de la proteasa del virus del sida (HIV-1) [*Anti-HIV Triterpene Acids from Geum japonicum*, Xu, H.X.; Zeng, F.; Wan, M.; Sim, Keng-Yeow *J. Nat. Prod.*, 59(7), 643-645 (1996)]. Como resultado de las pruebas biológicas que hemos realizado se han registrado, hasta ahora, dos patentes por la Universidad de Granada para la obtención de medicamentos como inhibidores de proteasas para el tratamiento de las enfermedades producidas por los protozoos del género *Cryptosporidium* (P9701029 "Utilización de ácido maslínico como inhibidor de serín-proteasas para el tratamiento de enfermedades causadas por parásitos de género *Cryptosporidium*"). Además, los ensayos realizados sobre línea celular MDCK muestran un porcentaje de inhibición de infección 92,3% a 37 mg/mL. En el caso de los virus causantes del sida, las pruebas han dado lugar a una patente (P9702528 Utilización de ácido maslínico como inhibidor de proteasas para el tratamiento de la enfermedad causada por los virus de la inmunodeficiencia adquirida), ya que se ha demostrado que puede actuar intracelularmente y que inhibe considerablemente la salida del virus desde la célula infectada hacia el medio, mecanismo que parece que funciona con el concurso de serín proteasas. Más recientemente, los Departamentos de Farmacología y Química Orgánica de la Universidad de Granada han efectuado un estudio de hepatoprotección con magníficos resultados, lo que se recoge en la publicación "*Antioxidant Activity of Maslinic Acid, a Triterpene obtained from Olea europaea*" [M. Pilar Montilla, Ahmad Agil, M. Concepción Navarro, M. Isabel Jiménez, Andrés García-Granados, Andrés Parra y Matilde Cabo, *Planta Medica* 2003, 69, 472-474], comprobándose que el ácido maslínico disminuye los niveles de lipoperóxidos y la susceptibilidad de los hepatocitos de membrana a la peroxidación lipídica (LPO), produciendo por tanto una resistencia en ratas al estrés oxidativo. Por otra parte, investigadores de la Universidad de Granada han realizado detalladas experiencias empleando como animales de experimentación la trucha arcoiris, demostrando que al añadir en su alimentación ciertas cantidades de ácido maslínico redunda en una mejora importantísima del órgano y de la función hepática y, por tanto, en la salud del animal.

Como en el caso del anteriormente mencionado ácido oleanólico, se están registrando un gran número de patentes en las que el ácido maslínico actúa como componente activo: "Antitumor agent" (US20030355201 20030131); "Apoptosis inductor" (WO2002JP13663 20021226); "Antiobestic foods and drinks" (WO2002JP11608 20021107); "External agent for the skin and whitening agent" (US20020259323 20020930); "Antiobesity drugs and materials thereof" (WO2002JP07709 20020730); "Drugs for vascular lesion" (WO2002JP03189 20020329); "Antitumor food or beverage" (WO2001 JP11374 20011225).

65 Tanto el ácido oleanólico como el ácido maslínico se encuentran abundantemente en la cera de la piel de las aceitunas [*The Lipids of Olea-Europaea .4. Pentacyclic Triterpene Acids in Olives*, Bianchi, G., Pozzi, N., Vlahov, G., *Phytochemistry*, 37(1), 205-207, (1994)]. Sin embargo, durante el proceso de molturación de la aceituna, sólo una

## ES 2 311 394 B2

pequeña cantidad de estos ácidos queda disuelto en el aceite virgen, cantidad que decrece, e incluso desaparece, en los procesos de refinado. Así, e independientemente de la variedad de aceituna original y del proceso de obtención del aceite por el sistema de dos fases o el de tres fases, la cantidad de ácido oleanólico presente en aceites virgen con índices de acidez inferiores al 0.5% es de un valor medio de unos 50 mg por kilo, con excepción del procedente de aceituna Arbequina que contiene casi 90 mg/kg. Las cantidades de ácido maslínico son muy similares en todos los casos. En los aceites vírgenes con índices de acidez comprendidos entre el 1% y el 9%, el contenido de ácido oleanólico se eleva hasta los 200 mg/kg, y cantidades también similares de ácido maslínico. No existe, sin embargo, una correlación lineal entre el grado de acidez y el contenido en estos ácidos. Así, un aceite virgen de aceituna Picual de acidez del 0.22% contiene 35 mg/kg de ácido oleanólico y 62 mg/kg de ácido maslínico. El aceite virgen también de Picual, con una acidez del 1.1% contiene unos 167 mg/kg de oleanólico y 145 mg/kg de ácido maslínico y otro aceite también de aceituna picual con un índice de acidez de 8.9% da valores de 216 mg/kg de oleanólico y 194 mg/kg de maslínico. Como era de esperar, el aceite de orujo contiene cantidades muy variables, pero siempre mayores, de estos ácidos: Entre 2000 y 8500 mg/kg de ácido oleanólico y entre 200 y 1500 mg/kg de maslínico. Sin embargo, el obligado proceso de refinado de este tipo de aceite elimina casi por completo estos ácidos sin el refinado es químico y sólo deja entre 30 y 100 mg/kg en el caso de refinado físico. El procedimiento de análisis del contenido de estos ácidos en aceites de alimentación ha sido establecido por investigadores del Instituto de La Grasa (C.S.I.C.) [M.C. Pérez\_Camino and A. Cert, *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, 1558-1562]. Una patente desarrollada y solicitada por la Universidad de Granada (P9601652, W098/04331 Procedimiento de aprovechamiento industrial de los ácidos 3betahidroxiolean-12-en-28-óico (oleanólico) y 2alfa,3beta-dihidroxiolean-12-en-28-óico (maslínico) contenidos en los subproductos de la molturación de la aceituna), permite obtener industrialmente estos dos ácidos, por separado y en alto grado de pureza, a partir de subproductos sólidos de la molturación industrial de la aceituna, por cualquiera de los procedimientos ahora empleados (prensas, continuo en tres fases y en el denominado de dos fases), lo que constituye una fuente asequible e inagotable de los mismos. El proceso de separación establecido es sumamente eficaz, permitiéndonos aislar estos productos a partir de las complejas mezclas originales. Esto nos permite disponer de los ácidos oleanólico y maslínico naturales recuperándolos de la propia aceituna previamente molturada y que por cuestiones de reparto en las condiciones de molturación se desechan en su mayoría en los subproductos industriales de esa molturación, desperdiciándose unos productos de evidente interés en alimentación y perdiendo el aceite comercial parte de sus propiedades beneficiosas.

Otro componente de la aceituna, es el denominado 3,4-dihidroxifeniletanol (hidroxitirosol), existen diferentes procesos de obtención del mismo. Así, Patente española de n° de solicitud: 9298236, describe un procedimiento fundamentalmente dirigido al aprovechamiento de hidroxitirosol a partir del alpechín de la aceituna obtenido por el procedimiento de tres fases, aunque aplicable a la parte acuosa contenida en el alpeorujo. Este procedimiento, consistente en la concentración del agua de vegetación, desengrasado del extracto, posterior extracción con acetato de etilo y separación de los contenidos de este extracto por procedimientos de cromatografía permitía aislar los biofenoles presentes en este extracto (fundamentalmente tirosol e hidroxitirosol) con alta pureza. Con posterioridad, las Patentes españolas de n° de solicitud 9300490 y 9300945, describen un procedimiento de obtención de manitol a partir de estos mismos subproductos del procesado de la aceituna. Al consolidarse el procedimiento de molturación hacia el llamado procedimiento de dos fases (sin agua añadida) surgen nuevos procedimientos destinados al aislamiento de hidroxitirosol: [*Production in Large Quantities of Highly Purified Hydroxytyrosol from Liquid-Solid Waste of Two-Phase Olive Oil Processing or "Alperujo"*] Juan Fernández-Bolaños, Guillermo Rodríguez, Rocio Rodríguez, Antonia Heredia, Rafael Guillén, and Ana Jiménez, *Agric. Food Chem.*, 50 (23), 6804 -6811(2002)], con diversos procedimientos patentados: "Method of obtaining a hydroxytyrosol-rich composition from vegetation water" (Patente española P200100346) (PCT/ES02/00058). También se han desarrollado métodos para aislar concentrados de hidroxitirosol a partir de aceitunas deshuesadas, tratando las aguas de vegetación con ácido cítrico e incubando posteriormente, para obtener el concentrado de hidroxitirosol sin solventes (US6197308 y US6165475).

Los concentrados de hidroxitirosol se comercializan con los nombres de Hidrox<sup>®</sup> y productos relacionados se describen en la patente estadounidense US6416808. En España se comercializan con el nombre de Hytolive<sup>®</sup> y en Portugal como Olidrox<sup>®</sup>. Es de destacar que las concentraciones que se consiguen de hidroxitirosol son entre bajas y muy bajas.

Además, del procedimiento descrito en las patentes con deshuesado previo, en los demás procesos de aislamiento, la línea de actuación consiste en un tratamiento hidrotérmico y provocar una hidrólisis previa de diversos compuestos naturales que estructuralmente contienen tirosol e hidroxitirosol, con o sin catálisis, realizar procesos de filtración con membranas y posteriormente aislar estos fenoles en mayor o menor grado de pureza mediante separación con diversos tipos de resinas de intercambio. Por otra parte, se ha desarrollado gran cantidad de procesos para el aislamiento de antioxidantes a partir de las hojas de olivo (EP1389465).

En la patente W098/04331 se describe un procedimiento de aprovechamiento industrial de los ácidos 3betahidroxiolean-12-en-28-óico (oleanólico) y 2alfa,3beta-dihidroxiolean-12-en-28-óico (maslínico) contenidos en los subproductos de la molturación de la aceituna, que permite obtener industrialmente estos dos ácidos, por separado y en alto grado de pureza, a partir de subproductos sólidos de la molturación industrial de la aceituna, por cualquiera de los procedimientos ahora empleados (prensas, continuo en tres fases y en el denominado de dos fases), lo que constituye una fuente asequible y prácticamente inagotable de los mismos.

En la solicitud de patente española ES200600536 "Procedimiento de aprovechamiento industrial de Tirosol e Hidroxitirosol contenidos en los subproductos sólidos de la molturación industrial de la aceituna" se describe un procedimiento para aislar, de una forma industrialmente rentable, un concentrado de biofenoles naturales mediante

procedimientos muy diferentes a los descritos en las patentes anteriormente citadas. El procedimiento empleado es eficaz y de muy bajo costo, teniendo en cuenta además de que se trata del aprovechamiento de un subproducto del procedimiento general utilizado para la obtención de los ácidos oleanólico y maslínico.

5 Por otro lado, los alimentos funcionales son aquellos que son desarrollados no sólo por sus características nutricionales sino también para cumplir una función específica como puede ser el mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. Para ello se les agregan componentes biológicamente activos, como minerales, vitaminas, ácidos grasos, fibra alimenticia o antioxidantes, etc. Como alimentos funcionales son conocidos los lácteos y otros alimentos de composición conocida de ácidos grasos omega-3 y de proporción adecuada con los ácidos omega-6, entre  
10 otros.

### Explicación de la invención

15 En la presente invención se proporciona un alimento funcional adicionando bifenoles (como los obtenidos a partir del procedimiento descrito en la solicitud de patente española ES200600536), a un aceite de oliva virgen o extra virgen, junto con cantidades a elegir de otros componentes, como podrían ser los ácidos oleanólico o maslínico. Es decir, se trata de reincorporar, al aceite de oliva, sus propios ácidos triterpénicos originarios de la aceituna productora del aceite y que han perdido en el proceso de molturación y/o refino, obteniéndose un producto alimenticio funcional.

20 Así, un primer aspecto de la presente invención se refiere a un aceite de oliva virgen o extra virgen que comprende un extracto terpénico con una riqueza mayor del 80% de ácido maslínico, y un extracto biofenólico con una riqueza mayor del 60% en hidroxitirosol. (A partir de ahora aceite de oliva de la invención).

25 En una realización preferida el hidroxitirosol se presenta su forma hidratada.

En otra realización preferida el extracto terpénico procede de aceituna o sus subproductos de molturación industrial. Preferiblemente del orujo obtenido en el procedimiento general de elaboración de un aceite de oliva común.

30 En otra realización preferida el aceite de la invención contiene entre 100 mg y 5000 mg de ácido maslínico por kilogramo de aceite, más preferiblemente entre 250 mg y 5000 mg de ácido maslínico por kg de aceite.

Además de ácido maslínico los extractos terpénicos pueden contener cantidades menores de tirosol (3%) y glicol de hidroxitirosol (3%) y componentes muy minoritarios naturales de la aceituna.

35 En otra realización preferida el aceite de la invención contiene entre 10 mg y 5000 mg de hidroxitirosol o sus hidratos por kilogramo de aceite.

40 Un segundo aspecto de la presente invención se refiere al uso del aceite previamente descrito como alimento funcional.

Hay dos puntos a destacar dentro del planteamiento de la producción y aplicación de los aceites virgen extra y aceites vírgenes de oliva funcionales:

45 1.- la adición conjunta de ácido maslínico e hidroxitirosol es importante porque se cubren funciones complementación frente a procesos de oxidación indeseables en el organismo. Así, el hidroxitirosol ejerce un efecto antioxidante de peróxido de hidrógeno pero no de anión superóxido producido por neutrófilos humanos ("*Antioxidant effect of hydroxytyrosol, a polyphenol from olive oil: scavenging of hydrogen peroxide but not superoxide anion produced by human neutrophils*", O'Dowd, Y. et al, *Biochemical Pharmacology*, 68, (2004) 2003-2008), mientras que el ácido maslínico, además, induce la supresión de estrés oxidativo y la producción de citoquinas en macrófagos ("*Suppressive effect of maslinic acid from pomace olive oil on oxidative stress and cytokine production in stimulated murine macrophages*" Márquez, A. et al, *Free Radical Research* (2006), 40, 295-302).

55 2.- se desconoce la existencia en el estado de la técnica de un tipo de aceite comestible y de calidad que contenga las dosis adecuadas de maslínico e hidroxitirosol, ya que los de orujo originales necesitan ser refinados con lo que se les elimina forzosamente el ácido maslínico y el hidroxitirosol que pudiesen contener. Es sumamente importante que a la hora de reintroducir los componentes originales de aceituna que le den carácter funcional al aceite de oliva virgen extra o al aceite de oliva virgen esta adición se haga con productos naturales de alta pureza y de composición controlada, tanto en lo que se refiere al ácido  
60 maslínico como a los biofenoles, evitando así añadirles otra gran cantidad de productos acompañantes de difícil determinación y control que modifican características organolépticas y de calidad de estos aceites funcionales.

65 Un tercer aspecto de la presente invención se refiere al proceso de obtención del aceite de oliva de la reivindicación, que comprende los siguientes pasos:

- (a) adición de un extracto terpénico, con una riqueza mayor del 80% de ácido maslínico, y

- (b) adición extracto biofenólico con una riqueza mayor del 60% en hidroxitirosol o sus hidratos, al aceite de oliva virgen o extra virgen.

Una realización preferida, las adiciones de los pasos (a) y/o (b) se llevan a cabo mediante calor.

5

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

10

### Ejemplos

Los ácidos oleanólico y maslínico utilizados para la preparación del alimento funcional de la presente invención, por restitución de los originalmente presentes en la aceituna, se podrán obtener mediante el procedimiento patentado la propia Universidad de Granada (W098/04331).

15

Para la obtención de 5 kg de oleanólico fue necesario procesar adecuadamente unos 1250 kg de orujo seco. Para la obtención de 5 kg de ácido maslínico fue necesario también procesar adecuadamente unos 1250 kg de orujo seco. El control de autenticidad se podrá realizar llevando a cabo la determinación de componentes minoritarios descritos como existentes en la cera de la piel de la aceituna descrito (Bianchi, G., Pozzi, N. And Vlahov, G. *Phytochemistry* (1994) 37, 205-207). De estos mismos 1250 kg de orujo seco se pudieron obtener, mediante el procedimiento contenido en la solicitud de patente ES200600536, unos 3 kg de biofenoles con proporciones variables, según interese, de hidroxitirosol y de tirosol.

20

25

El ácido maslínico que se adicionó al aceite de oliva tiene una riqueza mínima superior al 80%, estando acompañado tan sólo por otros terpenos del olivo entre los que destaca el ácido oleanólico en una proporción entre el 15 y el 18%. Por lo que respecta al hidroxitirosol, se adicionó un hidroxitirosol con aspecto de miel muy densa que contiene un 80% de biofenoles entre los que destaca el hidroxitirosol, generalmente en forma de hidrato estable (más del 90%) estando el 10% restante constituido por tirosol y el glicol del hidroxitirosol en cantidades similares. De esta forma se garantiza la composición final del aceite de oliva funcional puesto que la adición de otro tipo de componentes forzosa-mente introduce gran cantidad de productos indeseables en detrimento de la calidad de este aceite, haciendo inviable la adición. La adición de estos productos, sobre todo en dosis altas, deberán hacerse cuidadosamente dada la limitada cantidad de los mismos en los aceites comerciales, aunque esta solubilidad es variable en función del aceite de que se trate. En todo caso se pueden hacer pruebas previas de la capacidad de carga de los diversos tipos de aceites y la distribución de los productos se realizará partiendo de premezclas.

30

35

A continuación, se indican dos ejemplos concretos de la realización práctica del procedimiento objeto de la presente invención.

40

#### Ejemplo 1

Se partió de 1000 kg de aceite virgen extra procedente de la molturación de la aceituna por cualquiera de los procedimientos en uso e industrialmente adecuados, por lo que debe poseer un índice de acidez menor del 0.3%, y se asume que contiene un valor medio de 50 mg/kg de cada uno de los ácidos oleanólico y maslínico. Para una mayor precisión en el cálculo de contenidos, se puede proceder a un análisis por CG de los TMS derivados en la forma descrita en el mencionado proceso descrito en *J. Agric. Food Chem*, 1999, 47, 1558-1562. Posteriormente, y en función de las aplicaciones y características del alimento funcional a preparar, se añadió la cantidad de extracto terpénico natural con un contenido mayor del 80% en ácido maslínico hasta alcanzar la concentración adecuada que podrá estar comprendida desde su concentración original hasta aproximadamente, unos 5000 mg/kg. El extracto, de carácter pulverulento, se añadió, preferentemente en caliente, a unos 50 litros del aceite de oliva virgen extra que posteriormente se añadió al resto de los 1000 kg de la partida tomada como ejemplo. Igualmente, sobre los 1000 kg de aceite de partida, se añadió una cantidad de biofenoles naturales de aceituna, de carácter meloso, hasta que se introdujeron unos 5 kg de hidrato de hidroxitirosol natural con una riqueza mínima del 40% al que acompañan cantidades menores de tirosol (3%) y glicol de hidroxitirosol (3%) y otros componentes muy minoritarios naturales de la aceituna. Los biofenoles se añadieron disolviendo los mismos, de carácter líquido denso, preferentemente en caliente, en otros 50 litros del aceite de oliva que se añadieron al resto de los 1000 kg de la partida tomada como ejemplo.

50

55

#### Ejemplo 2

60

Se partió de 1000 kg de aceite virgen procedente de la molturación de la aceituna por cualquiera de los procedimientos en uso e industrialmente adecuados, por lo que debe poseer un índice de acidez mayor del 0.3%, y se asume que, como se ha explicado en el apartado anterior, contiene un valor medio de 250 mg/kg de cada uno de los ácidos oleanólico y maslínico. Si se desea mayor precisión en el cálculo de contenidos, se puede proceder a un análisis por CG de los TMS derivados en la forma descrita en el mencionado proceso descrito en *J. Agric. Food Chem*, 1999, 47, 1558-1562. Posteriormente, y en función de las aplicaciones y características del alimento funcional a preparar, se añadió la cantidad de extracto terpénico natural con un contenido mayor del 80% en ácido maslínico hasta alcanzar la concentración adecuada que estaba comprendida desde su concentración original hasta aproximadamente, pero no

65

## ES 2 311 394 B2

en forma limitante, unos 5000 mg/kg. El extracto, de carácter pulverulento, se añadió preferentemente en caliente, a unos 50 litros del aceite de oliva virgen extra que se añadió al resto de los 1000 kg de la partida tomada como ejemplo. Igualmente sobre los 1000 kg de aceite de partida, se podría añadir una cantidad de biofenoles naturales de aceituna, de carácter meloso, hasta que se introdujeron unos 5 kg de hidrato de hidroxitirosol natural con una riqueza mínima del 60% al que acompañaban cantidades menores de tirosol (3%) y glicol de hidroxitirosol (3%) y componentes muy minoritarios naturales de la aceituna. Los biofenoles se añadieron disolviendo los mismos de carácter líquido denso, preferentemente en caliente, en otros 50 litros del aceite de oliva que se añadió al resto de los 1000 kg de la partida tomada como ejemplo.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

## ES 2 311 394 B2

### REIVINDICACIONES

- 5 1. Aceite de oliva virgen o extra virgen que comprende un extracto terpénico con una riqueza mayor del 80% de ácido maslínico, y un extracto biofenólico con una riqueza mayor del 60% en hidroxitirosol.
2. Aceite de oliva virgen extra funcional según reivindicación 1, donde hidroxitirosol esta en forma hidratada.
- 10 3. Aceite de oliva virgen extra funcional cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 donde el extracto terpénico y/o el extracto biofenólico procede de aceituna o de sus subproductos de molturación industrial.
4. Aceite de oliva virgen según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que contiene entre 100 mg y 5000 mg de ácido maslínico por kilogramo de aceite.
- 15 5. Aceite de oliva virgen según reivindicación 4, que contiene entre 250 mg y 5000 mg de ácido maslínico por kg de aceite.
6. Aceite de oliva virgen según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que contiene entre 10 mg y 5000 mg de hidroxitirosol o sus hidratos por kilogramo de aceite.
- 20 7. Aceite de oliva virgen según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso como alimento funcional.
8. Proceso de obtención de aceite de oliva virgen según las reivindicaciones 1 a 6, que comprende los siguientes pasos:
- 25 a. adición de un extracto terpénico, con una riqueza mayor del 80% de ácido maslínico, y
- b. adición extracto biofenólico con una riqueza mayor del 60% en hidroxitirosol o sus hidratos, al aceite de oliva virgen o extra virgen.
- 30 9. Proceso de obtención de aceite de oliva virgen según reivindicación 8, donde las adiciones de los pasos (a) y/o (b) se llevan a cabo mediante calor.
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 311 394

② N° de solicitud: 200700555

③ Fecha de presentación de la solicitud: **22.02.2007**

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A23D 9/007** (2006.01)  
**A23L 1/30** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ES 2264880 A1 (UNIVERSIDAD DE GRANADA) 16.01.2007, todo el documento.	1-9
A	US 20040185157 A1 (KUNO, N. et al.) 23.09.2004, todo el documento.	1-9
A	US 20020172751 A1 (HUSKEN, H. et al.) 21.11.2002, todo el documento.	1-9
A	ES 2246603 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS) 16.02.2006, todo el documento.	1-9
A	WO 02052956 A1 (NISSHIN OIL MILLS LTD.) 11.07.2002, (resumen) BASE DE DATOS WPI [en línea], Thomson Corp., Philadelphia, USA, [recuperado el 21.05.2008]. Recuperado de WPI en EPOQUENET, (EPO), DW 200266, N° DE ACCESO 2002-619075.	1-9

#### 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  
18.12.2008

Examinador  
A. Maquedano Herrero

Página  
1/1