

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 686 279**

51 Int. Cl.:

C07C 37/68	(2006.01)
C07C 39/11	(2006.01)
A23L 3/349	(2006.01)
A23L 33/105	(2006.01)
A61K 8/97	(2007.01)
A61K 8/34	(2006.01)
A61Q 19/02	(2006.01)
A61Q 19/08	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.02.2010 PCT/FR2010/000137**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.08.2010 WO10094860**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.02.2010 E 10708243 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2398756**

54 Título: **Procedimiento para la extracción de compuestos fenólicos a partir de agua de vegetación de aceituna y preparación de extracto valorado en polifenoles de aceituna y de uva**

30 Prioridad:

18.02.2009 FR 0900752

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

17.10.2018

73 Titular/es:

**CENTRE DE COOPÉRATION INTERNATIONALE
EN RECHERCHE AGRONOMIQUE POUR LE
DÉVELOPPEMENT (CIRAD) (33.3%)
42, Rue Scheffer
75016 Paris, FR;
GRAP'SUD (33.3%) y
INSTITUT NATIONAL D'ETUDES SUPERIEURES
AGRONOMIQUES DE MONTPELLIER
(MONTPELLIER SUPAGRO) (33.3%)**

72 Inventor/es:

**URBAN, NELLY;
DORNIER, MANUEL;
PALLET, DOMINIQUE y
REYNES, MAX**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 686 279 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 extracción de compuestos fenólicos a partir de agua de vegetación de aceituna y preparación de extracto valorado en polifenoles de aceituna y de uva

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la extracción de compuestos fenólicos de pequeña masa molecular, a partir de aguas de vegetación de aceituna; también se relaciona con composiciones enriquecidas en compuestos fenólicos que comprenden, como mínimo, 40% de materia seca, estando dicha materia seca compuesta, como mínimo, por 30% de hidroxitirosol; además, la invención se refiere a un procedimiento para el secado de dichas composiciones por atomización, mediante el empleo de extractos de polifenoles de uva como ayuda al secado, así como a los polvos valorados en compuestos fenólicos de aceituna y de uva obtenidos después del secado.

10 El procedimiento para la fabricación del aceite de oliva consiste en aplastar (molienda) las aceitunas enteras hasta la obtención de una pasta fina, o pulpa. En el transcurso de esta etapa, la molienda de aceitunas puede lavarse constantemente con agua. Después la pasta se prensa mecánicamente (prensado) para extraerle su contenido líquido. El líquido obtenido se decanta entonces para separar las dos fases que lo componen: el aceite y la fase acuosa. Las aguas de lavado recuperadas de la molienda y de la fase acuosa como resultado del prensado se denominan aguas de vegetación o, también, marginales. Esas aguas representan alrededor del 60% del peso de la aceituna.

15 Estas aguas de vegetación son muy ricas en compuestos fenólicos antioxidantes; un compuesto fenólico antioxidante particularmente buscado es el hidroxitirosol; está presente en alrededor de 0,1 a 2 g/l en las aguas marginales.

20 El hidroxitirosol es un compuesto fenólico simple que tiene una cadena lateral del tipo alcohol en la posición 1 del ciclo aromático, así como dos sustituciones oxhidrilos en las posiciones 3 y 4 de dicho ciclo. Este compuesto pertenece a la familia de los ortodifenoles, compuestos generalmente conocidos por tener interesantes propiedades antioxidantes.

Su consumo participaría en el efecto beneficioso del régimen cretense sobre la salud humana. Numerosas investigaciones llevadas a cabo sobre el hidroxitirosol han demostrado el interés por este compuesto como antioxidante. La actividad antioxidante del hidroxitirosol le confiere propiedades de agente conservador de cuerpos grasos; también es conocido por sus propiedades antibacterianas, antivíricas y antifúngicas.

25 Así, pues, a este compuesto se lo considera como un complemento o aditivo alimentario muy bueno y como agente activo útil para reforzar la protección celular ante el estrés oxidante y las patologías que genera.

30 En razón del interés, en especial para las industrias alimentaria y cosmética, que representa el hidroxitirosol y, de modo más general, los polifenoles de las aceitunas, se han realizado diversas tentativas de valorización de subproductos ricos en compuestos fenólicos, tales como las aguas de vegetación (Visioli *et al.* «*Waste waters from olive oil production are rich in natural antioxidants*» *Experientia*, 1995; 51: 32-34).

35 La patente estadounidense US 6.361.803 describe así un procedimiento para la extracción de composiciones antioxidantes a partir de productos derivados de la aceituna: la pulpa, el aceite o, una vez más, las aguas de vegetación de aceitunas en diferentes grados de madurez. Cuando el producto de partida está constituido por aguas de vegetación, el procedimiento consiste en tratarlas sobre una resina polimérica adsorbente que retiene los compuestos antioxidantes; a continuación se lava la resina con un disolvente polar orgánico, para recuperar los compuestos antioxidantes.

40 La ejecución de este procedimiento parece, sin embargo, menos adaptada a las aguas de vegetación que a otros productos derivados de la aceituna. En efecto, la comparación de la composición en compuestos fenólicos de extractos obtenidos a partir de diferentes materiales de partida demuestra que los obtenidos de las aguas de vegetación presenta una pequeña proporción de compuestos fenólicos: 16,8%; además, ese extracto tiene una actividad antioxidante más pequeña de todos los extractos obtenidos.

La solicitud de patente europea EP 1 623 960 describe un procedimiento para la preparación de tirosol y/o de hidroxitirosol a partir de aguas de vegetación de aceituna (marginales) y que comprende las etapas siguientes:

45 - separación física que entraña muchos tratamientos de membrana (microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa) de las marginales, con preferencia en un pH neutro o alcalino;

- separación cromatográfica del tirosol, del hidroxitirosol y de otros compuestos fenólicos, a partir del concentrado obtenido después del último tratamiento de membrana;

- conversión catalítica del tirosol en hidroxitirosol, en presencia de una mezcla de trióxido de metileno (MTO) y de peróxido de hidrógeno;

50 - recuperación de la fase acuosa que comprende los compuestos fenólicos antioxidantes.

Este procedimiento presenta el inconveniente de aplicar una hidroxilación química del tirosol a hidroxitirosol; ahora bien, en vista del consumo posterior del hidroxitirosol obtenido, resulta necesario eliminar los catalizadores, en especial el trióxido de metileno, que es un poderoso irritante. Además, este procedimiento comprende muy numerosas etapas:

el ejemplo 1 de este documento aplica un procedimiento que no comprende menos de 13 tratamientos de membrana. Por lo tanto es muy largo de aplicar, costoso en medios técnicos y humanos y su dimensionamiento en escala industrial no es viable en lo económico.

5 Lo mismo rige para el procedimiento descrito en la solicitud internacional WO 2005/123603, que se destina al fraccionamiento de las aguas de vegetación de aceitunas con el propósito de valorizarlas. Este procedimiento comprende una etapa de ajuste del pH; de hidrólisis enzimática de la celulosa, de la hemicelulosa y de la pectina contenidas en las aguas de vegetación; de centrifugación; de microfiltración tangencial; de ultrafiltración tangencial; de diafiltración; de nanofiltración tangencial y de ósmosis inversa.

10 La solicitud internacional WO 2007/013032 describe un método para la obtención de concentrados ricos en hidroxitirosol, en especial a partir de aguas de vegetación. Este método combina, como mínimo, dos etapas:

- una extracción de hidroxitirosol y de otros compuestos bioactivos con ayuda de un fluido supercrítico y/o por nanofiltración; y

- una ósmosis inversa.

15 La extracción mediante fluido supercrítico necesita la utilización de presiones muy elevadas (superiores a 74 bares durante el empleo de CO₂ como fluido supercrítico), es por lo tanto un procedimiento complejo e igualmente costo de realizar. Además, la ósmosis inversa es un proceso que lleva a la concentración de un extracto por eliminación del agua; en particular, la ósmosis inversa no permite un enriquecimiento selectivo en compuestos fenólicos de bajo peso molecular.

20 La patente estadounidense 6.416.808 describe un proceso para la obtención de una composición rica en hidroxitirosol a partir de aguas de vegetación de aceituna, que comprende las siguientes etapas : (i) producción de un agua de vegetación a partir de aceitunas deshuesadas ; (ii) adición de una cantidad suficiente de ácido, de preferencia ácido cítrico, para obtener un pH comprendido entre 1 y 5; (iii) incubación de las aguas de vegetación acidificadas durante un mínimo de dos meses, con objeto de que la oleuropeína se hidrolice a hidroxitirosol. El procedimiento puede comprender, además, una etapa de extracción del hidroxitirosol con un disolvente orgánico, una cromatografía en fase líquida a alta presión (HPLC) o, también, una extracción mediante fluido supercrítico.

25 Aunque lleva a composiciones enriquecidas en hidroxitirosol, este procedimiento, cuando realiza una extracción mediante HPLC o fluido supercrítico, es demasiado costoso como para ser utilizado en escala industrial. Además, la extracción líquido-líquido emplea disolventes orgánicos tóxicos que no son compatibles con una utilización del extracto obtenido en las industrias cosmética o alimentaria.

30 Así, los procedimientos descritos en la técnica anterior no brindan entera satisfacción y continúa habiendo necesidad de poner a punto un procedimiento para la extracción de compuestos fenólicos de pequeña masa molecular, a partir de aguas de vegetación de aceitunas, que sea sencillo y adaptado a la realización industrial.

35 La Solicitante se fijó como objetivo proponer un procedimiento que conduzca a un fraccionamiento de los fenoles contenidos en las marginales, con el propósito de separar la fracción fenólica de pequeña masa molecular de los compuestos de masa molecular más elevada, tales como la oleuropeína y el verbascósido.

40 Para presentar interés dentro del marco de la presente invención es necesario que el procedimiento permita el enriquecimiento selectivo en hidroxitirosol y en tirosol. Es esto lo que logró la Solicitante al seleccionar membranas de nanofiltración que presentan la retención más débil posible de hidroxitirosol y de tirosol y, simultáneamente, una retención máxima de otros compuestos fenólicos, en particular compuestos polifenólicos. Por lo tanto, la utilización de las membranas de nanofiltración seleccionadas permite aumentar de 1,5 a 3,5 veces el contenido en masa de compuestos fenólicos de la materia seca de los permeados y, en particular, de 2 a 20 veces el contenido en masa de hidroxitirosol de la materia seca de los permeados provenientes del tratamiento de nanofiltración: así, pues, los permeados están significativamente enriquecidos en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular.

45 La materia seca de una muestra se mide mediante el secado de la muestra; acto seguido se determina el porcentaje de materia seca mediante la relación entre la masa de la materia seca y la masa total de la muestra.

A menos que no se especifique lo contrario, en lo que sigue, las concentraciones se expresan en porcentajes en masa.

Por retenido se entiende la fracción de una muestra que queda retenida por una membrana durante el tratamiento de separación por membrana de dicha muestra.

50 Por permeado se entiende la fracción de una muestra que atraviesa una membrana durante el tratamiento de separación por membrana de dicha muestra.

Por tratamiento de separación por membrana se entiende, en el marco de la presente invención, un procedimiento de filtración-microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración o de ósmosis inversa.

Por eluido se entiende el producto obtenido por la redisolución, mediante un disolvente, de una o varias sustancias

adsorbidas sobre un soporte; el eluido comprende por tanto el disolvente y dicha(s) sustancia(s).

Por aguas de vegetación o marginales se entiende las aguas generadas durante la producción del aceite de oliva. El contenido en materia seca de las marginales es variable y depende del procedimiento puesto en práctica en la almazara; a título indicativo, las marginales en bruto no clarificadas pueden contener entre 3 y 15% de materia seca.

5 Según el primero de sus objetivos, la presente invención se refiere a un procedimiento según la reivindicación 1.

Se describe un procedimiento de extracción de compuestos fenólicos de pequeña masa molecular, a partir de aguas de vegetación de aceitunas; comprende que comprende:

(a) una etapa de clarificación de dichas aguas de vegetación;

10 (b) una etapa de ultrafiltración tangencial de las aguas de vegetación clarificadas obtenidas en la etapa (a) sobre una membrana cerámica tubular de umbral discriminatorio comprendido entre 100 y 200 kDa, y de recuperación del permeado;

estando caracterizado dicho procedimiento porque comprende además:

15 (c) una etapa de nanofiltración de dicho permeado obtenido en la etapa (b) sobre una membrana orgánica en espiral con umbral discriminatorio comprendido entre 150 y 400 Da, bajo una presión comprendida entre 1 y 3 MPa; dicha membrana es tal que comprende una capa activa que comprende, como mínimo, 50% de poliamida y que permite obtener un retenido que comprende, como mínimo, 70%; de preferencia, entre 70 y un 90% y, otra vez preferentemente, como mínimo un 80%, de la materia seca que contenida en dichas aguas de vegetación y más del 25%, o más del 20%, de hidroxitirosol y

20 (d) una etapa de adsorción de los compuestos fenólicos contenidos en el permeado obtenido en la etapa (c) mediante el paso por sobre una matriz polimérica, seguido de la elución de los compuestos fenólicos adsorbidos sobre dicha matriz con un disolvente polar orgánico y la obtención de un eluido.

25 El procedimiento según la invención tiene la ventaja de conducir, con nada más que dos etapas de tratamiento por membrana (ultrafiltración y nanofiltración) a un enriquecimiento selectivo en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular. Este procedimiento presenta, además, la originalidad de permitir la separación en diferentes fracciones de compuestos fenólicos, de las aguas de vegetación, cuando los procedimientos conocidos concentran el conjunto de compuestos fenólicos de las aguas de vegetación con la ayuda de tratamientos por membrana (los compuestos fenólicos se recuperan entonces en el retenido), en el procedimiento según la invención, las membranas de nanofiltración que se utilizan permiten la separación de los compuestos fenólicos, siendo recuperados entonces los compuestos fenólicos de interés en el permeado.

30 Para que se las utilice en el procedimiento según la invención, las aguas de vegetación pueden comprender de hasta un 15% de materia seca. El porcentaje de materia seca de las aguas de vegetación es la relación entre la masa de la materia seca y la masa total de las aguas de vegetación. En particular, las aguas de vegetación presentan un índice de materia seca comprendido entre el 3 y el 7%. La utilización de marginales que comprenden de más de un 7% de materia seca necesita un tratamiento previo, tal como una dilución.

35 Por compuestos fenólicos de pequeña masa molecular se entiende los compuestos que tienen una masa molecular inferior, o igual a 400 Da. En particular, los compuestos fenólicos de pequeña masa molecular son el hidroxitirosol, el tirosol, los ácidos fenólicos tales como los ácidos hidroxicinámicos como, por ejemplo, los ácidos ferrúlico, cumárico o cafeico, o sus ésteres como, por ejemplo, el ácido clorogénico.

40 La clarificación consiste en una extracción sólido-líquido, tal como la filtración, la centrifugación u, otra vez, la decantación, de las aguas de vegetación.

45 Por filtración se entiende un procedimiento de separación de los constituyentes de una mezcla que posee una fase líquida y una fase sólida, a través de un medio poroso. Para la aplicación de la etapa (a) del procedimiento según la invención se puede utilizar una filtración clarificante, es decir un medio poroso de modo que el diámetro de los poros se sitúa entre - 10 y 450 µm; la filtración se puede realizar con la ayuda de filtros de cartucho, de bujías, de placas, de arena, de filtros prensa o de filtros rotativos al vacío.

La centrifugación es una técnica que utiliza la fuerza centrífuga para separar elementos sólidos en suspensión en un fluido. Esta técnica se realiza con ayuda de una centrifugadora de la cual el experto en esta técnica elegirá las características en función de las marginales a tratar; a modo de ejemplo se puede citar las centrifugadoras con recipiente tubular, con recipiente con cámaras concéntricas; las centrifugadoras de platos o decantador centrífugo.

50 Por último, la decantación es una operación de separación mecánica bajo la acción de la gravedad, de varias fases no miscibles de las cuales una, por lo menos, es líquida. Así se puede separar sólidos insolubles en suspensión en un líquido, como en el caso de las marginales. Para realizar dicha decantación se puede utilizar un decantador (denominado también espesador), del cual el experto en esta técnica ajustará las características en función de las marginales a tratar, en especial se pueden citar los decantadores discontinuos y los decantadores continuos,

eventualmente con tabique o en etapas.

Preferentemente, la clarificación se lleva a cabo mediante una operación de filtración.

La ultrafiltración tangencial realizada en la etapa (b) del procedimiento según esta invención es un procedimiento mecánico de separación en fase líquida que se basa en las propiedades de tamizado molecular de una membrana porosa barrida tangencialmente por un líquido que contiene los constituyentes que se ha de separar. En el marco del presente procedimiento, la ultrafiltración tangencial se lleva a cabo con membranas cerámicas tubulares que tienen un umbral discriminatorio preferentemente, de 150 kDa como, por ejemplo, las membranas de ultrafiltración propuestas por las compañías TAMI y EXEKIA. El procedimiento se lleva a cabo a baja presión, es decir inferior a, o igual a 0,1 MPa.

Después del paso de las aguas de vegetación clarificadas obtenidas en la etapa (a) a través de la membrana de ultrafiltración, se obtienen dos fracciones: el permeado, que contiene el disolvente y todas las moléculas disueltas con un diámetro inferior al diámetro de los poros de la membrana; el retenido, que está enriquecido, en relación con el líquido inicial, en moléculas y compuestos que tienen un diámetro superior al diámetro de los poros de la membrana.

La etapa (c) consiste en un tratamiento de nanofiltración del permeado obtenido en la etapa (b). La nanofiltración es un procedimiento de separación efectuado por la aplicación de una presión, que constituye la fuerza motriz, sobre una membrana semipermeable; se caracteriza por la naturaleza de la membrana utilizada, que define el tamaño de las partículas específicas y la presión de operación.

En el marco del procedimiento según la presente invención, la etapa de nanofiltración se lleva a cabo sobre una membrana orgánica de espiral con umbral discriminatorio comprendido entre 150 y 400 Da; preferentemente, entre 300 y 400 Da, cuya capa activa comprende, como mínimo, 50% de poliamida. En esas condiciones, la nanofiltración del permeado proveniente de la etapa (b) conduce a un segundo permeado proveniente de la etapa (c) que contiene los compuestos fenólicos de pequeña masa molecular (hidroxitirosol, tirosol y ácidos fenólicos).

De manera más específica, en el ejemplo 1 más adelante se ha demostrado que únicamente las membranas orgánicas en espiral con un umbral discriminatorio comprendido entre 150 y 400 Da, cuya capa activa comprende, como mínimo, 50% de poliamida y presenta las características que descritas más adelante, conducen a un fraccionamiento satisfactorio de los compuestos fenólicos de las marginales: así, según la invención son útiles las membranas cuyo empleo conduzca a un retenido que comprenda entre, como mínimo, un 70%, preferentemente, entre 70 y 90% y, aún más preferentemente, como mínimo 80%, de la materia seca que contienen dichas aguas de vegetación y, como máximo, 25% o, como máximo, 20% de hidroxitirosol. Esos valores se obtienen, por ejemplo, durante el tratamiento de las marginales a 4% de materia seca en el marco de los ensayos en una instalación piloto de laboratorio de 3 l de volumen nominal en configuración plana con una superficie útil de membrana de $1,5 \cdot 10^{-2} \text{ m}^2$, una presión transmembranaria comprendida entre 1 y 3 MPa y una velocidad tangencial de $1 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$.

Además, las membranas de nanofiltración que se pueden utilizar en el procedimiento de la presente invención se seleccionan, preferentemente, entre las que presentan una densidad de flujo de permeado deal menos $10 \text{ l} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.

Las membranas de nanofiltración que se pueden utilizar según la invención están constituidas:

(i) por un material poroso orgánico que desempeña el papel de soporte, asegurando la resistencia mecánica de la membrana; dicho material poroso está compuesto, en general, por materiales celulósicos (por ejemplo, acetato de celulosa), materiales sulfonados, materiales poliamídicos y poliimídicos, materiales acrílicos, empleados solos o en forma de copolímeros o de aleaciones de polímeros, materiales fluorados o, también, de policarbonato y de polipropileno; y

(ii) por una capa activa compuesta de, como mínimo 50% de poliamida que recubre dicho material poroso orgánico; de preferencia, la capa activa está compuesta preferentemente por, como mínimo 70% y, aún más preferentemente, como mínimo 90% de poliamida.

Por capa activa se entiende la superficie de la membrana de nanofiltración en contacto con la muestra a la que se le aplica el tratamiento de nanofiltración; además de la poliamida, dicha capa activa puede estar compuesta, de manera no exhaustiva, por polisulfonas, poliétersulfonas, poliimididas y/o alcohol polivinílico.

Por poliamida se entiende un polímero que es el resultado de la policondensación de funciones de ácido carboxílico y amina; se trata, más especialmente de poliamidas alifáticas y de poliamidas aromáticas.

La puesta a punto de la etapa de nanofiltración ha necesitado varios ensayos en diversas instalaciones piloto. Los resultados de la selección de membranas se detallan en el ejemplo 1.

Gracias a esta selección de membranas, la fracción fenólica de los permeados obtenida después de la nanofiltración está significativamente enriquecida en componentes fenólicos de pequeña masa molecular; a título indicativo, el hidroxitirosol y el tirosol representan entre el 63 y el 84% de los compuestos fenólicos totales.

De manera preferida, la puesta en marcha de la etapa (c) de nanofiltración se lleva a cabo en condiciones tales que

el flujo de permeado es superior a, o igual a, $10 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1} \text{ m}^2$ (véase el ejemplo 2, más adelante).

5 La etapa (d) de paso sobre la matriz polimérica adsorbente permite eliminar los compuestos no fenólicos presentes en el permeado, en especial los minerales, las sales y los ácidos orgánicos. Los compuestos fenólicos totales representan alrededor del 30% de la materia seca del permeado; después del paso sobre resina, representan más del 80% de la materia seca del eluido.

La matriz polimérica que se utilizó en la etapa (d) es, preferentemente, una resina adsorbente estirénica, acrílica o fenólica; de preferencia, se trata de una resina adsorbente poliestirénica.

10 Los disolventes polares orgánicos o la disolución acuosa de disolventes polares orgánicos útiles para la elución de los compuestos fenólicos adsorbidos sobre la mencionada matriz son, en especial, disolventes aceptables en el campo alimentario; preferentemente se trata de un alcohol de $\text{C}_1\text{-C}_4$ o de una mezcla de alcoholes; preferentemente se trata de etanol.

El procedimiento según la invención comprende además una o varias de las etapas siguientes:

- una etapa opcional (a0), previa a la etapa (a), de acidificación de las aguas de vegetación para alcanzar un pH inferior o igual a 4,5.

15 La acidificación de las aguas de vegetación se puede realizar con cualquier ácido compatible con el consumo alimentario humano o animal. En particular, la acidificación se puede llevar a cabo con cualquier ácido orgánico tal como el ácido cítrico, el ácido tartárico, el ácido málico o el ácido láctico. La acidificación se realiza, de manera ventajosa, con ácido cítrico. Cualquiera que sea el ácido utilizado para la realización de la etapa (a0) del procedimiento según la invención, el experto en la técnica sabrá ajustar la cantidad necesaria de ácido que se ha de introducir en las
20 aguas de vegetación: por ejemplo, por un método iterativo que consiste en añadir pequeñas cantidades de ácido y después medir el pH.

- una etapa (e) de concentración por destilación a vacío del eluido que se obtuvo en la etapa (d).

Según una variante particular de la realización del procedimiento, éste comprende, sucesivamente, las etapas (a0), (a), (b), (c), (d) y (e).

25 El procedimiento puede comprender una vez más tres etapas adicionales útiles, con miras al almacenamiento de las aguas de vegetación antes de la realización del procedimiento según la invención. Estas tres etapas que se intercalan entre las etapas (a) y (b), son las siguientes:

(a1) concentración de las marginales acidificadas y clarificadas para almacenarlas;

(a2) almacenamiento de las marginales acidificadas concentradas; después

30 (a3) dilución en un disolvente de las marginales acidificadas concentradas hasta alrededor del 4% de materia seca, antes de practicar la etapa (b).

La etapa (a1) se puede realizar mediante una técnica de concentración a vacío.

El almacenamiento según la etapa (a2) se realiza preferentemente a una temperatura comprendida entre 6 y 15°C .

El disolvente de la etapa (a3) es preferentemente agua.

35 La realización del procedimiento descrito lleva a una composición enriquecida en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular. Esta composición, más adelante denominada composición A, comprende de manera ventajosa como mínimo 40% de materia seca; este porcentaje de materia seca es la relación entre la masa de la materia seca obtenida después del secado de la composición A y la masa total de la composición A; dicha materia seca está compuesta por, como mínimo 80% de compuestos fenólicos totales; en particular, comprende, como mínimo
40 30%, de hidroxitirosol y de, como mínimo 10% de tirosol.

Este procedimiento presenta, en particular, la ventaja de conducir de manera reproducible a una composición de compuestos fenólicos que comprende cantidades mínimas de hidroxitirosol, tirosol y otros compuestos fenólicos de pequeña masa molecular, tales como los ácidos hidroxicinámicos como, por ejemplo, los ácidos ferrúlico, cumárico o cafeico o sus ésteres como, por ejemplo, el ácido clorogénico. Es un criterio importante para una utilización posterior
45 en las industrias cosmética o alimentaria, por ejemplo.

La composición A así obtenida se seca, por ejemplo, por atomización. Preferentemente, y a fin de evitar el empleo de soportes de secado tales como los poliósidos con carga, como las dextrinas o las gomas, como ayuda al secado se utiliza un extracto de uva que comprende, como mínimo 60%, en masa de polifenoles totales. Por lo tanto, la invención se relaciona, también, con la utilización de un extracto de uva que comprende, como mínimo, 60% en masa de
50 polifenoles totales como ayuda al secado por atomización de una composición A..

La invención se refiere asimismo a un procedimiento para la preparación de un polvo valorado en compuestos fenólicos y polifenólicos de aceituna y de uva según la reivindicación 2. Se describe un procedimiento que comprende las etapas siguientes:

5 (e1) mezcla de una composición A con un extracto de uva que comprende, como mínimo, 60% de polifenoles totales; dicha mezcla comprende una cantidad de dicha composición A de manera que la materia seca de dicha composición A representa entre el 5 y el 40% de la materia seca total de la mezcla;

(e2) secado por atomización de la mezcla obtenida en la etapa (e1).

El porcentaje de materia seca de la mezcla de la composición A y del extracto de uva es la relación entre la masa de la materia seca medida después del secado de la mencionada mezcla y la masa total de la mencionada mezcla.

10 Dicho extracto de uva comprende preferentemente, como mínimo, 60% de polifenoles totales y, también preferentemente, como mínimo, 90% de polifenoles totales. El contenido de fenoles totales de un extracto de uva se lo puede medir, en especial, mediante el método de Folin-Ciocalteu (Folin Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M.. *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent*. Meth. Enzymol. 1999; 299: 152-178).

15 El extracto de uva se puede obtener por medio del paso sobre una resina adsorbente, en especial una resina adsorbente estirénica, acrílica o fenólica, de vino diluido de bagazo de uva o de extractos acuosos de semillas de uva. El vino diluido de bagazo de uva es una disolución obtenida después de la difusión en agua del bagazo de uva; el bagazo de uva es la parte sólida que se recupera como resultado de la etapa de prensado de la uva; está constituido por el conjunto de los hollejos, de las semillas de la uva, así como de los escobajos.

20 Según una variante de la realización de este procedimiento, esas dos etapas (e1) y (e2) siguen la etapa (e) del procedimiento de extracción de los compuestos fenólicos de pequeña masa molecular según la invención.

25 El secado por atomización (o pulverización) es una técnica de eliminación del agua por arrastre, que consiste en pulverizar un producto líquido en una corriente de aire caliente. Concretamente, esta técnica consiste en inyectar el producto líquido que se va a deshidratar, en forma de una fina neblina por la parte superior de una torre, al mismo tiempo que una corriente de aire muy caliente recorre dicha torre; bajo el efecto del calor, el agua se evapora y el polvo deshidratado cae hacia la parte inferior de la torre.

Dicho procedimiento de preparación de un polvo valorado en compuestos fenólicos y polifenólicos de aceituna y de uva lleva a un polvo que comprende como mínimo, 95% de compuestos fenólicos y polifenólicos.

30 También se describe un polvo valorado en compuestos fenólicos y polifenólicos de aceituna y de uva que comprende, como mínimo, 95% de compuestos fenólicos, del cual del 5 al 40% de la materia seca proviene de la composición A; la materia seca que proviene de la mencionada composición A está compuesta por, como mínimo, 80% de compuestos fenólicos totales, de los cuales el 30%, como mínimo, es de hidroxitirosol y el 10%, como mínimo, de tirosol, de dicha composición.

35 El ejemplo 5 demuestra que los polvos según la presente invención presentan una muy buena actividad antirradicales. En efecto, esa actividad antirradicales es superior a la suma de la actividad antirradicales de la composición A y de la de los extractos de uva tomados por separado, lo que demuestra un efecto sinérgico de la asociación de la composición A y de los polifenoles de los extractos de uva en los polvos de la invención.

A modo indicativo, los polvos valorados en compuestos fenólicos y polifenólicos de aceituna y de uva obtenidos a partir de aceituna y de extractos de semillas de uva presentan las siguientes gamas de contenidos:

Compuestos fenólicos totales	de 60 a 100%
Procianidinas	de 18 a 50%
Hidroxitirosol	1,5 a 16%
Tirosol	0,5 a 8%

40 En el caso en que los polifenoles de uva provengan del bagazo de la uva, el polvo comprende las gamas de contenidos siguientes:

Compuestos fenólicos totales	de 60 a 100%
Procianidinas	de 9 a 25%
Antocianos	de 1,2 a 8%
Hidroxitirosol	de 1,5 a 16%
Tirosol	de 0,5 a 8%

Los polvos obtenidos según este procedimiento también son objeto de la presente invención.

5 Las composiciones A enriquecidas en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular y los polvos según la presente invención presentan numerosas aplicaciones. Tienen interés especialmente marcado en el campo de la cosmética, debido a su utilización como agente para la prevención del estrés oxidante de la piel (dermis y epidermis), como agente antirradicales, como agente antienvjecimiento pero, también, en el campo alimentario, en especial para la utilización como complementos alimentarios o, también, como conservador.

Las composiciones A enriquecidas en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular y los polvos aquí descritos son particularmente activos como agentes despigmentantes y/o blanqueadores de la piel; favorecen, de ese modo, la eliminación de pecas y de irregularidades pigmentarias de la piel.

10 La invención se describe a continuación con más detalle, en relación con los ejemplos que siguen. Debe quedar bien en claro, no obstante, que todos estos ejemplos se dan únicamente a modo de ilustración del objeto de la invención, de la cual en modo alguno constituyen una limitación.

Ejemplo 1 - Selección de una membrana de nanofiltración

15 A fin de optimizar la separación de los compuestos fenólicos de pequeña masa molecular por medio de nanofiltración, se han evaluado varias membranas comerciales en cuanto al rendimiento (densidad de flujo de permeado) y de retención.

Las pruebas se llevaron a cabo a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ en una instalación piloto de laboratorio (3 l de volumen nominal) en configuración plana con una superficie de membrana útil del orden de $1,5 \cdot 10^{-2} \text{ m}^2$. Las presiones transmembranarias elegidas se escalonan entre 1 y 3 MPa y la velocidad tangencial se acerca a $1 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$.

20 Para evaluar la viabilidad de la separación de los compuestos fenólicos de pequeña masa molecular se han preseleccionado nueve membranas de nanofiltración (proveedor Microdyn Nadir, Dow Filmtec, GE Osmonics, Toray, Koch). Esas membranas presentan un umbral discriminatorio comprendido entre 150 y 400 Da (valores anunciados por los fabricantes).

25 Se las sometió a prueba sobre una marginal estándar con 4% de materia seca sin concentración, es decir con un factor de reducción volumétrica cercano a 1. Según la membrana y la presión transmembranaria empleada, las densidades de flujo de permeado varían entre 3 y $133 \text{ kg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla I siguiente.

Membranas			Densidad de flujo del permeado ($\text{l} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)	Retención (%)		
Proveedor	Naturaleza polímero capa activa	Referencia		Materia seca	Polifenoles totales	Hidroxitirosol
Microdyn Nadir	Poliétersulfonas	NP030	3-5	78	51	17
		NP010	13-23	52-73	41-46	9
Dow Filmtec	Poliamidas	NF270	20-56	90-96	58-59	26-43
		NF200	14-42	87-94	56-64	22-40
		NF90	3-19	> 99	98	99
GE Osmonics	Poliamidas	DK	20-92	92-99	78-82	1-40
		DL	27-133	75-97	51-78	1-44
Toray	Alcohol polivinílico / poliamidas	UTC60	14-45	90-94	56-66	22-39
Koch	Poliamidas	MPF34	7-17	> 99	93	87

Tabla I: Resultados de nanofiltración obtenidos sobre las diferentes membranas probadas.

30 Las membranas probadas retienen entre 52 y 99% de la materia seca y entre 41 y 98% de polifenoles totales de las marginales tratadas (determinado con el método de Folin-Ciocalteu, Folin Singleton VL, Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Meth.Enzymol.*1999; 299: 152-178.).

La retención de hidroxitirosol, principal compuesto fenólico de pequeña masa molecular, es menor: las membranas probadas retienen entre un 1 y un 44% del hidroxitirosol presente en las marginales tratadas, con la excepción de las

membranas Dow Filmtec NF90 y Koch MPF34.

Aunque *a priori* las membranas sean parecidas, se observa que los rendimientos globales del procedimiento (densidad de flujo del permeado) y los rendimientos de la separación (retención) están estrechamente relacionados con la elección de la membrana de nanofiltración.

- 5 En el marco de la aplicación considerada, las membranas más adecuadas son las que permiten obtener, a un mismo tiempo, una retención reducida de hidroxitirosol, una retención elevada de materia seca y de polifenoles totales y, por último, una densidad elevada de flujo de permeado. Entre las membranas probadas, la mayoría de las membranas cuya capa activa se compone de poliamidas llevan a resultados interesantes. Aquéllas cuya capa activa está constituida por poliétersulfonas no responden más que parcialmente a esos criterios.

10 **Ejemplo 2 – Influencia de la concentración de las marginales sobre la eficacia de la etapa de nanofiltración**

A fin de evaluar el impacto de la concentración de las marginales sobre la densidad de flujo de permeado y la retención, se han tratado las marginales que presentan una cantidad de materia seca que varía del 3,5 al 22%. Para esos ensayos se eligen dos membranas de entre las más eficaces probadas en el ejemplo 1: GE Osmonics Desal DL y DK.

- 15 Al igual que en el ejemplo 1, las pruebas se han realizado a 30°C en una instalación piloto de laboratorio en configuración plana con una superficie útil de membrana del orden de $1,5 \cdot 10^{-2} \text{ m}^2$. Las presiones transmembranarias utilizadas se escalonan entre 20 bares (2 MPa) y 30 bares (3 MPa) y la velocidad tangencial, próxima a $1 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla II.

Membrana	Materia seca de marginales (%)	Presión transmembranaria (bar)	Flujo de permeado ($\text{kg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)
GE Osmonics Desal DL	4	20	95,4
		25	105,3
		30	132,7
	13	20	10,4
		25	19,5
		30	29,8
	22	20	< 0,8
		25	1,1
		30	3,2
GE Osmonics Desal DK	4	20	63,2
		25	78,2
		30	91,9
	13	20	5,0
		25	12,7
		30	22,5
	22	20	< 0,8
		25	< 0,8
		30	0,8

Tabla II

- 20 Para las dos membranas, el flujo de permeado disminuye con rapidez en función del aumento del contenido de materia seca. Por ejemplo, a 20 bares, la densidad de flujo del permeado se divide por 10, cuando el contenido de materia seca pasa de 4 a 13%. Para el 22% de materia seca, las densidades de flujo de permeado son muy reducidas: la presión se debe mantener superior a los 25 bares para obtener densidades de flujo de permeado de algunos $\text{kg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.

- 25 Estos resultados demuestran que para garantizar un caudal superior a $10 \text{ kg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, en las condiciones operativas probadas, resulta difícil sobrepasar los 13 a 15% de materia seca. Este contenido corresponde a un factor de reducción volumétrica comprendido entre 3 y 4 o sea, un rendimiento de producción de permeado próximo al 70%.

El factor de reducción volumétrica (FRV) se define como la relación entre el volumen de producto inicial en el volumen de retenido final, o sea $\text{FRV} = V_0/V_f$; como $V_0 = V_f + V_p$, FRV está directamente relacionado con el rendimiento volumétrico de producción de permeado $X = V_p/V_0$, o sea en porcentaje $X = 100 \cdot (1 - 1/\text{FRV})$.

- 30 Se constata, por otra parte, que a las retenciones las afecta poco el contenido de materia seca de las marginales de alimentación; los índices de materia seca y de polifenoles totales en el retenido disminuyen ligeramente cuando la concentración de las marginales aumenta.

Ejemplo 3 – Pruebas de nanofiltración a escala semiindustrial

- 35 Las pruebas de laboratorio han permitido evaluar la viabilidad técnica del procedimiento de nanofiltración para enriquecer el producto en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular. También han permitido seleccionar

membranas comerciales adecuadas para efectuar la operación. A fin de evaluar el procedimiento en una escala más adecuada a una utilización industrial se han realizado pruebas utilizando módulos de nanofiltración en espiral de 2,5 m² de superficie útil. La instalación aplica una capacidad nominal de 80 l. La presión transmembranaria elegida está comprendida entre 2 y 3 MPa, la temperatura es de 30°C y el caudal de circulación es de 1,7.10⁻⁴ m³.s⁻¹.

- 5 La primera prueba se ha realizado en las mismas membranas que las presentadas en el ejemplo 2, es decir, las membranas GE Osmonics Desal DL y DK. Durante esta prueba, el permeado se extrae continuamente hasta alcanzar un factor de reducción volumétrica de 8.

10 Los resultados obtenidos en términos de rendimiento, están de acuerdo con los obtenidos en la instalación piloto de laboratorio: la densidad de flujo de permeado disminuye cuando el porcentaje de materia seca de las marginales aumenta. El factor de reducción volumétrica máximo para obtener una densidad de flujo de permeado mayor de 10 kg.h⁻¹.m⁻² está comprendido entre 4,5 y 6, o sea un rendimiento de producción de permeado próximo al 80%. Para factores de reducción volumétrica comprendidos entre 2 y 6, la materia seca del permeado está enriquecida de 2 a 4 veces en compuestos fenólicos totales y de 5 a 13 veces en hidroxitirosol.

15 Se han realizado pruebas complementarias con los dos mismos módulos de membrana en espiral de 2,5 m² y en condiciones similares a las descritas anteriormente. Esas pruebas apuntan a verificar la estabilidad de los rendimientos de la operación simulando un funcionamiento continuo con dos etapas sucesivas de concentración. La primera etapa corresponde a un factor de reducción volumétrica de 2 (o sea, un rendimiento de producción de permeado del 50%) y la segunda, a un factor de reducción volumétrica de 8 (o sea, un rendimiento de producción del 75%).

20 Las densidades de flujo de permeado son alrededor de 15 veces menores en la segunda etapa, con relación a la primera. Comprobadas en las duraciones de la meseta de 120 minutos, las densidades de flujo son estables en el transcurso de las dos etapas. En cuanto a la retención, los resultados corroboran los obtenidos anteriormente. La realización industrial del procedimiento en continuo es, por lo tanto, perfectamente viable.

Ejemplo 4 – Realización del procedimiento según la invención a escala industrial

25 A fin de validar el procedimiento en su globalidad, se ha realizado una prueba a escala industrial, integrando todas las etapas del procedimiento según la invención.

Para esta prueba se han utilizado 19,3 m³ de marginales frescas acidificadas con ácido cítrico a pH de 4,2.

30 Estas marginales se han clarificado en primer lugar por filtración en filtro rotatorio al vacío; después han tratado por ultrafiltración en una instalación provista de 37,2 m² de membranas cerámicas tubulares con umbral discriminatorio de 150 kDa. A continuación, el permeado obtenido (13,9 m³) se ha nanofiltrado en una instalación provista de 18 m² de membranas orgánicas en espiral GE Osmonics Desal DL. Entonces, el permeado de nanofiltración (10,6 m³) se ha tratado en resinas absorbentes RELITE SP411®. Después de la elución en etanol al 80% y concentración al vacío del eluido alcohólico, se han obtenido 45,7 kg de composición enriquecida en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular con 48% de materia seca. Esta composición contiene 41,7% de polifenoles (A_{280nm} equiv. de catequina, es decir, expresada en equivalente de catequina y medida con un espectrofotómetro a 280 nm según J. Zhishen, T. Mengcheng, W. Jianming (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *J Food Chem*, volumen 64, págs. 555-559), 17% de hidroxitirosol y 6% de tirosol (medidos por cromatografía en fase líquida de alto rendimiento, HPLC).

35 La composición enriquecida en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular finalmente se seca por atomización con un extracto de uva. Antes del secado, la composición y el extracto de uva se mezclan de manera tal que la materia seca de la mezcla está compuesta por 80% de materia seca de uva y 20% de materia seca de dicha composición. El producto final obtenido es un polvo fluido que no se vuelve masa. Contiene únicamente polifenoles 100%, A_{280nm} equiv. de catequina). Está constituido por 17,4% de procianidinas, 7,6% de hidroxitirosol, 2,7% de tirosol (HPLC) y 3,1% de antocianinas (medido mediante el método de Riberau-Gayon *et al.*, 1975, *Sciences et techniques du vin*, Tomo III, Dunod, Paris).

40 El secado de dicha composición en las mismas condiciones, pero con ayuda de polifenoles de semillas de uva (de la misma manera, la mezcla es tal que la materia seca de la mezcla está compuesta por 80% de materia seca de semillas de uva y 20% de materia seca de la composición) también conduce a un polvo fluido que no se vuelve masa y que está compuesto únicamente por polifenoles. Este segundo polvo se compone de 31,2% de procianidinas (método de vainillina, Broadhurst R.B., Jones W.T. 1978. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *J. Science Food Agriculture*, 29 :788-794), de 6,9% de hidroxitirosol y de 2,5% de tirosol (HPLC).

Ejemplo 5 – Medición de la actividad antirradicales de las composiciones y los polvos según la invención

Las propiedades antirradicales de las composiciones enriquecidas en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular obtenidas a partir de aguas de vegetación y de los polvos obtenidos por secado de dichas composiciones con, como ayuda al secado, los polifenoles de uva, se han evaluado por el método ORAC.

55 El método ORAC, para «Oxygen Radical Absorbance Capacity» (CAO *et al.* 1993, *Free Radical Biol. Med.* 14, 303-

311; PRIOR *et al.* 2003, *J. Agric. Food Chem.* 51, 3273–3279) es un método de medición *in vitro* de la actividad antirradicales. Su principio se basa en la utilización de la fluoresceína, molécula fluorescente natural muy sensible a los radicales libres. Los radicales libres, que son producidos por el AAPH (dihidrocloruro de 2,2'-azobis (2-amidinopopano)) en el medio de reacción, reaccionan con los antioxidantes de la composición o el polvo que se ha de probar. Por lo tanto todos los radicales libres han reaccionado con los antioxidantes, la composición o el polvo que se ha de probar, destruyen la fluoresceína y la fluorescencia desaparece. El valor ORAC se determina mediante la medición del área bajo de la curva de la fluorescencia en función del tiempo. Se comparan los resultados con los datos obtenidos con TROLOX (análogo de la vitamina E); se expresan en micromoles de TROLOX Equivalentes (TEQ) por g., kg. o por litro.

10 Los valores ORAC medidos en el marco de esas pruebas figuran en la Tabla III.

Composición	Valor ORAC de la composición	Valor ORAC de la materia seca
Composición enriquecida en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular de aguas de vegetación	6.340 micromoles TEQ/g	13.200 micromoles TEQ/g
Polifenoles de extracto de semilla de uva	-	19.000 micromoles TEQ/g
Polifenoles de extracto de uva	-	13.100 micromoles TEQ/g
Polvo obtenido con, como ayuda al secado, el extracto de semilla de uva	19.300 micromoles TEQ/g	-
Polvo obtenido con, como ayuda al secado, el extracto de uva	15.100 micromoles TEQ/g	-

Tabla III

Para una composición enriquecida en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular a partir de aguas de vegetación, el valor OARC es de 6.340 micromoles TEQ/g; sabiendo que la materia seca de ese extracto es de 48%, esto corresponde a 13.200 micromoles TEQ/g de materia seca.

15 El valor ORAC del extracto de semilla de uva y el del extracto de uva son, respectivamente, de 19.000 micromoles TEQ/g y 13.100 micromoles TEQ/g.

Así, para el polvo que contiene 80% de materia seca de extracto de semillas de uva y 20% de materia seca del extracto de aceituna se debería esperar un valor ORAC teórico calculado a partir de los valores ORAC de las materias secas correspondientes de 17.840 micromoles TEQ/g. Ahora bien, la medida del valor ORAC es de 19.300 micromoles TEQ/g.

20 Del mismo modo, para la mezcla que contiene 80% de materia seca de extracto de uva y 20% de materia seca de extracto de aceituna se debería observar un valor ORAC de 13.120 micromoles TEQ/g y el valor medido es de 15.100 micromoles TEQ/g.

25 Los valores ORAC obtenidos en los polvos según la invención son, pues, superiores a los esperados de 8 a 15 %, lo que demuestra un efecto sinérgico, en - la actividad antirradicales, de la asociación de compuestos fenólicos de pequeña masa molecular de la aceituna y de los polifenoles de la uva.

Ejemplo 6 – Ejemplo comparativo de realización del procedimiento según la invención a escala industrial, con una membrana de nanofiltración que no presenta las características requeridas

Otra prueba de realización del procedimiento a escala industrial se ha realizado con una membrana KOCH SR3 N2.

30 Para esta prueba, se acidifican 28 m³ de marginales con ácido cítrico para alcanzar un pH de 4,2.

Las marginales acidificadas se ultrafiltran a continuación en una instalación provista de 37,2 m² de membranas cerámicas tubulares con umbral discriminatorio de 150 kDa.

35 El permeado obtenido (24m³) se nanofiltran en una instalación provista de 18 m² de membranas orgánicas en espiral KOCH SR3 N2. El permeado de nanofiltración (18 m³) se ha tratado en una resina adsorbente RELITE SP411. Después de la dilución con etanol al 80% y de la concentración al vacío del eluido alcohólico, se obtienen 41 kg de composición enriquecida en compuestos fenólicos de pequeña masa molecular en 48,8% de materia seca. Esta composición contiene 37,6% de polifenoles (A_{280nm} equiv. catequina), 11% de hidroxitirosol y 4% de tirosol (HPLC). En esta composición, la proporción hidroxitirosol / polifenoles totales es solamente de 29,3 g / 100 g. Esta prueba confirma los resultados del ejemplo 1, la selectividad de esta membrana de nanofiltración es insuficiente para obtener una
40 composición enriquecida en compuestos fenólicos de interés.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de composición enriquecida en compuestos fenólicos de masa molecular inferior o igual a 400 Da a partir de aguas de vegetación de aceitunas caracterizado porque consiste en:
- (a0) una etapa opcional de acidificación de las aguas de vegetación para alcanzar un pH inferior o igual a 4,3;
- 5 (a) una etapa de clarificación de dichas aguas de vegetación por filtración, centrifugación o decantación; opcionalmente las tres etapas (a1) a (a3) siguientes:
- (a1) la concentración de marginales acidificadas y clarificadas para almacenarles;
- (a2) el almacenaje de las marginales acidificadas concentradas; después
- 10 (a3) la dilución en un disolvente de las marginales acidificadas concentradas con alrededor de 4% de materia seca antes de poner en práctica la etapa (b);
- (b) una etapa de ultrafiltración tangencial de las aguas de vegetación clarificadas obtenidas en la etapa (a) en una membrana cerámica tubular de umbral discriminatorio comprendido entre 100 y 200 kDa, y de recuperación del permeado;
- 15 (c) una etapa de nanofiltración de dicho permeado obtenido en la etapa (b) en una membrana orgánica en espiral con umbral discriminatorio comprendido entre 150 y 400 Da a una presión comprendida entre 1 y 3 MPa; dicha membrana es tal que comprende una capa activa que comprende, como mínimo, 50% de poliamida y que permite obtener un retenido que comprende, como mínimo, 80%, de la materia seca contenida en dichas aguas de vegetación y más del 25% de hidroxitirosol;
- 20 (d) una etapa de adsorción de los compuestos fenólicos contenidos en el permeado obtenido en la etapa (c) por paso sobre una matriz polimérica, seguido de la elución de los compuestos fenólicos adsorbidos sobre dicha matriz con un disolvente polar orgánico y la obtención de un eluido;
- (e) una etapa de concentración por destilación a vacío del eluido obtenido en la etapa (d) que lleva a un concentrado denominado composición A;
- 25 y una etapa de secado de dicha composición A.
2. Procedimiento para la preparación de un polvo valorado en compuestos fenólicos y polifenólicos de aceituna y de uva que comprende las etapas siguientes:
- (e1) la mezcla de la composición A obtenida por el procedimiento según la reivindicación 1 con un extracto de uva que comprende como mínimo el 60% de polifenoles totales; dicha mezcla comprende una cantidad de dicha composición tal que la materia seca de dicha composición representa entre el 5 y 40% de la materia seca total de la mezcla ; y
- 30 (e2) el secado por atomización de la mezcla obtenida en la etapa (e1).