



# OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 721 048

21 Número de solicitud: 201830072

(51) Int. Cl.:

**A23D 7/005** (2006.01)

(12)

#### PATENTE DE INVENCIÓN CON EXAMEN

B2

22) Fecha de presentación:

26.01.2018

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

26.07.2019

Fecha de concesión:

08.01.2020

(45) Fecha de publicación de la concesión:

15.01.2020

73 Titular/es:

PRIMLAB GLOBAL, SL (100.0%) C/Teulera, 1, bajo 03759 Benidoleig (Alicante) ES

(72) Inventor/es:

SIVERA MARZA, José Antonio y LLOBREGAT AGUSTÍ, Juan Carlos

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

(54) Título: Composición de polifenoles y aceite o grasas, procedimiento de preparación y usos del mismo.

(57) Resumen:

La presente invención se refiere a una composición que permite y un procedimiento para la obtención de dicha composición formada por un extracto fluido viscoso de polifenoles (por ejemplo Oleuropeína) homogeneizado con aceite, que permita ser empleado en la composición y/o fabricación de alimentos, a nivel industrial, para poder ser horneados, asados, fritos o hervidos y soportar temperaturas de hasta +-250°C sin perder sus propiedades nutricionales funcionales enfocadas a reducir los productos finales de glicación avanzados (AGEs).

S 2 721 048 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015. Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

#### **DESCRIPCIÓN**

Composición de polifenoles y aceite o grasas, procedimiento de preparación y usos del mismo.

5

#### **OBJETO DE LA INVENCIÓN**

La presente invención se refiere a un procedimiento de homogeneización para fabricar una composición en forma de fluido viscoso de polifenoles para que soporte altas temperaturas de hasta aproximadamente 250º C y así poder ser usado en los derivados de harinas de cereales y productos cárnicos horneados, asados, fritos y hervidos (pan, pizzas, pastas, hamburguesas, embutidos etc.), y de esta forma, preservar las cualidades nutricionales funcionales contra los productos finales de glicación avanzados (AGE's). Igualmente se refiere al producto y a sus usos.

15

10

La presente invención está dirigida al sector de la alimentación.

## **ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

20

Son conocidos en el mercado los productos derivados de la harina, como los panes, la repostería y pastas alimenticias, además de productos y derivados cárnicos que están en nuestra dieta diaria.

25

El pan ha sido y es un elemento básico de la dieta humana desde la antigüedad. La gente primitiva ya hacía pan ácimo -sin levadura- hace 12.000 años y en la actualidad se sigue la tradición con levadura y otros componentes nutricionales. Además, la carne, es uno de los alimentos más consumidos en el mercado. Desde tiempos remotos las carnes han formado parte de la dieta del hombre. Los humanos se convirtieron en cazador activo hace unos 100.000 años, reflejado en las pinturas rupestres.

30

35

La carne se convirtió en una parte predecible de la dieta humana hace unos 7.000 años, cuando los antiguos pobladores de Oriente Próximo consiguieron domesticar una serie de animales salvajes. Mucho hemos domesticado las técnicas de trabajo con la carne, para dar paso a los productos cárnicos. Los derivados cárnicos se definen como los productos alimenticios preparados, total o parcialmente, con carnes, despojos, grasas y subproductos comestibles, que proceden de animales de abasto y que pueden ser complementados con

aditivos, condimentos y especias.

Actualmente, los componentes nutricionales químicos aplicados a los alimentos como conservantes, emulgentes, correctores de la acidez, grasas, potenciadores del sabor, espesantes y hasta colorantes forman parte hoy en día de las fórmulas que se emplean para la fabricación, en general, de todo tipo de productos, que no son los más deseables para nuestra salud ya que pueden generar problemas y diversas alteraciones no recomendables para nuestro organismo.

Ejemplos de dichos componentes nutricionales químicos; como el E-1200 (Polidextrosa) que provoca diarreas frecuentes si se consumen en cantidades inadecuadas (Burdock & Flamm 1999) y si se consume como prebiótico (Scalabrin et al. 2012) provoca heces blandas, también puede causar saciedad aguda y reduce el consumo de energía en comidas posteriores en sujetos humanos sanos (Hull et al. 2012). El E-415 (goma Xantana) un espesante de la fermentación de la glucosa que no es recomendable para recién nacidos y embarazadas porque podría producir enterocolitis necrosante (Beal et al. 2012), Se encontró que un estudio con el E-415 que era un agente laxante altamente eficiente causando un aumento significativo en la producción de heces, en la frecuencia de la defecación y en la flatulencia (Daly et al. 1993). En dosis muy bajas provoca inflamación intestinal. El aceite de Palma como ácidos grasos saturados, son nocivos para la salud (Ebong et al. 1999). Muchos componentes nutricionales incluidos en productos alimenticios en la actualidad hacen el papel de antioxidantes, emulsionantes, espesantes y gelificantes con su repercusión en la salud si no hay un control por parte del consumidor.

Entre otros muchos aditivos químicos en nuestros alimentos se encuentra el glutamato monosódico (GMS) que es la sal de sodio del ácido glutámico químico, también conocido como el aditivo "umami", que se encuentra en muchas comidas preparadas comercialmente y que químicamente contiene un 78% de ácido glutámico libre, 21% de sodio y hasta 1% de contaminantes. El umami es uno de los cinco sabores básicos, junto con el amargo, dulce, ácido y salado, se encuentra naturalmente en algunos alimentos como la carne, las espinacas y los champiñones, sin embargo, el GMS es el resultado de un proceso químico. Este popular aditivo de alimentos procesados se asocia con múltiples, y poco deseables, efectos secundarios que pueden variar de individuo a individuo, el GMS en el estómago, dificultad para respirar y debilidad en general. En los individuos asmáticos, las dificultades respiratorias pueden empeorar.

El azúcar blanco no es bueno porque no aporta ningún nutriente, aporta energía, pero nada más. Esta se compone de glucosa y fructuosa. El problema es la manera en que lo consumimos, porque las frutas y verduras, por sí mismas, ya contienen azúcares. Los azúcares refinados son causantes de obesidad, de un desequilibrio nutritivo, caries etc. Los edulcorantes químicos también son dañinos, pues aumentan el riesgo de cáncer, como el aspartamo, la sacarina y ciclamatos (E 952), que se emplea en chicles, bebidas dulces, refrescos de cola, jugos y zumos de frutas, postres, bollería industrial y en muchos productos etiquetados con el termino sin azúcar o light o cero o bajo en calorías. El azúcar refinado no tiene proteínas, ni vitaminas, no tiene minerales ni tiene enzimas, no tiene micro elementos, no tiene fibra, no tiene grasas y no aporta ningún beneficio en la alimentación humana.

La sal cristalina natural es simple cloruro sódico, además a la toxicidad del cloruro sódico hay que añadir la del yodo y el flúor, minerales que hoy se agregan artificialmente a la sal. En la actualidad, mucha comida se encuentra llena de sal refinada, que aumenta el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, consumir este tipo de sal equivale entre 8 a 20 veces más que la que se debiera comer. Pues con la finalidad de que el sodio y el potasio encuentren un equilibrio, se debe consumir de 1,5 g/día, pero si no se respeta, es cuando aparecen enfermedades cardiovasculares.

La harina blanca producida en el mercado es casi puro almidón que contiene una pequeña fracción de los nutrientes del grano original. Además, los tratamientos químicos en el grano dan como resultado la formación de un subproducto llamado aloxano —un veneno utilizado en la industria de la investigación médica para producir diabetes en animales sanos (Cubillos et al. 2008). El aloxano causa diabetes al hacer girar enormes cantidades de radicales libres en la célula pancreática beta, destruyéndolas. Las células beta son las células primarias de las zonas del páncreas llamadas islotes de Langerhans y producen insulina, que, al destruirlas, se desarrolla la diabetes mellitus.

Teniendo en cuenta el rango epidémico de la diabetes y otras enfermedades crónicas, no es buena idea tener una toxina como esta en el pan, incluso si es en pequeñas cantidades. Cuando más fina y blanca es la harina, menos fibra, vitaminas y minerales contiene. El pan blanco, el pan de salvado, los panes de bollería, no contienen vitaminas ni minerales, mientras que favorecen las caries, el cáncer, el colesterol y la diabetes.

La industria de las carnes procesadas también procesa e incorpora aditivos a las carnes, algunos de dichos aditivos son:

Nitrato de sodio: es un conservante habitualmente utilizado en carnes procesadas. Su consumo está ligado al desarrollo de varios tipos de cáncer.

Hidrocarburos poli-cíclicos: se trata de carcinógenos que se forman al quemarse la grasa de los alimentos, expuestos a altas temperaturas o directamente a las llamas.

Acrilamida: es un carcinógeno formado al cocinar o freír alimentos ricos en almidón a altas temperaturas, como patatas o legumbres.

Conservantes: conocidos por sus siglas en inglés, BHA y BHT (antioxidantes sintéticos procedentes de la industria petrolera) se trata de preservantes químicos ya declarados como cancerígenos por la Oficina Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer. Además, reducen la fertilidad en las mujeres y en general interfieren con los procesos hormonales del organismo.

Aminas heterocíclicas: son carcinógenos creados cuando las sustancias naturales de la carne y el pescado reaccionan a la vez bajo fuertes temperaturas.

Dioxinas: son residuos tóxicos que se acumulan en las comidas con grasa y que pueden acarrear daños en el hígado, cáncer, defectos congénitos y problemas endócrinos e inmunológicos.

25

15

5

Todos estos ejemplos de aditivos en el sector alimenticio son factores de controversia por los efectos negativos en la salud y ofrecen pocas alternativas nutricionales funcionales saludables para el consumo humano.

Los compuestos fenólicos se dividen en dos grandes grupos, los fenoles simples (monofenoles) y los fenoles complejos (polifenoles). Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. Estos compuestos se caracterizan por la presencia del grupo hidroxilo (-OH) que están unidos a un anillo aromático.

Existen muchos tipos de polifenoles, entre los más conocidos están los flavonoides, estilbenos, lignanos, taninos condensados y ácidos fenólicos. Existen diferentes tipos de extracción para la industria alimenticia, farmacéutica etc... y los métodos de extracción más conocidos son:

5

10

15

20

25

30

- Extracción asistida por ultrasonido (UAE)
- Extracción asistida por microondas (MAE)

En la actualidad, los extractos secos estandarizados de polifenoles industriales son muy beneficiosos para la salud, principalmente por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas, antifúngicas, antivirales, (Kontogianni et al. 2013), entre otros. Nuestra invención va destinada al sector de consumo diario de productos esenciales en la dieta humana (pan, pizzas, pastas, hamburguesas, embutidos etc.), que incorporando este tipo de componente nutricional funcional en su fabricación, pueda ayudar a evitar uno de los factores involucrados en el desarrollo de diversas enfermedades que es la glicosilación no enzimática (glicación) de proteínas y lípidos y la formación excesiva de productos finales de glicación avanzados (Advanced Glycation End Products, AGEs, de sus siglas en inglés). La glicación es el resultado de la unión típicamente covalente de una molécula de proteína o lípido con una molécula de azúcar (como glucosa) sin la intervención de ninguna enzima. La glicación es un proceso al azar que deteriora el funcionamiento de las biomoléculas, mientras que la glicosilación se produce en sitios definidos en la molécula diana y se requiere para que la molécula funcione correctamente (Ahmed & Furth 1992).

Las dietas modernas son generalmente cocinadas con calor y como resultado contienen altos niveles de AGEs. Los AGEs en la alimentación se les denominan dAGEs (Dietary Advanced Glycation End Products, de sus siglas en inglés) se sabe que contribuyen al aumento del estrés oxidante y a la inflamación, que están vinculados a las recientes epidemias de diabetes y enfermedades cardiovasculares. Los AGEs *in vitro*, inducen alteraciones estructurales y funcionales sobre diversas células y tejidos. Se ha reportado en la literatura que la acumulación de AGEs sobre proteínas de matriz extracelular, así como los AGEs solubles inducen efectos deletéreos sobre el crecimiento y diferenciación de osteoblastos en cultivo. Estos efectos ocurren a través de la interacción de AGEs con receptores de superficie (RAGE) descritos y caracterizados en osteoblastos. Todos estos efectos contribuyen a la patogénesis de la osteopenia diabética.

35

La producción intracelular de los precursores de AGEs dañan las células mediante tres

mecanismos. El primer mecanismo es la modificación de las proteínas intracelulares, en particular, de las proteínas implicadas en la regulación de la transcripción génica. En el segundo mecanismo, los precursores de los AGEs pueden difundirse fuera de la célula y modificar moléculas de la matriz extracelular, cambiando de esta manera la señalización entre la matriz y la célula provocando una disfunción celular. El tercer mecanismo involucra la modificación de las proteínas circulantes en la sangre, tales como la albúmina, por acción de precursores AGEs que se difunden fuera de la célula. Estas proteínas circulantes modificadas pueden unirse a los receptores de los AGEs y activarlos, lo que ocasiona la producción de citoquinas inflamatorias y factores de crecimiento, que a su vez originan la patología vascular (Brownlee 2001).

5

10

15

30

35

La interacción entre los AGEs y su receptor, RAGE, contribuye a la progresión de la aterosclerosis y acelera el estrés oxidativo (Falcone et al. 2005). En pacientes diabéticos, la activación de la vía de AGE-RAGE juega un papel central en la cascada de eventos que resultan en la formación acelerada de la placa aterosclerótica, la erosión de la placa y la fisuración (Bucciarelli et al. 2002). Los AGEs aumentan la acumulación de lípidos en los macrófagos a través de la interacción de AGE-RAGE, alterando la afluencia del colesterol y acelerando la aterogénesis diabética (Xu et al. 2016).

Los AGEs son un grupo heterogéneo de moléculas, formados in vivo por reacciones no oxidativas de los azúcares con proteínas y lípidos. Está bien establecido que la formación y acumulación de AGEs progresan durante el envejecimiento normal y a un ritmo extremadamente acelerado en diabetes, por lo tanto, están implicadas en varios tipos de trastornos relacionados con los AGEs, tales como complicaciones vasculares diabéticas, enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer y Parkinson), colesterolemia, formación de cataratas, envejecimiento, cáncer y otros tipos de complicaciones.

Ejemplos de AGEs y/o sus precursores son el hidroximetilfurfural (HMF), AGEs fluorescentes libres, pentosidina, N $\epsilon$ -carboxietil-lisina, compuestos de 1,2-dicarbonilo (glyoxal de metilo, la 3-deoxiglucosona) y muchos más.

Desde hace años se busca una alternativa para inhibir los AGEs, ya que son los precursores de desarrollo de varias enfermedades. Los polifenoles vienen frecuentemente suministrados en formas que no soportan temperaturas altas. Por ejemplo, como extractos secos estandarizados de Oleuropeína, hidroxitirosol, taninos condensados, proantocianidinas, son componentes fenólicos que no soportan temperaturas altas. Por este motivo la presente

invención se centra en dos partes, la producción de un fluido viscoso de extracto seco estandarizado de polifenoles homogeneizado con aceite o grasas comestibles (en adelante "aceite" por ser la realización preferida), que otorgue la propiedad de aguantar temperaturas altas y por otra parte, la propiedad de poder atacar a los AGEs en el cuerpo, según nuestros datos experimentales para las pentosidinas y Nε-carboxietil-lisina (para diabetes), así como la producción de citosinas (proteínas que regulan la función de las células), radicales libres involucrados en muchas enfermedades.

El proceso de glicación representa un conjunto complejo de vías metabólicas que media la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), destoxificación, disposición intracelular, liberación extracelular e inducción de la transducción de señales a través de citocinas y otras señales celulares. Estos procesos modulan la respuesta a la hiperglucemia, obesidad, envejecimiento, inflamación, artritis, aterosclerosis, cáncer, enfermedades neurodegenerativas, e insuficiencia renal, en los que se facilita la formación y acumulación de los AGEs. Se ha demostrado que los mecanismos de protección anti-AGEs endógenos se frustran ante la enfermedad crónica, amplificando este modo la acumulación y las acciones celulares perjudiciales de estas especies.

## **EXPLICACIÓN DE LA INVENCIÓN**

20

25

5

10

15

La presente invención está destinada a aportar componentes nutricionales funcionales de una manera novedosa, puesto que hemos fabricado un fluido viscoso vegetal, compuesto polifenoles (por ejemplo extracto seco estandarizado de Oleuropeína, generalmente comercializado con entre un 20 y un 80% de pureza) y aceites o grasas comestibles tales como: aceite de girasol, de colza, de oliva, de orujo, de palma, de maíz etc. o grasas vegetales y animales para consumo humano que soporten hasta aproximadamente 250° C de temperatura de cocción preservando las propiedades funcionales de los productos destinados al consumo diario mencionados en esta patente. El problema en general de los polifenoles reside en que no puede sobrepasar la temperatura máxima de unos 90° C, es decir, a partir de temperaturas superiores, pierde sus propiedades funcionales. Los polifenoles son generalmente subdivididos en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y fenilpropanoides, como la lignina, flavonoides y taninos condensados y son antioxidantes con muchísimas propiedades o beneficios para nuestra salud, pero destacan en la lucha contra los radicales libres.

35

30

El objeto de la presente invención es ofrecer, como componente nutricional funcional en los

derivados de harinas de cereales, las sémolas duras de cereales y demás harinas para el sector de la alimentación, así como componente nutricional funcional en preparados y derivados cárnicos, un nuevo tipo de fluido viscoso vegetal (polifenoles y aceite) o animal si se usa una grasa con este origen, que pueda ser mezclado fácilmente en la fabricación industrial y poder ofrecer unos productos alimenticios, que en su fabricación necesitan someterse a elevadas temperaturas sobrepasando los  $\pm 90^{\circ}$  C y que puedan ayudar a reducir los riesgos derivados de los AGEs, antes mencionados, sin alterar las propiedades organolépticas de dichos productos.

Otro objeto de la presente invención es fabricar un nuevo fluido viscoso vegetal o animal (preferiblemente polifenoles y aceite) en forma de una emulsión estable y que resista altas temperaturas.

El procedimiento, para la obtención del fluido viscoso vegetal con extracto seco estandarizado de polifenoles, (según protocolos de los fabricantes) y aceite o grasa comestible para soportar altas temperaturas sin que pierdan sus propiedades nutricionales funcionales, es a través de la homogeneización con aceite, preferiblemente aceite de oliva virgen con un extracto seco de polifenoles y que no altere las propiedades funcionales de los polifenoles. Para ello se considerará que no se han alterado si tras 20 minutos a 250º C se mantiene al menos el 65% de los polifenoles iniciales.

En este proceso de homogeneización se mezclan el aceite con extracto seco estandarizado de polifenoles extraídos de la hoja del olivo (*Olea europaea*) u otro origen, en un tanque de mezclado con agitación a una temperatura de entre 20 y 40º C durante el tiempo suficiente para que la mezcla esté completamente disuelta. Por ejemplo, en cuatro fases y a varias velocidades y se deja reposar el contenido con el aceite entre fases.

El procedimiento preferido para la fabricación del fluido viscoso vegetal que lleva polifenoles y aceite comprende cuatro fases:

30

35

5

15

20

25

Primera fase: Se añade en un tanque con agitador de paleta el aceite o grasa y extracto seco estandarizado de polifenoles en una proporción mínima del 50% en peso de aceite o grasa comestible y se remueve a una velocidad suave como podría ser de entre 80 a 200 rpm y a una temperatura de entre 20 a 40° C, tal que el aceite o grasa está en fase líquida, constantes durante un tiempo suficiente para hacer la mezcla homogénea. Transcurrido dicho tiempo se deja reposar la mezcla unas horas a una temperatura ambiente de entre 20

a 25º C. Tras el primer análisis visual, se observa que la mezcla posee pocos grumos en suspensión.

Segunda fase: Al cabo de unas horas se vuelve a repetir el paso anterior para obtener una homogeneización perfecta. Se remueve el fluido viscoso a una velocidad suave de aproximadamente de entre 80 a 200 rpm a una temperatura de entre 20 a 40° C constantes durante un tiempo suficiente para hacer la mezcla homogénea. Transcurrido dicho tiempo se deja reposar la mezcla a una temperatura ambiente de 20 a 25° C.

Tercera fase: Se remueve el fluido viscoso a una velocidad suave de entre 80 a 200 rpm a una temperatura de 40° C constantes durante 1h aproximadamente, y transcurrido dicho tiempo se deja reposar unas horas a una temperatura ambiente de entre 20 a 25° C. Tras el análisis visual se observa un fluido muy viscoso.

15 Cuarta fase y final: El fluido viscoso se vuelve a remover durante 2 h a una velocidad de 80 a 200 rpm a una temperatura ambiente y se deja reposar durante 1 h y almacenar. Tras el análisis visual, se observa que el fluido viscoso está totalmente homogeneizado.

El producto final (100 ml), de un ejemplo de procedimiento aplicando Oleuropeína, se sometió a un análisis de cocción a una temperatura de 250º C en un horno convencional durante 20 min, para verificar la resistencia al calor y se procedió a hacer un análisis por HPLC a las 2 h y verificar el contenido y estabilidad de la Oleuropeína.

Las muestras fueron embotelladas en un matraz de vidrio de color ámbar y se mantuvieron en la oscuridad a -2º C hasta su análisis. Por lo general, los productos horneados se suelen someter a temperaturas de cocción de alrededor de 220º C, la temperatura interna de cocción del producto suele alcanzar hasta unos 150º C.

### Análisis por HPLC:

30

35

20

25

5

Para la cromatografía se usó una columna de c18 (acero inoxidable, 5µm, 4,6 \* 150 mm), con solución acuosa de ácido fosfórico al 0,1% y acetonitrilo como fase móvil, la velocidad de flujo: 0,8 ml/min, longitud de onda detectada: 254 nm, temperatura de la columna 30 °C. Pare preparar el estándar después del secado por pentóxido de fósforo, se pesó con exactitud 0,25 mg de Oleuropeína estándar, y se disolvió en 1 ml de metanol al 70% como la solución estándar. Para la preparación de la muestra, se tomaron 50 ml del fluido viscoso y

se añadió a un matraz aforado de 50 ml y 40 ml de 70% de metanol. Se sometió a ultrasonidos la solución del ensayo durante 15 minutos, a continuación, se equilibró el contenido a temperatura ambiente. Se diluyó la muestra con 50 ml de 70% de metanol, se mezcló bien, utilizando un filtro de 0,45  $\mu$ m de membrana. Para el método de detección se inyectó 10  $\mu$ l de la solución estándar y la solución de ensayo utilizando el HPLC y se procedió al análisis. Usando una estandarización externa, se calculó el contenido de Oleuropeína de la siguiente manera:

#### Contenido de Oleuropeína:

10

20

25

30

35

5

- a) área del pico de la solución de prueba
- b) concentración de la solución estándar
- c) volumen de solución de prueba
- d) área del pico de la solución estándar
- 15 e) peso de la muestra

#### Oleuropeína = a.b.c/(d.e)

Tras el análisis por HPLC se pudo observar que la concentración de extracto seco estandarizado de Oleuropeína mezclado con AOVE en forma de fluido viscoso después de haber sido sometido a una temperatura de 250º C durante 20 min demostrando que solamente había perdido un 35% del contenido inicial de Oleuropeína.

Esta composición puede ser usada como componente nutricional en harinas o derivados de éstas, así como en productos o derivados cárnicos. Preferiblemente la cantidad de polifenoles será de entre 0,004 y 2 % (en peso) sobre el producto a considerar, (medida antes de la cocción).

La invención de este método de fabricación se describe por medio de los ejemplos, no siendo limitativo del alcance de la misma.

## REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de un extracto fluido viscoso de polifenoles (por ejemplo, Oleuropeína), más estable, que permita ser empleado en la composición y/o fabricación de alimentos, a nivel industrial, para ser horneados, asados, fritos o hervidos para poder soportar temperaturas de hasta 250º C sin perder sus

propiedades nutricionales funcionales enfocadas a los productos finales de glicación avanzados (AGEs).

Se añade como componente nutricional funcional en la fabricación de la masa de harinas para la confección de panes, masa de pizza, de todo tipo de repostería, procesados y derivados cárnicos (hamburguesas, embutidos, etc.). Se añade el principio activo (polifenoles con aceite) para su elaboración y en dosis mínimas recomendadas para la salud.

#### 10 Ejemplo de preparación de la composición

Primera fase: Se añade en un tanque con agitador de paleta el aceite de oliva virgen y extracto seco estandarizado de polifenoles (Oleuropeína al 20%) en una proporción de 70% a 30% (peso) respectivamente y se remueve a una velocidad suave de entre 110 rpm a una temperatura de 35º C constantes durante 1h. Transcurrido dicho tiempo se deja reposar la mezcla durante 3 h a una temperatura ambiente de 22 a 23º C. Tras el primer análisis visual, se observa que el color de la mezcla es verde oscuro con pocos grumos en suspensión.

Segunda fase: A las 3h se vuelve a repetir el paso anterior para obtener una homogeneización perfecta. Se remueve el fluido viscoso a una velocidad suave de entre aproximadamente 110 rpm a una temperatura de 35º C constantes durante 1 h. Transcurrido dicho tiempo se deja reposar la mezcla durante 16h a una temperatura ambiente de 22 a 23º C.

Tercera fase: Transcurridas las 16 h de reposo, se añade un 10 % más de extracto seco estandarizado de Oleuropeína al 20 % de pureza para conseguir un fluido muy viscoso, una vez homogeneizado, y se remueve el fluido viscoso a una velocidad suave de unas 110 rpm a una temperatura de 40º C constantes durante 1h y transcurrido dicho tiempo se deja reposar durante 17 h a temperatura ambiente 22 a 23ºC. Tras el análisis visual se observa un fluido muy viscoso y muy pocos grumos.

Cuarta fase y final: El fluido viscoso se vuelve a remover durante 2 h a una velocidad de 90 rpm a una temperatura de 30° C y se deja reposar durante 1 h. Tras el análisis visual, se observa que el fluido viscoso está totalmente homogeneizado.

35

5

15

20

Ejemplos de utilización de la invención:

Para entender el proceso de fabricación industrial de panes, se sintetiza dicho procedimiento en la fabricación de una barra de pan de 200 gr. Las medidas en estos ejemplos son escalables a nivel industrial.

5

Para la fabricación de una barra de pan de 200 gr se necesitan 150 gr de harina, 90 ml de agua templada, 5 gr de levadura fresca, sal y 70 µl del fluido viscoso de polifenoles con aceite preparado según la invención.

10

15

En un recipiente se vierte agua a una temperatura de 25° C, se añaden los 70 μl del fluido viscoso de polifenoles (oleuropeína, tirosol, verbascoside, etc..) con aceite y 5 gr de levadura fresca con la sal. Se mezclan bien todos los componentes y se añaden los 150 gr de harina para su mezclado y amasado hasta conseguir una masa homogénea. Se deja reposar 2 h para fermentar la masa. Tras la fermentación de la masa, se precalienta el horno a 220° C, se prepara la barra y se añade al horno durante 20 min. La temperatura interna del pan en los hornos ronda los 135° C aproximadamente. Con ellos conseguimos un pan con unas propiedades nutricionales funcionales para ayudar a evitar los AGEs y al mismo tiempo ofrece otros beneficios para la salud.

20

 El mismo método de fabricación industrial se puede adaptar para la elaboración industrial de hamburguesas, pastas, bollería, embutidos y otros derivados cárnicos, repostería, y demás elaboraciones alimenticias industriales que requieran temperaturas altas de cocción.

25

La ventaja del fluido viscoso de polifenoles con aceite de oliva virgen es su fácil disolución a temperaturas a partir de 19º C, esto implica un fácil manejo en la industria alimenticia para su manipulación y para la fabricación de los alimentos en esta patente mencionados.

30 Tabla 1: Ejemplos más comunes descriptivos de temperaturas aproximadas de cocciones.

	T° C externa	T° C interna	Duración
Pan	de 180 a 220	135/150	20 min
Pasta	de 100 a 120	-	de 3 a 18 min
Bollería	de 180 a 190	135/150	de 12 a 25 min
Hamburguesa	de 150 a 160	71/80	4 min por cara

Se realizó un estudio aleatorio proporcionando 3 barras mensuales de pan de molde blanco de 1 kg cada una, horneado con el complemento nutricional funcional del fluido viscoso (Oleuropeína al 40% - 500  $\mu$ l/kg) a 40 pacientes, mostrando elevados niveles de colesterol no-HDL, rondando entre los 191 a 220 mg/dl. Los pacientes fueron reclutados durante 8 meses para este ensayo de duración de 2 meses y tomaron alrededor de 100 g diarios (equivalentes a 4 rebanadas de pan de molde con 50  $\mu$ l diarios del fluido viscoso de Oleuropeína al 40%). Se demostró que se puede reducir el colesterol entre un 13% y un 19% la cantidad de los LDL en el torrente sanguíneo, de esta forma se redujeron los riesgos cardiovasculares, además de tener otros beneficios para la salud.

10

5

Todos los porcentajes se dan en peso, salvo que se indique lo contrario.

#### **REIVINDICACIONES**

- 1- Composición de polifenoles y aceite o grasas vegetales y/o animales comestibles caracterizado por que es una mezcla homogeneizada de polifenoles y aceite o grasa que mantiene al menos el 68% de los polifenoles originales tras 20 minutos a aproximadamente 250º C.
- 2- Composición, según la reivindicación 1, donde el aceite es aceite de oliva virgen.
- 10 3- Composición, según la reivindicación 1, cuyos polifenoles corresponden a un extracto seco de Oleuropeína.
  - 4- Procedimiento de preparación de la composición de la reivindicación 1, caracterizado por que comprende cuatro fases:

15

5

- Primera fase: añadir un mínimo de 50% en peso de aceite o grasa comestible y el resto de extracto seco estandarizado de polifenoles de origen vegetal, remover entre 20 a 40° C, tal que el aceite o grasa está en fase líquida, durante el tiempo suficiente para homogeneizar y reposar entre 20 a 25° C;
- Segunda fase: remover la mezcla anterior entre 20 a 40° C para homogeneizar y reposar a una temperatura de entre 20 a 25° C;

Tercera fase: remover la mezcla a 40° C durante 1h y reposar entre 20 a 25° C:

Cuarta fase: remover durante 2 h a temperatura ambiente y reposar.

- 25 5- Uso de la composición de la reivindicación 1 como componente nutricional en harinas de cereales o en sus productos.
  - 6- Uso, según la reivindicación 4, donde la cantidad de polifenoles sobre el producto es de entre un 0,004% y un 2% en peso.

30

- 7- Uso de la composición de la reivindicación 1 como componente nutricional en productos y derivados cárnicos.
- 8- Uso, según la reivindicación 7, donde la cantidad de polifenoles sobre el producto es de entre un 0,004% y un 2% en peso.

9- Uso de la composición de la reivindicación 1 para inhibir la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs).