

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 451 011**

51 Int. Cl.:

B01J 19/18 (2006.01)

C07C 37/00 (2006.01)

C07C 39/11 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2008** **E 08702319 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2013** **EP 2049458**

54 Título: **Procedimiento para la producción de un extracto que contiene hidroxitirosol a partir de aceitunas y sólidos que contienen residuos de la extracción de aceite de oliva**

30 Prioridad:

26.01.2007 EP 07001791

23.07.2007 EP 07014390

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

26.03.2014

73 Titular/es:

PROBELTE PHARMA, S.A. (100.0%)
Ctra. Madrid, Km. 389 Polígono Industrial el Tiro
30100 Espinardo, Murcia, ES

72 Inventor/es:

LÓPEZ MÁS, JOSÉ A.;
STREITENBERGER, SERGIO A.;
PEÑALVER MELLADO, MARCOS y
MARTÍNEZ ORTIZ, PEDRO

74 Agente/Representante:

TORNER LASALLE, Elisabet

ES 2 451 011 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

Procedimiento para la producción de un extracto que contiene hidroxitirosol a partir de aceitunas y sólidos que contienen residuos de la extracción de aceite de oliva.

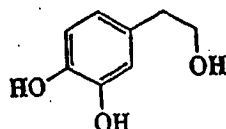
Campo de la invención

- 5 La presente invención versa acerca de un procedimiento para la producción de un extracto que contiene hidroxitirosol a partir de aceitunas y/o de los residuos de aceitunas portadores de sólidos tras la extracción del aceite de oliva. Más en particular, la invención versa acerca de la producción de extractos que contienen hidroxitirosol para ser usados como fuente de hidroxitirosol en las industrias alimentaria, médica y cosmética.

Antecedentes de la invención

- 10 Ahora es bien sabido que las aceitunas contienen varios compuestos bioactivos, en particular polifenoles; entre estos polifenoles, el hidroxitirosol es de importancia biológica sobresaliente en vista de su actividad antioxidante, antimicrobiana y neutralizante de radicales.

El hidroxitirosol tiene la fórmula siguiente:



- 15 La producción de hidroxitirosol a partir de residuos de aceituna tras la extracción del aceite fue y es investigada de forma activa; un procedimiento de extracción eficiente podría ser muy rentable, especialmente porque la cantidad principal de hidroxitirosol y de precursores de hidroxitirosol inicialmente presente en las aceitunas sigue en los residuos de la producción del aceite de oliva y solo se encuentra en el aceite una parte secundaria. El aceite de oliva virgen extra normalmente contiene 1-20 ppm de hidroxitirosol.

- 20 Los residuos de la extracción del aceite de oliva de interés para la presente solicitud excluyen las hojas de olivo, porque las hojas son eliminadas antes de la extracción del aceite. Además, la extracción de hidroxitirosol a partir de las hojas se enfrenta a composiciones de partida diferentes (y, por lo tanto, a problemas de extracción diferentes) que la extracción a partir de aceitunas o de residuos de la aceituna.

Los residuos de aceitunas obtenidos de los procedimientos de extracción del aceite de oliva de interés para la presente solicitud pueden clasificarse como:

- 25 – orujo, es decir, los residuos del prensado, que contienen sólidos, del procedimiento en tres fases (orujo), o del procedimiento en dos fases, en el que no se añade agua alguna a las aceitunas molidas en la etapa de centrifugación (alperujo). El orujo, el alperujo y el orujo desgrasado contienen una cantidad elevada de agua (45% a 70%). Los residuos de la extracción también comprenden orujillo, los sólidos secos de la aceituna, después de la extracción del aceite de orujo, que contiene menos de un 15% de agua y está casi libre de residuos del aceite.

- 30 En vista de la mayor cantidad de hidroxitirosol y del menor contenido de hidroximetilfurfural, se prefieren los extractos de aceitunas verdes de la invención a los extractos de residuos de la producción de aceite de oliva.

Para los fines de la presente descripción, la expresión "residuo" o "residuo sólido" designa tanto el orujo como el orujo desgrasado, el orujillo o el alperujo. Los materiales preferentes de partida para la presente invención son aceitunas, preferentemente aceitunas verdes, y los residuos.

- 35 Se conoce la realización de la hidrólisis ácida del orujo (o de agua de vegetación) para lograr la escisión del enlace éster en la molécula de oleuropeína y obtener hidroxitirosol.

- 40 El documento US-B-6361803 da a conocer la extracción de hidroxitirosol (y otros compuestos) mediante la hidrólisis neutra o ácida de residuos de pulpa de aceitunas a reflujo durante una hora (Ejemplo 12). Se carga la solución acuosa extraída en una columna de absorción XAD-7 que se eluye con metanol para recuperar el hidroxitirosol extraído. El documento US-B-6361803 requiere el uso de disolventes orgánicos polares para recuperar hidroxitirosol con un grado mínimo de pureza; además (Ejemplo 12), es necesaria la precipitación fría de algunas impurezas de la solución de metanol. Los disolventes acuosos polares se seleccionan entre metanol, etanol, acetonitrilo o acetona, mientras que los disolventes orgánicos polares se seleccionan, por ejemplo, entre ésteres, amidas, dimetilsulfóxido, dioxano, DMF y sus mezclas. La mayoría de estos disolventes son tóxicos y resulta muy difícil eliminarlos por completo del producto deseado de hidroxitirosol. En consecuencia, en el producto final se encontrarán trazas de los disolventes utilizados aun después de varias etapas de purificación, haciendo así que el hidroxitirosol obtenido según ese procedimiento no resulte adecuado para una aplicación sin riesgos en los campos alimentario, cosmético y farmacéutico. Además, el producto final no es adecuado para el uso en alimentos enriquecidos, particularmente

aceites comestibles, sin el uso de etanol y ácido acético como aditivos al extracto para obtener un producto alimentario estable: el producto alimentario resultante (extracto que contiene aceite más hidroxitirosol, etanol y ácido acético) no es aceptable en la industria alimentaria.

El documento WO 2004/005228 da a conocer la hidrólisis a temperatura ambiente de agua de vegetación obtenida de la extracción de aceite de oliva por incubación del agua de vegetación acidulada durante al menos dos meses y, preferentemente, 6-12 meses hasta que al menos el 50% (preferentemente el 90%) de la oleuropeína originalmente presente en el agua de vegetación se haya convertido en hidroxitirosol. Se extrae el agua de vegetación incubada con un disolvente orgánico, por ejemplo acetato de etilo, o se la pone en contacto con un fluido supercrítico (CO₂), para producir una fracción rica en hidroxitirosol. Los principales problemas de este procedimiento son el tiempo muy prolongado requerido para la incubación del agua de vegetación acidulada y el uso de disolventes orgánicos, que debería evitarse, particularmente cuando el producto final obtenido ha de usarse en los campos alimentario, cosmético y farmacéutico.

El documento US 2004/0102657 da a conocer una hidrólisis ácida con un procedimiento de explosión de vapor a altas temperaturas (aproximadamente 190-220°C). La solución obtenida se purifica primero parcialmente en una columna con resina de intercambio iónico no activada y, subsiguientemente, se carga en una columna no iónica de XAD, a partir de la cual se eluye el hidroxitirosol con metanol o etanol. El procedimiento da como resultado una producción deficiente de hidroxitirosol, considerando el procedimiento en su conjunto.

El documento EP 1582512 da a conocer un procedimiento para obtener hidroxitirosol a partir de extractos de hojas de olivo. Según ese documento, se someten extractos ya preparados de hojas de olivo a hidrólisis ácida a una temperatura de 70 a 100°C durante aproximadamente 4 horas.

Los ejemplos comparativos muestran que un pH de 1,5 acelera el tiempo de reacción (Ejemplos C1 y C2), que la purificación en resinas de adsorción requiere EtOH o MeOH y que debe llevarse la mezcla de reacción hasta un pH de 7,7 para recuperar el hidroxitirosol.

El documento US 2004/0176647 da a conocer un procedimiento de extracción de fenoles a partir de alperujo con agitación a 180-240°C en autoclave, en agua. No se añade ácido alguno, pero el tratamiento térmico da como resultado una "liberación de grupos acetilo" y una consiguiente reducción del pH (página 3, primer párrafo). Los productos son tirosol e hidroxitirosol, que se separan mediante HPLC con eluyente de ácido sulfúrico/acetonitrilo; esta separación mediante HPLC es únicamente para determinar el contenido de HT y tirosol; es, de hecho, el procedimiento analítico usado para cuantificar los productos de la reacción.

El documento EP 1623960 da a conocer un procedimiento de recuperación de hidroxitirosol y tirosol a partir del alpechín mediante filtrado en una instalación complicada que consiste en tres unidades (Ejemplo 1) y la subsiguiente separación. A continuación, se oxida el tirosol, convirtiéndolo en hidroxitirosol, en un disolvente prótico (alcohol o agua) para obtener un producto final que es semisintético. Además, el documento EP 1623960 da a conocer que la concentración por nanofiltración y la ósmosis inversa de aguas de vegetación (alpechín) se llevan a cabo con un pH neutro o alcalino (reivindicación 4). Este procedimiento tiene dos problemas importantes. Un primer inconveniente es que la degradación del hidroxitirosol aumenta en condiciones neutras y alcalinas, apareciendo productos no deseados que son difíciles de eliminar, y, además, debido al hecho de que no se lleva a cabo hidrólisis ácida alguna, el contenido de oleuropeína debería seguir siendo alto. En segundo lugar, el factor de concentración obtenible es deficiente; así, la concentración máxima permitida para el hidroxitirosol según el Ejemplo 1 (véase la Tabla 1) está en el intervalo entre 1,2 y 1,6 g/L.

El documento US 2004/0176647 da a conocer un procedimiento de extracción de fenoles a partir de alperujo con agitación a 180-240°C en autoclave, en agua. No se añade ácido alguno, pero el tratamiento térmico da como resultado una "liberación de grupos acetilo" y una presunta reducción consiguiente del pH (página 3, primer párrafo). No obstante, con los pH producidos en las condiciones descritas, la hidrólisis de oleuropeína dista de ser completa, lo que significa dos cosas: producciones menores de hidroxitirosol y oleuropeína hidrolizada remanente, que, según exponemos en lo que antecede, está asociada con un gusto desagradable en los productos alimentarios que contienen tales extractos, no siendo entonces adecuados para aplicaciones alimentarias. Los productos son tirosol e hidroxitirosol, que se separan mediante HPLC con eluyente de ácido sulfúrico/acetonitrilo.

En resumen, las técnicas mencionadas en lo que antecede son demasiado largas o demasiado complejas, o demasiado severas, o todo ello; esto da como resultado que la cantidad de oleuropeína restante, es decir, la cantidad que no se hidroliza, y/o la cantidad de subproductos de la hidrólisis, tal como el hidroximetilfurfural, sea lo suficientemente elevada como para dificultar las etapas de purificación subsiguientes.

Resumen de la invención

De hecho, el solicitante descubrió que la generación de subproductos es un problema mucho mayor en la producción de extractos de hidroxitirosol de lo que se había pensado anteriormente, según se presenta en los documentos de la técnica anterior presentados en lo que antecede: los materiales de partida, especialmente las aceitunas y el orujo, contienen, entre otros, una gran cantidad de compuestos fenólicos en forma de glucósido y/o

sus ésteres, incluyendo oleuropeína, ligstrósido, verbáscosido y varios flavonoides. Hay presentes varios otros compuestos naturales. Es muy fácil degradar los compuestos de partida en una plétora de subproductos.

Dado que los subproductos deben ser eliminados para purificar el hidroxitirosol, en la técnica conocida se requiere el uso de disolventes orgánicos para purificar el hidroxitirosol durante las etapas de purificación subsiguientes en columnas cromatográficas. El uso de disolventes orgánicos, por ejemplo metanol, cuando se eluye desde una columna de resina es inconveniente, particularmente cuando el producto final obtenido ha de ser usado en los campos alimentario, cosmético y farmacéutico.

Además, los extractos conocidos ricos en hidroxitirosol no son adecuados para ser usados como aditivos para alimentos, especialmente aceites comestibles.

Por lo tanto, existe la necesidad de un procedimiento de producción de un extracto que contenga hidroxitirosol que sea rico en hidroxitirosol y tenga un bajo contenido de productos de partida tales como la oleuropeína y los verbascósidos, y de su subproductos, particularmente hidroximetilfurfural y que, en general, tenga un contenido muy bajo en azúcares y sales.

Es un objetivo de la presente invención solucionar los problemas anteriormente mencionados y proporcionar un procedimiento de producción de hidroxitirosol a partir de aceitunas y/o de subproductos de la extracción del aceite de oliva que es simple, efectivo, barato y que da un producto de alta calidad libre de disolventes orgánicos y adecuado para su uso como aditivo para alimentos, cosméticos, etcétera.

Se logra tal objetivo por medio de la presente invención, que proporciona un procedimiento según la reivindicación 1.

Este procedimiento conlleva la hidrólisis ácida en agua de los materiales de partida a una temperatura que no supere los 140°C, preferentemente en el intervalo entre 70°C y 130°C, siendo lo más preferente por encima de la temperatura de reflujo, en el intervalo entre 110°C y 130°C y en una condición a presión, por ejemplo en un sistema de esterilización continua, a una presión en el intervalo de 0,068 a 0,138 MPa por encima de la presión atmosférica. El pH de la mezcla acidulada que experimenta la hidrólisis está en el intervalo de 1,0 a 6,0. Tras la hidrólisis, se aclara la mezcla mediante procedimientos físicos conocidos en la técnica, por ejemplo mediante filtración y/o centrifugación, para eliminar de la solución acuosa de la hidrólisis los sólidos suspendidos y para obtener una solución aclarada sustancialmente libre de sólidos en suspensión.

Los materiales de partida son aceitunas y orujo; es decir, los residuos de la extracción del aceite de oliva definidos en lo que antecede. Las aceitunas preferidas son las aceitunas verdes; preferentemente, el orujo está libre de aceite. El aceite se elimina antes o después de la etapa de hidrólisis por medios conocidos en la técnica (por ejemplo, los usados para preparar orujo desgrasado u orujillo) o mediante el uso de tierra diatomácea u otros medios de filtrado.

Según la invención, las anteriores etapas (hidrólisis ácida y aclarado) son seguidas por las etapas de carga del producto así obtenido en al menos una columna cromatográfica de una resina de intercambio iónico activada por ácidos y de elusión con agua de los productos retenidos en dicha columna cromatográfica.

En un aspecto preferente, la invención prevé una etapa de purificación adicional llevada a cabo mediante la carga de la solución eluida en agua, procedente de la primera columna (intercambio aniónico), en al menos una columna cromatográfica de resinas no iónicas adsorbentes y la elusión con agua de los productos retenidos en dicha segunda columna cromatográfica.

Según un aspecto adicional de la invención, el producto líquido se concentra; por ejemplo, mediante concentración por ósmosis inversa. Según una etapa adicional, tras la purificación cromatográfica y la concentración por ósmosis inversa, se lleva al producto líquido resultante a una forma sólida; por ejemplo, mediante liofilización, rotoevaporación al vacío o secado por pulverización, con o sin vehículos tales como maltodextrinas. Un objeto adicional de la invención son los extractos que contienen hidroxitirosol obtenibles según el procedimiento mencionado en lo que antecede. Estos extractos pueden estar en forma líquida o sólida y están caracterizados por tener un contenido de hidroxitirosol de al menos un 0,5% (p/p) y una pureza de al menos un 40% y, preferentemente, de al menos el 80% y más preferentemente de al menos el 95% (determinado por el área del pico de HPLC medida a 280 nm). Estos extractos están libres de disolventes orgánicos, de hidroximetilfurfural y también sustancialmente libres de azúcares y sales. Según un aspecto preferente de la invención, el producto líquido que contiene hidroxitirosol obtenible según la invención tiene un contenido de hidroxitirosol de al menos el 35% (p/p) o, aún más preferentemente, de al menos el 45% (p/p), una pureza de al menos el 90% (por HPLC a 280 nm) y un contenido total de fenoles de al menos el 35%. Según un aspecto más preferente de la invención, el producto sólido que contiene hidroxitirosol obtenible según la invención tiene un contenido de hidroxitirosol de al menos el 20% (p/p), una pureza de al menos el 90% (por HPLC a 280 nm) y un contenido total de fenoles de al menos el 20%.

Según un aspecto preferente de la invención, el producto sólido que contiene hidroxitirosol obtenible según la invención tiene un contenido de hidroxitirosol de al menos el 90% (p/p), una pureza de al menos el 90% (por HPLC a 280 nm) y un contenido total de fenoles de al menos el 92%.

El aparato, o planta, usado comprende un reactor para llevar a cabo la hidrólisis ácida a presión y al menos una columna cromatográfica que contiene una resina de intercambio aniónico activada por ácidos que es una resina de intercambio aniónico levemente básica eluible con agua, y al menos una columna cromatográfica que contiene una resina no iónica adsorbente que es una resina polimérica aromática reticulada macrorreticular.

5 La invención proporciona varias ventajas con respecto a las técnicas anteriores.

En primer lugar, la etapa de hidrólisis se lleva a cabo, según la presente invención, usando solo agua y ácido mineral, manteniendo la temperatura en el intervalo reivindicado por encima de la temperatura de reflujo usando una combinación de calentamiento y presión. Cuando se aplica presión junto con la temperatura reivindicada de calentamiento, la reacción resultante de hidrólisis se completa en casi aproximadamente media hora sin formación significativa de subproductos y con muy buena conversión del material de partida (oleuropeína) en el producto final deseado (hidroxitirosol). La etapa de hidrólisis según la presente invención permite obtener, en poco tiempo, una producción muy buena de hidroxitirosol junto con una ausencia muy completa de aquellos subproductos que son difíciles de eliminar y que, en cambio, según la técnica anterior, se forman en cantidades significativas.

La etapa de hidrólisis, llevada a cabo según la invención, permite otra ventaja. El uso combinado de ácidos y temperatura, junto con su objetivo principal, que es llevar a cabo la hidrólisis con una buena tasa de conversión y evitando la formación de subproductos perjudiciales, da como resultado la esterilización de la mezcla. De hecho, la etapa de hidrólisis proporciona la esterilización de la solución acuosa, es decir, de los productos implicados, que es muy útil, ya que el material de partida (por ejemplo, orujo) usado en los procedimientos para la preparación de hidroxitirosol suele proceder de materiales ya tratados y generalmente requiere algunos tratamientos previos de depuración-esterilización para dar un producto final de hidroxitirosol exento de riesgos. Dichos tratamientos previos de depuración-esterilización son, a menudo, tratamientos complejos y requieren etapas procedimentales adicionales que, al final del procedimiento completo, dan como resultado una menor producción del producto final deseado. Según la presente invención, la etapa de hidrólisis permite, a la vez, llevar a cabo la reacción de hidrólisis y proporcionar la esterilización necesaria de los productos implicados, evitando así la necesidad de llevar a cabo ninguna etapa de esterilización del material de partida, así como proporcionar un material hidrolizado que ya está listo para usos ulteriores, sin ningún tratamiento adicional de esterilización.

Además, la etapa de hidrólisis es seguida por al menos una etapa de purificación, que es llevada a cabo cargando el producto obtenido en la etapa de hidrólisis en al menos un sistema de una sola columna de cromatografía o en un sistema de dos columnas de cromatografía y eluyendo con agua el hidroxitirosol retenido en dichas columnas cromatográficas. En este caso, dado que hay cantidades muy pequeñas de subproductos provenientes de la etapa de hidrólisis, es posible hacer uso de una columna cromatográfica que puede ser eluida con agua en ausencia de cualquier disolvente orgánico, ya sea solo o mezclado con agua. Esto significa que ningún disolvente orgánico entra en contacto con el hidroxitirosol, obteniendo así un hidroxitirosol purificado que es particularmente adecuado para ser usado en los campos alimentario, cosmético y farmacéutico. Otra ventaja de la presente invención se debe a la etapa de concentración, que permite enriquecer el contenido de hidroxitirosol tras las etapas de purificación. Estas etapas de purificación producen un extracto líquido sustancialmente libre de azúcares y sales, lo que da como resultado una reducción muy importante de la presión osmótica durante la etapa de concentración del extracto líquido purificado, permitiendo así un factor de concentración muy elevado (hasta 350 veces). Esta etapa de concentración proporciona un "concentrado" caracterizado por un contenido elevado de hidroxitirosol, que puede ser usado directamente para tratamientos ulteriores. Según la técnica anterior, en la que habitualmente no se proporciona ninguna etapa de "concentración" o, cuando se proporcionan, tienen factores de concentración deficientes (aproximadamente de 2 a 5 veces) debido a la falta de una purificación previa que elimine azúcares y sales, en los procedimientos descritos para la preparación del hidroxitirosol, la concentración de hidroxitirosol en las soluciones/dispersiones procesadas es siempre muy baja, dando así como resultado la necesidad de operar con grandes volúmenes, con menores producciones consiguientes en el producto final.

Siempre según la presente invención, la posibilidad de obtener un producto final sólido que no esté mezclado con ningún vehículo, por ejemplo maltodextrinas, da la oportunidad de formular hidroxitirosol purificado según su uso final previsto y según cualquier requisito formal que pueda requerirse.

Breve descripción de los dibujos

50 Ahora se dará a conocer adicionalmente la invención con mayor detalle con referencia a los dibujos adjuntos, no limitantes, en los que:

– la Fig. 1 es una vista esquemática de un aparato; y

55 – las Figuras 2-4 son cromatogramas de tres productos que contienen hidroxitirosol según tres realizaciones del procedimiento de la invención.

Descripción de realizaciones preferentes

Con referencia a la Fig. 1, el aparato comprende un medio, o reactor, 1, preferentemente un sistema de esterilización continua, en el que se lleva a cabo la hidrólisis según el procedimiento de la invención.

Según se ha mencionado previamente, se lleva a cabo la hidrólisis a una temperatura que no supera los 140°C, en un reactor. Preferentemente, el intervalo de temperaturas está entre 70 y 130°C, y lo más preferible es que esté por encima de la temperatura de reflujo, en un intervalo entre 110 y 130°C, a una presión entre 0,068 y 0,138 MPa por encima de la presión atmosférica y durante un periodo en el intervalo de 15 a 45 minutos. Preferentemente, la temperatura de hidrólisis está en el intervalo de 118 a 126°C y, en la realización más preferente, se lleva a cabo la hidrólisis a 120-121°C, a 0,103 MPa (sobre la presión atmosférica) durante 30 minutos. Un reactor preferente es un sistema de esterilización continua.

El sistema 1 de esterilización continua está dotado del medio 2 de suministro para suministrarle los materiales de partida, concretamente los residuos o subproductos de la extracción del aceite de olivo, concretamente orujo (es decir, los residuos sólidos de las aceitunas prensadas). El sistema 1 de esterilización continua es adecuado para tratar materiales de partida en un procedimiento continuo, en contraposición a un procedimiento por lotes. Se proporciona de una forma conocida el medio calefactor 3 para calentar el reactor 1 hasta las temperaturas mencionadas anteriormente, por ejemplo como una camisa alrededor del reactor. El reactor 1 también está dotado de un suministro de agua desmineralizada 4 y de un medio 6 para agitar la mezcla acuosa del producto de partida. Habitualmente, la proporción entre agua y sólidos está en el intervalo de 1:1 a 4:1.

Se lleva a cabo el procedimiento de hidrólisis a un pH de 1,0 a 6,0, preferentemente de 1,0 a 3,0. La cantidad requerida de ácido, preferentemente ácido sulfúrico, se obtiene del tanque 5 de ácido.

La combinación de las condiciones ácidas y de la temperatura en los intervalos reivindicados da como resultado un procedimiento de hidrólisis que es rápido y eficiente y puede durar únicamente 30 minutos, a 120-123°C y una presión de 0,103 MPa por encima de la presión atmosférica. Además, el procedimiento también da como resultado la esterilización de los productos de hidrólisis.

La salida del sistema de esterilización continua, es decir, el reactor 1, está conectada con un filtro 7 para eliminar sólidos de la mezcla de reacción que contiene hidroxitirosol y otros fenoles. La porción filtrada es enviada entonces a un medio adicional de separación, preferentemente una centrifugadora 8, en la que se eliminan sólidos adicionales de la mezcla de reacción para obtener un líquido sustancialmente libre de sólidos suspendidos; es decir, una solución que es adecuada para la siguiente purificación. El líquido aclarado tras la centrifugación tiene un color parduzco y, preferentemente, se almacena en el depósito 9. El líquido aclarado A contiene ahora hidroxitirosol, un residuo de oleuropeína y cantidades menores de fenoles y otros productos. El cromatograma de la Fig. 2 muestra la composición y el porcentaje de los compuestos detectados en este líquido y se obtiene mediante HPLC a 280 nm; el pico mayor a los 9,317 minutos es hidroxitirosol y el pico a los 13,150 minutos es tirosol.

Según una realización preferente de la invención, el líquido A se concentra por evaporación o por filtración de flujo tangencial (TFF) (por ejemplo, usando un sistema de ósmosis inversa). Puede llevarse a cabo la etapa de concentración en el líquido A directamente o, preferentemente, tras una etapa de purificación por medio de al menos una columna cromatográfica. Con este fin, se conecta el tanque o depósito 9 de almacenamiento con el medio 10 de concentración, por ejemplo mediante TFF o, preferentemente, por ósmosis inversa, y con el medio de purificación.

El medio de purificación comprende en una realización un sistema de una sola columna que comprende una columna cromatográfica de una resina seleccionada de resinas de intercambio aniónico activadas por ácido. En otra realización preferente, el medio de purificación comprende, además de la primera columna recién mencionada de resinas de intercambio aniónico activadas por ácido, al menos una segunda columna cromatográfica adicional de una resina seleccionada de resinas no iónicas adsorbentes.

En otra realización más preferente, la resina de intercambio aniónico activada por ácido es una resina de intercambio aniónico levemente básica, y la resina no iónica adsorbente es un polímero aromático reticulado macrorreticular.

Las resinas de intercambio aniónico usadas como resina cromatográfica para la purificación de hidroxitirosol de la presente invención no están limitadas en particular, siempre que puedan ser activadas por ácidos. Ejemplos de resinas de intercambio aniónico levemente básicas incluyen resinas de tipo poliamina (incluyendo resinas quelantes de tipo poliamina), tales como productos de reacción de un copolímero de estireno/divinilbenceno y dietilenotriamina u otros; y resinas como productos de polimerización de compuestos que comprenden principalmente alilamina, vinilamina u otros; y resinas acrílicas, tales como copolímeros de divinilbenceno y compuestos amídicos que comprenden ácido acrílico o ácido metacrílico y dimetilaminopropilamina u otros. También pueden usarse otras resinas en las que la resina de intercambio aniónico levemente básica anteriormente mencionada esté parcialmente sustituida con grupos de intercambio fuertemente básicos, tales como trimetilamina, dimetiletanolamina u otros. Más específicamente, pueden usarse resinas conocidas en la técnica que se han usado hasta ahora; por ejemplo, Diaion WA10, WA20, WA21 y WA30 (Mitsubishi Chemical), Amberlite IRA-35, IRA-67 (IRA-68), IRA-93ZU, IRA-94S, IRA-478 (Rohm & Haas), WGR-2 (Dow Chemical) y otras. Según el procedimiento de la invención, estas resinas son activadas por ácidos antes de ser usadas, preferentemente con ácido acético. Estas resinas son particularmente

adecuadas para el procedimiento de la invención, en vista de su bajo coste y del hecho de que pueden regenerarse en condiciones moderadas. Además, la naturaleza levemente básica de la resina permite la separación parcial de las moléculas de hidroxitirosol y tirosol. De la comparación de la proporción pico de hidroxitirosol/tirosol y la pureza de HPLC del pico de hidroxitirosol de las Figuras 2 y 3, puede apreciarse la eficiencia de la separación cromatográfica según la invención.

De hecho, el uso de una resina de intercambio aniónico débil permite separar compuestos muy similares durante la elución. Esto no es posible con las técnicas anteriores que usan resinas de intercambio aniónico fuertes, porque la elución de tales resinas es, generalmente, un procedimiento de todo o nada. Según se ha mencionado previamente, una ventaja adicional es que los productos retenidos pueden ser eluidos con agua, sin usar ningún disolvente polar tal como metanol.

Las resinas de adsorción adecuadas se basan en polímeros aromáticos reticulados macrorreticulares hidrófobos no iónicos. Tales resinas son normalmente polímeros aromáticos, tales como los copolímeros de estireno y divinilbenceno, que pueden ser reticulados. Tales resinas son conocidas y se preparan generalmente por copolimerización de los monómeros apropiados. Las resinas de adsorción usadas como resina cromatográfica para la purificación de hidroxitirosol de la presente invención no están limitadas en particular, siempre que puedan ser eluidas en agua. Ejemplos de resinas de adsorción preferentes incluyen: Amberlite.RTM. XAD-4, XAD-7, XAD-1180, XAD-16 y XAD-1600 (disponible en Rohm & Haas); XUS-40323.00, XUS-40285.00 y XUS-40283.00 (disponible en Dow Chemical Co.); y SP-700, SP-825, SP850, Diaion HP 10, HP 20, HP 30, HP 40 y HP 50 (disponible en Mitsubishi Chemical).

Estos tipos de resinas son particularmente adecuados para el procedimiento de la invención en vista de su capacidad de adsorción muy elevada para el hidroxitirosol y por el hecho de que, gracias al bajo contenido de subproductos en la solución obtenida después de la hidrólisis, el hidroxitirosol adsorbido puede ser recuperado por elución con agua sola, sin ningún disolvente polar tal como metanol o etanol, como requerían, por el contrario, las técnicas anteriores. El hidroxitirosol adsorbido es recuperado de forma sustancialmente cuantitativa.

En la realización preferente mostrada, el procedimiento de la invención prevé una purificación en dos etapas en columnas cromatográficas.

El líquido A, obtenido de las etapas iniciales a) y b), es decir, la hidrólisis y la separación de sólidos, se carga en la columna 11, que contiene la resina 12 de intercambio aniónico, según se ha detallado en lo que antecede. El permeado es enviado al tratamiento de desechos (no mostrado). A continuación, se suministra a la columna 11 agua desmineralizada procedente del suministro 13 de agua para eluir los productos retenidos, y el líquido eluido se recoge en el depósito 14. El producto líquido así obtenido (el líquido B) tiene una pureza en hidroxitirosol de al menos un 75%, y generalmente de al menos un 80%, determinándose la pureza como el % de las áreas de pico en un cromatograma mediante HPLC a 280 nm. La recuperación del hidroxitirosol retenido en la resina es de al menos el 85% y es generalmente de al menos el 90%. La Figura 3 muestra el cromatograma relevante de HPLC del producto líquido B purificado obtenido.

En la segunda etapa de purificación, se carga el producto líquido B en la columna 15, que contiene una resina 16 de adsorción no iónica, según se ha definido en lo que antecede. El permeado es enviado al tratamiento de desechos y se recupera el hidroxitirosol adsorbido mediante elución con agua desmineralizada procedente del suministro 13 y se lo recoge en el depósito 17.

El líquido C, es decir, el líquido recogido en el depósito 17, tiene una pureza en hidroxitirosol de al menos el 90%, y generalmente de al menos el 95%, determinándose la pureza como el porcentaje de las áreas de pico en un cromatograma mediante HPLC a 280 nm. La recuperación del hidroxitirosol retenido en la resina es de al menos el 90% y es generalmente de al menos el 95% y sustancialmente cuantitativo. La Figura 4 muestra el cromatograma relevante de HPLC del producto líquido C purificado obtenido.

La Fig. 1. También muestra una fuente 18 de ácido acético que está conectada a la columna 11 para la activación por ácido de la resina 12, y una fuente 19 de NaOH o de otra base adecuada para la regeneración de la misma. Además, la fuente 19 de NaOH para la regeneración de la resina 16 está conectada a la columna 15, y también se muestra una fuente 21 de ácido sulfúrico para la activación superficial de la resina.

En cuanto al líquido A, también el líquido B y el líquido C pueden ser concentrados en el medio 10 de concentración, por ejemplo por evaporación o TFF, preferentemente mediante ósmosis inversa; preferentemente, la concentración se lleva a cabo en los líquidos B y C, preferentemente en el líquido C, hasta un contenido en hidroxitirosol que es fácil que llegue al 10%, y que puede alcanzar el 20%, el 35% e incluso el 40% en peso de hidroxitirosol en el producto líquido concentrado (es decir, extracto).

En una etapa adicional del procedimiento de la invención, los productos líquidos obtenidos mediante las etapas presentadas previamente son secados en un medio 20 de secado, por ejemplo un liofilizador, un rotoevaporador de vacío o, preferentemente, mediante un secador por pulverización, para producir un producto final sólido. Las

características del producto final serán diferentes según el producto de partida (A, B o C) que se seca, estando la pureza del producto seco en el intervalo entre el 45% y el 99% (HPLC a 280 nm).

Esta etapa de secado se lleva a cabo, preferentemente, en los productos líquidos B y C, tras concentrarlos según se ha dado a conocer en lo que antecede. La etapa de secado puede hacer uso con ventaja de vehículos adecuados para el uso final del producto seco; vehículos adecuados son, por ejemplo, maltodextrinas, lactosa, lecitinas, caseinatos, etcétera.

Técnicas adecuadas de secado son conocidas en la técnica y comprenden el secado por pulverización (habitualmente con el uso de vehículos), la liofilización y la evaporación de agua al vacío. Los productos resultantes tendrán un contenido de hidroxitirosol del 0,5% al 10% y hasta del 20% (p/p) si se usa un vehículo; el contenido de hidroxitirosol puede llegar hasta aproximadamente un 95% (p/p) si no se usa ningún vehículo. Debería observarse que el procedimiento de la invención proporciona un producto líquido purificado (B y especialmente C) que es tan puro que puede ser evaporado, convirtiéndose en un polvo seco incluso sin vehículos, no siendo posible esto con las técnicas conocidas.

Ejemplo 1

Extracción de hidroxitirosol a partir de orujillo de aceituna, purificación de la fase acuosa

Se mezclan 250 g de una muestra de orujillo seco de aceituna con 838 ml de agua desmineralizada y 16,7 g de ácido sulfúrico (98%). La mezcla obtenida es mantenida en autoclave durante 30 minutos a 121°C. Después de eso, se separa la fase acuosa del residuo sólido mediante filtración en un filtro. La fase sólida, retenida en el filtro, es lavada con 310 ml de agua desmineralizada, y el agua procedente de esta operación de lavado es recogida con la fase acuosa recuperada previamente. A continuación, la fase acuosa, aproximadamente 860 ml, es refinada en una centrifugadora para eliminar las partículas sólidas que hayan atravesado el filtro. Tras la eliminación de sólidos, se obtienen 835 ml de extracto acuoso en bruto, que contiene 1,41 g de hidroxitirosol, con una pureza según HPLC del 47,5%.

Ejemplo 2

Purificación de hidroxitirosol por intercambio iónico

Se carga una muestra de 835 ml de extracto acuoso en bruto que contiene 1,41 g de hidroxitirosol obtenida según el Ejemplo 1 en una columna que contiene una resina de intercambio iónico del tipo aniónico, activada previamente por medio de un ciclo de acetato. Puede usarse, por ejemplo, Diaion WA10. La fase líquida recuperada al final de la columna no contiene nada de hidroxitirosol, que es continuamente eluido, en cambio, con agua desmineralizada hasta que se recupera al menos el 90% del hidroxitirosol cargado inicialmente. La fase eluida contiene aproximadamente 1,27 g de hidroxitirosol con una pureza según HPLC de aproximadamente el 80,85%.

Ejemplo 3

Purificación de hidroxitirosol por intercambio iónico y adsorción

Se carga una muestra de 835 ml de extracto acuoso en bruto que contiene 1,41 g de hidroxitirosol obtenida según el Ejemplo 1 en una columna que contiene una resina de intercambio iónico del tipo aniónico, activada previamente por medio de un ciclo de acetato. Puede usarse, por ejemplo, IRA-67. La fase líquida recuperada al final de la columna no contiene nada de hidroxitirosol, que es continuamente eluido, en cambio, con agua desmineralizada hasta que se recupera al menos el 90% del hidroxitirosol cargado inicialmente.

Se carga la fase eluida que proviene de la primera columna en una columna que contiene una resina de adsorción. Puede usarse, por ejemplo, resina XAD-1180. La fase líquida recuperada al final de la columna no contiene nada de hidroxitirosol. A continuación, se eluye el hidroxitirosol de la resina con agua desmineralizada hasta que se recupera al menos el 90% del hidroxitirosol cargado inicialmente.

La fase eluida contiene aproximadamente 1,14 g de hidroxitirosol con una pureza según HPLC de aproximadamente el 95,72%.

Ejemplo 4

Concentración de extracto de hidroxitirosol en bruto enriquecido por evaporación

La fase acuosa obtenida en el Ejemplo 1 antes de la etapa de centrifugación, aproximadamente 860 ml, es concentrada por evaporación para alcanzar un volumen final de 193 ml. La fase acuosa es entonces refinada por centrifugado para eliminar las partículas sólidas haciéndola pasar a través del filtro. Tras la eliminación de los sólidos, se obtienen 160 ml de extracto acuoso en bruto, que contiene 1,41 g de hidroxitirosol con una pureza según HPLC de aproximadamente el 47,5%.

Ejemplo 5

Concentración de extracto de hidroxitirosol purificado por intercambio iónico enriquecido mediante ósmosis inversa

- 5 Una muestra de 80 l de extracto acuoso en bruto que contiene 150 g de hidroxitirosol obtenida en una planta piloto según el Ejemplo 2 es concentrada usando una planta piloto de ósmosis inversa equipada con una membrana polimérica de 2,5 m² para reducir el volumen a 10 l de producto concentrado. A continuación, se utiliza una membrana de 0,3 m² fabricada del mismo material para obtener un concentrado de hidroxitirosol que contiene un 10,8% de hidroxitirosol con una pureza según HPLC de aproximadamente el 80,53%.

Ejemplo 6

Concentración de extracto de hidroxitirosol purificado por intercambio iónico y adsorción mediante ósmosis inversa

- 10 Una muestra de 546 de extracto acuoso en bruto que contiene 135 g de hidroxitirosol obtenida en una planta piloto según el Ejemplo 3 es concentrada usando una planta piloto de ósmosis inversa equipada con una membrana polimérica de 2,5 m² para reducir el volumen a 10 l de producto concentrado. A continuación, se utiliza una membrana de 0,3 m² fabricada del mismo material para obtener un concentrado de hidroxitirosol que contiene un 12,20% de hidroxitirosol con una pureza según HPLC de aproximadamente el 95,27%.

15 Ejemplo 7

Secado por pulverización del extracto en bruto enriquecido en hidroxitirosol sin ninguna purificación

- 20 Se mezcla una muestra de 442 ml de extracto acuoso en bruto que contiene 1,02 g de hidroxitirosol obtenida según el Ejemplo 1 con 100 g de maltodextrina hasta que la maltodextrina se disuelve por completo. Puede usarse, por ejemplo, maltodextrina de patata equivalente de dextrosa 10. Se usa una bomba peristáltica para alimentar el secador por pulverización, que es equilibrado de antemano con una temperatura del aire de entrada de 150°C. La velocidad de suministro se regula para obtener una temperatura del aire de salida que sea inferior a 100°C. Se obtienen 95 g de un polvo marrón, con una humedad del 6,85% (Karl Fischer) y una riqueza en hidroxitirosol del 0,98%.

Ejemplo 8

- 25 Secado por pulverización del extracto acuoso parcialmente purificado enriquecido en hidroxitirosol

- 30 Se mezcla una muestra de 290 ml de extracto acuoso que contiene 0,38 g de hidroxitirosol obtenida según el Ejemplo 2, y subsiguientemente concentrada por ósmosis inversa, con 50 g de maltodextrina hasta que la maltodextrina se disuelve por completo. Puede usarse, por ejemplo, maltodextrina de patata equivalente de dextrosa 10. Se usa una bomba peristáltica para alimentar el secador por pulverización, que es equilibrado de antemano con una temperatura del aire de entrada de 150°C. La velocidad de suministro se regula para obtener una temperatura del aire de salida que sea inferior a 100°C. Se obtienen 48,25 g de un polvo grisáceo, con una humedad del 6,72% (Karl Fischer) y una riqueza en hidroxitirosol del 0,71%.

Ejemplo 9

Secado por pulverización del extracto acuoso purificado enriquecido en hidroxitirosol

- 35 Se agita lentamente una muestra de 188 ml de extracto acuoso purificado que contiene 0,29 g de hidroxitirosol obtenida según el Ejemplo 3, y subsiguientemente concentrada por ósmosis inversa, con 28,5 g de maltodextrina. Puede usarse, por ejemplo, maltodextrina de patata equivalente de dextrosa 10. Se usa una bomba peristáltica para alimentar el secador por pulverización, que es equilibrado de antemano con una temperatura del aire de entrada de 175°C. La velocidad de suministro se regula para obtener una temperatura del aire de salida que sea inferior a 100°C. Se obtienen 27,1 g de un polvo blanco, con una humedad del 5,45% (Karl Fischer) y una riqueza en hidroxitirosol del 0,97%.

Ejemplo 10

Preparación de un polvo muy rico en hidroxitirosol

- 45 Se concentra una muestra de 1750 l de extracto acuoso que contiene 432 g de hidroxitirosol obtenida, según el Ejemplo 3, en una planta piloto según el Ejemplo 6 para obtener un concentrado de hidroxitirosol que contiene un 39,04% de hidroxitirosol con una pureza según HPLC del 95,60%. Se usa la solución concentrada para alimentar el secador por pulverización, que es equilibrado de antemano con una temperatura del aire de entrada de 150°C. La velocidad de suministro se regula para obtener una temperatura del aire de salida que sea inferior a 100°C. Se obtienen 375,84 g de un polvo marrón claro, con una humedad del 4,35% (Karl Fischer) y una riqueza en hidroxitirosol del 94,74%.

Ejemplo 11

Producción de extractos de oliva a partir de aceitunas

Se mezclan 25 kg de una muestra de aceitunas con 50 L de agua desmineralizada. Se combina durante algunos minutos la mezcla obtenida, y a continuación se añaden 636 g de ácido sulfúrico (98%). La mezcla obtenida es mantenida en autoclave durante 30 minutos a 121°C. Después de eso, se separa la fase acuosa del residuo sólido de las aceitunas mediante filtración en un filtro. La fase sólida, retenida en el filtro, es lavada con 12,5 L de agua desmineralizada, y el agua procedente de esta operación de lavado es recogida con la fase acuosa recuperada previamente. A continuación, la fase acuosa, aproximadamente 63 L, es filtrada en un filtro Kieselguhr recubierto de antemano con una tierra diatomácea de Celite™ 500 para eliminar el aceite extraído. La fase acuosa libre de aceite, aproximadamente 56 L, es entonces refinada en una centrifugadora para eliminar las partículas sólidas que hayan atravesado el filtro Kieselguhr. Tras la eliminación de sólidos, se obtienen 52 L de extracto acuoso en bruto, que contiene 141 g de hidroxitirosol, con una pureza según HPLC del 50,5%.

A continuación, se carga el extracto acuoso en bruto en una columna que contiene una resina de intercambio iónico del tipo aniónico, activada previamente por medio de un ciclo de acetato. Puede usarse, por ejemplo, IRA-67. La fase líquida recuperada al final de la columna no contiene nada de hidroxitirosol, que es continuamente eluido, en cambio, con agua desmineralizada hasta que se recupera al menos el 90% del hidroxitirosol cargado inicialmente.

Se carga la fase eluida que proviene de la primera columna en una columna que contiene una resina de adsorción. Puede usarse, por ejemplo, resina XAD-1180. La fase líquida recuperada al final de la columna no contiene nada de hidroxitirosol. A continuación, se eluye el hidroxitirosol de la resina con agua desmineralizada hasta que se recupera al menos el 90% del hidroxitirosol cargado inicialmente.

La fase eluida contiene aproximadamente 114 g de hidroxitirosol con una pureza según HPLC de aproximadamente el 96,7%.

A continuación, una fracción de 461 L de extracto purificado que contiene 114 g de hidroxitirosol obtenida en una planta piloto es concentrada usando una planta piloto de ósmosis inversa equipada con una membrana polimérica de 2,5 m² para reducir el volumen a 10 l de producto concentrado. A continuación, se utiliza una membrana de 0,35 m² fabricada del mismo material para obtener un concentrado de hidroxitirosol que contiene un 3,5% de hidroxitirosol. Por último, se rotoevapora el concentrado por Ol a 78°C a una presión de vacío de 24,5 kPa para permitir una concentración en un factor de 10 del extracto de oliva en forma líquida, alcanzando una concentración final de 37,2% (p/p) con una pureza según HPLC del 93,3%.

Ejemplo 12

Preparación de polvo de extracto de oliva mediante secado por pulverización

Se agita lentamente una muestra de 260 ml de extracto purificado de oliva en forma líquida que contiene 19,5 g de hidroxitirosol obtenida según el Ejemplo 11, con 58 g de maltodextrina previamente disuelta en 260 ml de agua desmineralizada. Puede usarse, por ejemplo, maltodextrina de patata. Se usa una bomba peristáltica para alimentar el secador por pulverización, que es equilibrado de antemano con una temperatura del aire de entrada de 150°C. La velocidad de suministro se regula para obtener una temperatura del aire de salida que sea inferior a 100°C. Se obtienen 76 g de un polvo blanco, con una humedad del 5,4% (Karl Fischer) y una riqueza en hidroxitirosol del 21,9% (p/p).

Ejemplo 13

Extracción de hidroxitirosol a partir de orujo de tres fases (orujo desgrasado), purificación de la fase acuosa

Se mezclan 475,5 g de una muestra de orujo de tres fases con una humedad del 60,55% con 800 ml de agua desmineralizada y 26,36 g de ácido sulfúrico (98%). La mezcla obtenida es mantenida en autoclave durante 30 minutos a 121°C. Después de eso, se separa la fase acuosa del residuo sólido mediante filtración en un filtro de polipropileno de 600 micrómetros. La fase acuosa, aproximadamente 795 ml, es concentrada por evaporación para alcanzar un volumen final de aproximadamente 343,8 ml. A continuación, la fase acuosa es refinada en una centrifugadora para eliminar las partículas sólidas que hayan atravesado el filtro. Tras la eliminación de sólidos, se obtienen 275 ml de extracto acuoso en bruto, que contiene 0,97 g de hidroxitirosol, con una pureza según HPLC del 54%.

Ejemplo 14

Purificación por intercambio iónico y adsorción de hidroxitirosol a partir de orujo de tres fases (orujo desgrasado)

Se carga una muestra de 275 ml de extracto acuoso en bruto que contiene 0,97 g de hidroxitirosol obtenida según el Ejemplo 13 en una columna que contiene una resina de intercambio iónico del tipo aniónico, activada previamente por medio de un ciclo de acetato. Puede usarse, por ejemplo, Diaion WA10. La fase líquida recuperada al final de la

columna no contiene nada de hidroxitirosol, que es continuamente eluido, en cambio, con agua desmineralizada hasta que se recupera al menos el 90% del hidroxitirosol cargado inicialmente.

- 5 Se carga la fase eluida que proviene de la primera columna en una columna que contiene una resina de adsorción. Puede usarse, por ejemplo, resina Diaion HP20. La fase líquida recuperada al final de la columna no contiene nada de hidroxitirosol. A continuación, se eluye el hidroxitirosol de la resina con agua desmineralizada hasta que se recupera al menos el 90% del hidroxitirosol cargado inicialmente.

La fase eluida contiene aproximadamente 0,80 g de hidroxitirosol con una pureza según HPLC que es superior al 95%.

- 10 Según se ha mencionado previamente, el procedimiento de la invención prevé la preparación de un extracto que contiene hidroxitirosol partiendo de aceitunas y/u orujos sin hacer uso de disolventes orgánicos polares. Por lo tanto, los productos obtenidos según este procedimiento, tanto los productos finales como los productos intermedios, están libres de disolventes orgánicos polares. Además, los productos están sustancialmente libres de azúcares y sales. Esto es posible por el uso combinado de las condiciones de hidrólisis y el procedimiento de purificación reivindicados.
- 15 El producto final, debido a su elevada pureza y alto contenido en hidroxitirosol, en particular un extracto sólido de hidroxitirosol libre de vehículos y disolventes orgánicos, es sumamente adecuado para su uso en la industria alimentaria y en las industrias cosmética y farmacéutica.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de producción de un extracto que contiene hidroxitirosol a partir de un material de partida seleccionado de aceitunas y/o residuos de orujo de aceitunas tras la extracción del aceite de oliva, incluyendo dicho procedimiento la hidrólisis ácida de dichos materiales de partida y la purificación de la solución resultante, caracterizado por comprender las etapas siguientes:
 - a) llevar a cabo la hidrólisis ácida de dichos materiales de partida en agua a una temperatura que no supere los 140°C, a una presión en el intervalo entre la presión atmosférica y 0,138 MPa por encima de la presión atmosférica y un pH en el intervalo de 1,0 a 6,0;
 - b) eliminar de la solución acuosa de la hidrólisis de la etapa a) los sólidos suspendidos para obtener una solución acuosa aclarada;
 - c) cargar el producto (A) obtenido de la etapa b) en una columna cromatográfica de una resina seleccionada entre resinas de intercambio aniónico levemente básicas activadas por ácidos para retener el hidroxitirosol;
 - d) eluir los productos retenidos sobre dicha resina cromatográfica con agua en ausencia de cualquier disolvente orgánico;
 - e) cargar la solución (B) obtenida de la etapa d) en una segunda columna cromatográfica de una resina seleccionada entre resinas no iónicas adsorbentes para retener el hidroxitirosol;
 - f) eluir los productos retenidos sobre dicha segunda resina cromatográfica con agua en ausencia de cualquier disolvente orgánicoy en el que el procedimiento se lleva a cabo sin hacer uso de disolventes orgánicos polares.
2. Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que dicha hidrólisis se lleva a cabo en un sistema de esterilización continua y la temperatura de hidrólisis está en el intervalo entre 110°C y 130°C y a una presión que está entre 0,068 y 0,138 MPa por encima de la presión atmosférica.
3. Un procedimiento según las reivindicaciones 1 o 2 en el que la duración de dicha etapa de hidrólisis está en el intervalo de 15 a 45 minutos.
4. Un procedimiento según las reivindicaciones 2 o 3 en el que la temperatura de hidrólisis está en el intervalo de 118 a 126°C.
5. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente que, además, comprende una etapa de concentración por ósmosis inversa de la solución (B) obtenida de la etapa d) o de la solución (C) obtenida de la etapa f).
6. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente que, además, comprende la etapa de eliminación del agua hasta que el producto esté en forma sólida.
7. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente en el que se elimina aceite de los materiales de partida o de la solución acuosa obtenida de la etapa b) antes de proseguir con etapas ulteriores.

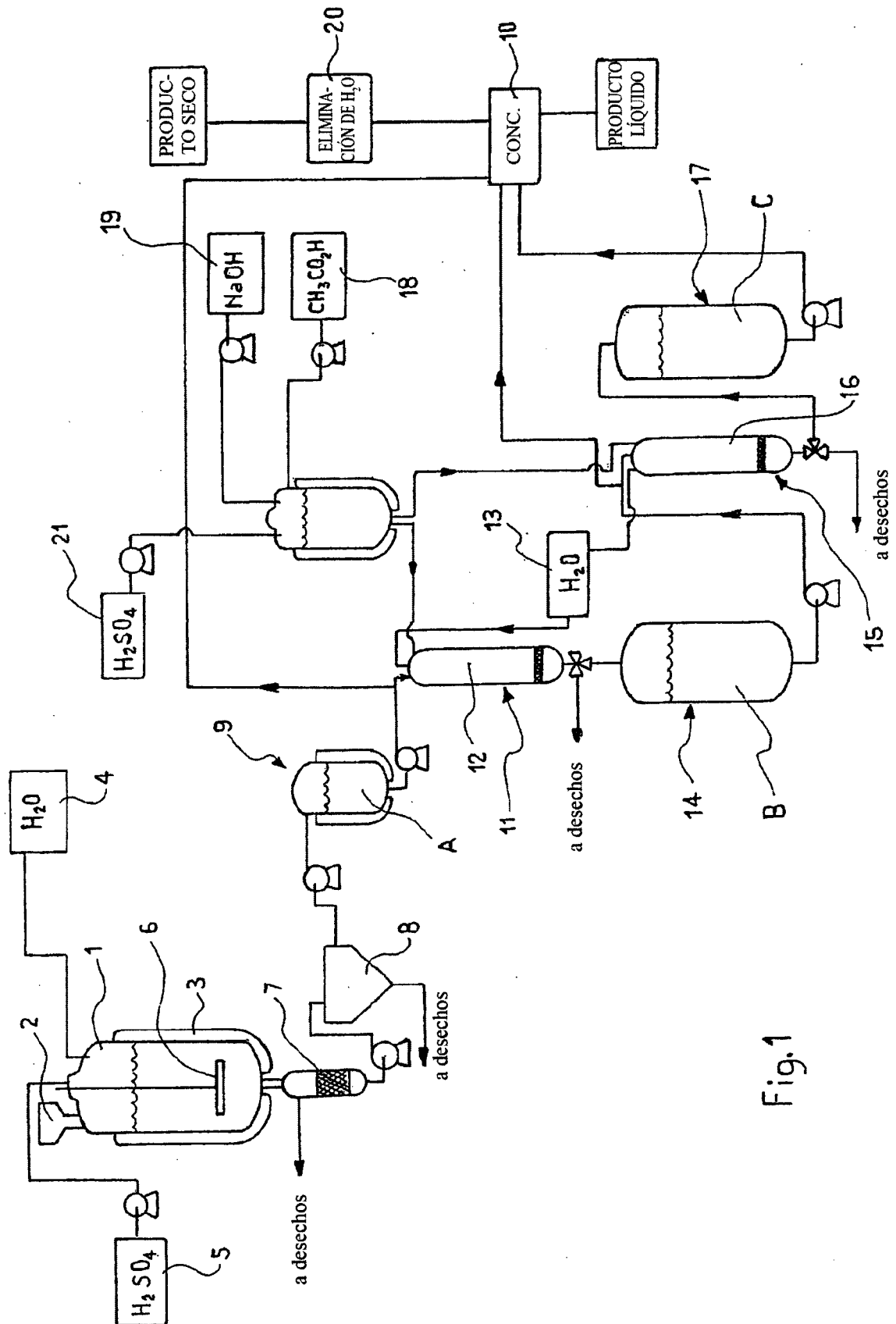


Fig.1

