
Hidroxitirosol, el mejor antioxidante natural y el más desconocido. Estudio comparativo con otros antioxidantes.

Trabajo Final de Máster Nutrición y Salud

Autor: María Dolores Ferran Font – Director: Roser Martí Cid

11 de Julio de 2015

ÍNDICE	Página
1. INTRODUCCIÓN	4
2. OBJETIVOS	
2.1 Objetivos generales	6
2.2 Objetivos específicos	6
2.3 Formulación de la Hipótesis	6
3. METODOLOGÍA	7
4. ANTECEDENTES	8
4.1 La Dieta Mediterránea y sus orígenes	8
4.2 El olivo	9
4.3 El aceite de oliva	10
4.4 Los polifenoles	10
4.5 El Hidroxitirosol	11
4.6 Antioxidantes, radicales libres y estrés oxidativo	12
4.7 Las rutas de antioxidación	14
4.8 Inhibición del daño celular	15
4.9 Enfermedad y terapias antioxidantes	15
4.10 Capacidad antioxidante ORAC.5	16
4.11 Propiedades biológicas del Hidroxitirosol	16
4.12 Beneficios del Hidroxitirosol para la salud	18
4.13 Ventajas de Hidrotirosol respecto a otros fenoles: biodisponibilidad y gran poder bioactivo	21
4.14 Estudios	22
4.15 Antioxidantes presentes en los alimentos	25
4.16 Olivesan	26
4.17 Legislación. Organismos internacionales. Recomendaciones de consumo	27
5 RESULTADOS	28
5.1 Valores ORAC de verduras	28
5.2 Valores ORAC de frutas	28
5.3 Valores ORAC de extractos antioxidantes	29
5.4 Valores ORAC de Olivesan	30
5.5 Gráficos	31
5.6 Equivalencias entre HT, aceite oliva y Olivesan	36
6. DISCUSIÓN	38
6.1 Valor ORAC y biodisponibilidad	38

6.2	HT en el aceite de oliva y en Olivesan	39
6.3	Aplicaciones de Olivesan	39
7.	CONCLUSIONES	41
8.	BIBLIOGRAFÍA	43

1. INTRODUCCIÓN

Desde antiguo se conocen las bondades de la dieta y estilo de vida mediterráneos. (1) Pero es en las últimas décadas cuando realmente se valora científicamente por la constatación de que la adhesión a la dieta mediterránea está directamente relacionada con una menor incidencia en problemas cardiovasculares que en zonas en que se sigue otro tipo de dieta. El estudio *PREDIMED* es una prueba de ello. (2)

La clave reside en la combinación de productos naturales de la tierra como son las verduras y las frutas, en consumir más pescado que carne, en tomar lácteos, frutos secos, aceite de oliva y vino en las comidas. No hay que olvidar el clima. El sol favorece la vida al aire libre y el ejercicio físico tan beneficiosos para la salud. (1)

A partir de estas premisas se empieza a examinar la composición del aceite de oliva virgen y de la aceituna. (3) Se descubre que en su composición se encuentran distintos polifenoles, siendo el Hidroxitirosol (HT) el que tiene mayor presencia. (4)

A través de diversos estudios sobre el Hidroxitirosol se ha demostrado que es el componente responsable de la acción antioxidante de la aceituna y del aceite de oliva. Numerosas investigaciones atribuyen a su consumo efectos beneficiosos para la salud. Algunos de estos efectos son: protector del sistema cardiovascular (5), protector frente a los procesos neurodegenerativos (6), protector muscular y articular (7), antiinflamatorio (7), protector frente al cáncer (8) y el SIDA (9). También potencia el sistema inmunitario (10) y previene la osteoporosis (11) entre otros.

A pesar de sus múltiples cualidades, el Hidroxitirosol es un gran desconocido. En la reciente INFARMA 2015 (feria profesional de Farmacia) celebrada el pasado mes de marzo en Barcelona, tan sólo un laboratorio ofrecía un complemento alimenticio con Hidroxitirosol (12) ¿Por qué un producto tan mediterráneo y con tantas propiedades se desconoce y no se utiliza para la prevención de las distintas patologías?

En España se dispone de la materia prima para la obtención de Hidroxitirosol y también del I+D necesarios. Algunas empresas de I+D dedicadas al Hidroxitirosol en el territorio nacional son: *Biomaslinic S.L.* en Granada (13), *Genosa* en Málaga (14), *Nutrafur* en Murcia (15), *Probeltegrupo* en Murcia (16) y *Seprox Biotech S.L.* en Madrid. (17)

Biomaslinic S.L. es una empresa de base biotecnológica constituida en 2006 en el parque tecnológico de Ciencias de la Salud de Granada. Sus proyectos cuentan con la colaboración de la Universidad de Granada y el grupo de investigación *BIONAT*.

Cuentan también con el apoyo del Ministerio de Ciencia e Innovación dentro del Plan Nacional de Investigación científica, desarrollo e innovación tecnológica 2008-2011 y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

En el inicio su objetivo fue la obtención de productos naturales a partir de la hoja del olivo. Tras varios estudios se constató que los subproductos de extracción de las fábricas orujeras contenían muchas sustancias potencialmente beneficiosas para la salud. Se procedió a la extracción de ácido maslínico e Hidroxitirosol.

Tras desarrollar la tecnología adecuada para la extracción de productos derivados en la elaboración del aceite, *Biomaslinic S.L.* cuenta con una planta piloto y el equipamiento necesario para la obtención de *Proternolive*, *Maslinolive* y *Olivesan* que es un extracto de biofenoles cuyo principal componente es el HT. (13)

El ácido maslínico y el Hidroxitirosol se suministran a las industrias de nutrición, de aceite y de alimentación animal.

Su actividad investigadora está dirigida a la búsqueda de nuevos campos de aplicación de sus productos, a la realización de estudios de seguridad y eficacia de sus extractos y a la investigación, búsqueda y desarrollo de metodología para la obtención de nuevas sustancias procedentes de los subproductos del olivar que estén relacionados con la salud.

A través de este proyecto se pretende recopilar la información suficiente que avale la efectividad del HT y dar a conocer el extracto de biofenoles *Olivesan*. (18) Esta sustancia obtenida a partir de los residuos de la extracción del aceite, contiene un grupo de polifenoles con una proporción muy elevada de Hidroxitirosol (40%). Entre sus múltiples aplicaciones destacan las destinadas a la alimentación funcional, como componente de preparados nutracéuticos, cosméticos y nutracosméticos. (13)

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GENERALES

- Demostrar mediante método comparativo, que el Hidroxitirosol puede ser el mejor antioxidante natural para el organismo humano.
- Divulgación de los resultados.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar la capacidad antioxidante (ORAC.5) del Hidroxitirosol.
- Cuantificar la capacidad antioxidante (ORAC.5) de distintas frutas y verduras.
- Cuantificar la capacidad antioxidante (ORAC.5) de: Resveratrol puro, Té verde, Curcumina, Café verde, Ginko Biloba, Cacao typical, Pterostilbeleno, Pepitas de uva y Olivesan (HT).
- Recopilación de estudios realizados sobre los beneficios para la salud:
 - Protector del sistema cardiovascular.
 - Protector frente a los procesos neurodegenerativos.
 - Protector muscular, articular y antiinflamatorio.
 - Protector frente al cáncer.
 - Protector frente al SIDA.
 - Potenciador del sistema inmunitario.
 - Prevención de la osteoporosis.
- Valorar la viabilidad del producto:
 - Abundancia de materia prima.
 - Extracción mediante procesos naturales.
 - Alta biodisponibilidad.

2.3. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

‘El Hidroxitirosol puede ser el mejor antioxidante natural con efectos desconocidos hasta la fecha’.

1. METODOLOGÍA

Para demostrar la hipótesis de que el HT puede ser el mejor antioxidante y para conseguir los objetivos propuestos, se realizará una investigación de la información contrastada científicamente acerca de los siguientes puntos:

- Se dedicará un apartado extenso a explicar los antecedentes del Hidroxitirosol. Se explicará su relevancia como componente principal del conjunto de fenoles que contiene el aceite de oliva y que ha llevado a los investigadores a conseguir el extracto antioxidante objeto de este estudio.
- Se definirán la dieta y el estilo de vida mediterráneos. Se incluirán referencias del olivo, sus componentes y propiedades.
- Se tratará el estrés oxidativo, el estrés celular, las rutas de anti-oxidación y la inhibición del daño celular.
- Se dedicará un apartado al Hidroxitirosol, métodos de obtención, tipos y principales características.
- Se explicará el concepto de biodisponibilidad.
- Se explicará el concepto de ORAC (Capacidad Antioxidante frente a los radicales libres).
- Se investigará la opinión que tienen los órganos legislativos europeos (EFSA).
- Se expondrán los beneficios del HT y los diferentes estudios hallados.
- Se expondrán los beneficios de varios antioxidantes reconocidos por la comunidad científica; verduras, frutas y extractos de distintas naturalezas.
- Se hará una comparativa cuantitativa del poder antioxidante del HT y otros antioxidantes.
- Se expondrán las distintas aplicaciones prácticas del HT.
- Se procederá a una comparativa final, mediante tablas y gráficos. Se procederá a la presentación de los resultados.
- Discusión de los resultados.
- Conclusiones.
- Bibliografía.

2. ANTECEDENTES

4.1. LA DIETA MEDITERRÁNEA Y SUS ORÍGENES

La *Dieta Mediterránea (Diet Med)* es la denominación que ha tomado el tipo de dieta y estilo de vida típico de los países en los que crecen olivos, principalmente Grecia (Creta) y sur de Italia, en los años 60. Se caracteriza por el consumo de cereales, legumbres, frutos secos, frutas, verduras, ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), aceite de oliva para cocinar, alto consumo de pescado, bajo consumo de carne, aves y lácteos y bajo consumo de alcohol en forma de vino tinto. (2)

Existen evidencias epidemiológicas que relacionan la *Dieta Mediterránea* con una menor mortalidad global, muy especialmente la de origen cardiovascular. (19) El aceite de oliva virgen es uno de los principales ácidos grasos presentes en la Diet Med. El consumo de aceite de oliva junto a las frutas y verduras es el responsable de los posibles beneficios de la dieta mediterránea en el organismo humano.

Las pautas de la Diet Med están representadas en la '*Pirámide alimentaria*'. Los alimentos están distribuidos en la pirámide por orden de importancia en la ingesta diaria. En la base se encuentran los alimentos que deben ser consumidos con mayor frecuencia. En el vértice superior los alimentos más perjudiciales para la salud y que deben consumirse sólo esporádicamente. (20)



Figura 1: Pirámide alimentaria.

Fuente: *Fundación Dieta Mediterránea*.

Disponible en <http://dietamediterranea.com/piramide-dietamediterranea>

4.2. EL OLIVO

<p>FICHA TÉCNICA: OLIVO</p>	 <p><i>Olea europea L.</i> <i>Oleaceae.</i> Al-zait (aceite): Jugo de la aceituna.</p>
<p>Nombre científico: Familia botánica:</p>	<p>Cuenca del Mediterráneo Regiones templadas</p>
<p>Procedencia: Clima: Descripción:</p>	<p>Árbol perennifolio, porte mediano. 5-10 m Copa redondeada, tronco grueso nudoso, retorcido. Hojas verdes opuestas, envés grisáceo Flores pequeñas, tetrámeras, hermafroditas, en pequeños racimos. Dos semanas de floración (mayo-junio). Fruto: 8-20 mm, contiene 1 semilla. La drupa recibe el nombre de oliva o aceituna. Son verdes en su juventud y oscurecen en la madurez. Maduración en invierno (noviembre-diciembre).</p>
<p>Partes útiles de la planta:</p>	<p>La madera: combustible, carbón, ebanistería. Las hojas: aplicaciones medicinales. El fruto: contiene gran cantidad de aceite. El aceite de oliva virgen extra se extrae de la primera prensa.</p>
<p>Uso principal:</p>	<p>Alimentación humana.</p>
<p>Usos medicinales:</p>	<p>FRUTO: Vehículo de medicamentos. Propiedades colagógicas y laxantes. Suavizante de la piel. HOJAS: propiedades hipoglucemiantes, tónicas y febrífugas.</p>
<p>Usos industriales:</p>	<p>Jabones y cosméticos. Alumbrado. Artesanía de la madera.</p>

Tabla 1. Ficha técnica del olivo. (21)

Fuente: Elaboración propia a partir de datos de <http://www.fitoterapia.net>.

4.3. EL ACEITE DE OLIVA

El aceite de oliva está formado por los terpenos, principalmente ácido maslínico y ácido oleanólico y además por un grupo de fenoles.

Los principales polifenoles del aceite de oliva son: Tirosol, Hidroxitirosol o 2-(3,4-dihidroxifenil) éster del etil (3S,4E)-4-formil-3-(2-oxoetil)hex-4-enoato (3,4-DHPEA-DEDA) y Oleuropeína. Por su alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados, son los responsables del efecto beneficioso del aceite de oliva en el organismo humano: menor incidencia en enfermedades coronarias y cáncer. También previenen la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). (22)

El estudio Euroolive concluyó que el aceite de oliva virgen proporciona beneficios adicionales sobre los de otros aceites vegetales. Protege del riesgo de enfermedades cardiovasculares, protege frente a la oxidación de las grasas, también frente a enfermedades inflamatorias endoteliales e influye en los niveles de presión sanguínea. (23) (24)

4.4. LOS POLIFENOLES

El Tirosol, el Hidroxitirosol y la Oleuropeína son los polifenoles derivados del olivo que tienen mayor interés para la salud humana. Se encuentran en el fruto y en las hojas del olivo. La composición cuantitativa de estas sustancias depende del clima, del grado de maduración, del cultivo y del secado de la planta entre otros. (3)

Los compuestos fenólicos están presentes en todas las plantas en forma de metabolitos secundarios. Pueden estar involucrados en el metabolismo primario, potenciar el crecimiento de la planta, proteger las células más vulnerables de la foto-oxidación de la luz ultravioleta o potenciar la resistencia a enfermedades. Son también los responsables de modular la floración y maduración de los frutos. El Hidroxitirosol tiene un papel fundamental en la formación de otros polifenoles. (3)

El contenido de HT en forma libre y combinada es superior en las hojas que en los frutos del olivo, por lo que puede ser extraído de éstas con mejores rendimientos a partir de extractos metanólicos.

La EFSA (Agencia Europea de Seguridad Alimentaria), consideró en 2011, que los polifenoles del aceite de oliva ofrecen protección frente al daño oxidativo y al LDL, y recomienda un consumo mínimo de 5 mg/día. (4)

4.5. EL HIDROXITIRO SOL

El Hidroxitirosol (HT) (2-(3,4-dihydroxyphenyl) ethanol) es un compuesto fenólico presente en la hoja y en el fruto del olivo en forma libre y esterificada que destaca del resto de fenoles por sus múltiples actividades biológicas, como antimicrobiano, inhibidor de la formación de leucotrieno B4 a nivel de la 5-lipooxigenasa e inductor de apoptosis. La actividad antioxidante del hidroxitirosol es una de las más elevadas entre los polifenoles siendo incluso superior a la de la vitamina E. (3)

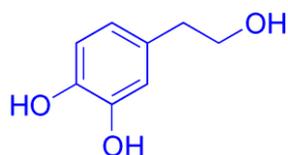


Figura 2: Fórmula química del Hidroxitirosol.

Fuente: Elaboración propia a partir de datos de *Revista de Fitoterapia*. 2004. (3). (25)

Existen dos formas de obtención del HT, a partir de las hojas del olivo mediante un proceso químico o por un proceso natural de extracción mecánica a partir de su fruto, la aceituna.

4.5.1. Métodos de obtención del Hidroxitirosol

- **Obtención del HT a partir de las hojas del olivo**

A partir del extracto de la hoja del olivo con alto contenido en polifenoles, se ha desarrollado un proceso de hidrólisis en condiciones suaves para obtener Hidroxitirosol libre en estado estable. (3)

Las vías metabólicas de las hojas del olivo se modifican a partir de señales químicas que se producen en la planta. La concentración de Tirosol permanece inalterable en las hojas nuevas y viejas. El contenido en Hidroxitirosol es mayor en las hojas nuevas durante la maduración del fruto. La Oleuropeína está presente en mayor concentración en hojas nuevas y viejas tras la maduración del fruto; en cambio disminuye en las hojas

secas tratadas con agua a temperatura ambiente. La extracción se realiza con metanol. (3)

El contenido de HT en forma libre y combinada es superior en las hojas que en los frutos del olivo, por lo que puede ser extraído con mejores rendimientos a partir de extractos metanólicos de la hoja. (3)

Obtención del HT a partir de subproductos de la industria del aceite

En la elaboración de la aceituna se producen grandes cantidades de orujo. Se trata de un subproducto de la industria alimentaria que está formado por compuestos bioestáticos cuyas sustancias contaminantes son los fenoles. La gran cantidad de orujo genera un problema ecológico y económico para los productores. La solución consiste en purificar las aguas de desecho mediante tratamiento térmico con el fin de modificar el contenido orgánico y obtener por un lado fertilizantes y por otro unas sustancias que por su elevado poder antioxidante son muy apreciadas en la actualidad: los fenoles. (26)

El HT se obtiene mediante síntesis química o enzimática y por extracción y purificación a partir de subproductos de la industria del aceite. En el *Centro Superior de Investigaciones científicas (CSIC)* se han desarrollado procedimientos de extracción con aguas de lavado de las aceitunas, del aceite o de los huesos de las aceitunas; también del orujo y del alperujo que son mezclas de agua y subproductos de la fabricación de aceite en los que como se ha dicho, se encuentran fenoles, entre ellos el HT. Este se libera mediante tratamiento con vapor de agua a 200-240°C durante 5-10 minutos. Por métodos cromáticos se obtiene HT purificado. Algunas de las patentes son: ES 2 145 701, ES 2 186 467, ES 2 170 006, ES 2 172 429 y ES 2 177 457 (3). La notoriedad de este método es la obtención de HT en forma seca. El HT obtenido es un polvo blanquecino soluble en agua y en disolventes orgánicos del tipo de los alcoholes (con bajo peso molecular) y sus combinaciones. Se debe controlar el pH ácido y la ausencia de oxidantes ya que el HT es fácilmente oxidable. (3)

4.6. ANTIOXIDANTES, RADICALES LIBRES Y ESTRÉS OXIDATIVO

Los antioxidantes son sustancias que protegen a la célula frente a la acción de los oxidantes o radicales libres, contrarrestando su efecto nocivo. Cuando los antioxidantes fracasan en su misión se produce un exceso de radicales libres dando lugar al estrés oxidativo que es el que genera la enfermedad. (27)

Los radicales libres (RL) son moléculas que tienen gran poder oxidante y que generalmente provocan reacciones oxidativas en cadena, así se van formando más radicales libres con alto poder oxidante. El antioxidante actúa introduciéndose en la cadena oxidativa, eliminando los radicales libres y deteniendo el proceso oxidativo. (27)

El estrés oxidativo significa que disminuyen los niveles de antioxidantes o se inhiben las enzimas antioxidantes en la célula. El daño celular se debe a la oxidación de macromoléculas como las proteínas, los lípidos y el ácido desoxirribonucleico (ADN). Diversos estudios relacionan el estrés oxidativo con la sintomatología de algunas enfermedades como cáncer, Parkinson, Alzheimer e infertilidad. También hay estudios previos del uso de suplementación con antioxidantes en la prevención de diversas enfermedades. (28)

Los antioxidantes se han clasificado en dos grupos: no *enzimáticos o exógenos* y *enzimáticos o endógenos*.

Los primeros son los depuradores de radicales libres que actúan retrasando su producción y contrarrestando su acción. (28) Los antioxidantes no enzimáticos son el Glutatión, el ácido lipoico, la Bilirrubina, las ubiquinonas, los bioflavonoides, la vitamina E (alfa-tocoferol), la vitamina C (ácido ascórbico), la vitamina A, los carotenoides, acetil-L-carnitina, coenzima Q-10, Curcumina, N acetil-cisteína (NAC), Resveratrol, Selenio y vitamina B entre otros. (28)

La estructura molecular de algunas enzimas antioxidantes está compuesta por minerales como el selenio, cobre, zinc y magnesio. El sistema de defensa de estas enzimas endógenas incluye: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GSH-PX), tiorreoxina reductasa y glutatión reductasa. Estas enzimas previenen el daño tisular y son supresoras de los genes tumorales, se usan como agentes quimiopreventivos contra algunas enfermedades asociadas a los efectos nocivos de los antioxidantes. (28)

Los radicales libres se producen por las funciones celulares normales pero también pueden producirse debido a factores ambientales o fisiológicos como son la acción de las radiaciones ionizantes, radiación ultravioleta, ejercicio físico extenuante, por descenso de la capacidad de los sistemas endógenos antioxidantes, por mala alimentación y por hábitos de vida poco saludables como son el consumo de tabaco y alcohol. (28)

Los radicales libres incluyen: el radical hidroxilo (OH), el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno, (H_2O_2) y el óxido nítrico (NO). Gracias a su elevada reactividad

química conducen a la peroxidación de lípidos y de algunas enzimas, a la oxidación y degradación protéica y producen daño mutagénico al ácido desoxirribonucleico (ADN). Los radicales libres intervienen en diversas reacciones de oxidación-reducción modificando las moléculas celulares. Como se ha descrito anteriormente se habla de *estrés oxidativo* cuando la producción de radicales libres aumenta de forma descontrolada. Estudios previos relacionan la aparición de estrés oxidativo con la patenogénesis de muchas enfermedades: infertilidad, psoriasis, mala cicatrización de heridas, cataratas oculares, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Alzheimer, debilidad inmunológica, diabetes, arterioesclerosis, artritis reumatoide y cáncer. Se puede decir que los tratamientos con antioxidantes prolongan la vida de los seres vivos. (28)

4.7. LAS RUTAS DE ANTIOXIDACIÓN

Los RL pueden ser derivados del Oxígeno o del Nitrógeno. Las principales especies reactivas son: Peroxilo (H_2O_2), Hidroxilo (OH^-) Peroxi-nitrito ($ONOO^-$), Superóxido (O_2^-) y Oxígeno singlete (O_2). En el organismo humano hay muchísimas rutas de oxidación (formación de RL). Las más importantes son:

- Fenton – Haber – Weis
- Beckman – Radi – Freeman
- Poderoso – Cadenas

Cada antioxidante puede inhibir una ruta concreta. Todas las rutas convergen en una molécula hidroxilo (HO) que es una molécula muy inestable y dura poco. Las moléculas chocan y forman una molécula hidróxilo más inestable y oxidante que las anteriores. El HT destruye el Hidroxilo, y se frena la producción de RL. (27)

La liperoxidación tiene como producto final el malonaldehído que es muy tóxico debido a su alta reactividad con las proteínas y el ADN. Forma productos modificados de bases nitrogenadas que son altamente mutágenas y carcinogénicas. (29)

4.8. INHIBICIÓN DEL DAÑO CELULAR

La presencia de HT en el organismo protege a las membranas celulares y minimiza tanto el daño celular externo producido por radiación solar o por golpes como el daño celular interno provocado por los RL. (29)

El daño interno lo puede minimizar el HT pues es receptor de RL. Respecto al daño provocado por agentes externos, por ejemplo un traumatismo en el cerebro, la presencia de HT reduciría el número de neuronas afectadas. El HT inhibe la formación de malonaldehído. (29)

4.9. ENFERMEDAD Y TERAPIAS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son beneficiosos para la salud porque tienen la función y el efecto de evitar la oxidación de sustancias que pueden provocar alteraciones fisiológicas. Pero unos niveles excesivos de antioxidantes pueden provocar la muerte celular, debido a un proceso de excitotoxicidad, como pasa en el Alzheimer. (28)

La vitamina E es el antioxidante no enzimático más efectivo dentro de la membrana celular y ejerce una función reductora de la peroxidación lipídica. La vitamina E reducida (α -tocoferol-OH) reacciona con los RL previniendo la peroxidación de lípidos que éstos producen. Durante el proceso se forma un radical tocoferol (α -tocoferol-O⁻) capaz de producir peroxidación lipídica. Si hay vitamina C presente, este RL puede ser rescatado, pero en ausencia de vitamina C, la vitamina E actuaría como un oxidante. (28)

Las enfermedades están relacionadas por desequilibrios entre RL y antioxidantes. Las terapias antioxidantes pueden ser una solución. Por el momento se siguen realizando estudios que investigan el proceso de liberación de RL y el daño celular en problemas fisiopatológicos como son los tumores, el cáncer, los procesos neurodegenerativos y la diabetes entre otros. (28)

4.10. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE: ORAC.5

El ORAC es la unidad de medida que se utiliza para la oxidación celular. Corresponde a *Oxygen Radical Absorbance Capacity*. Se trata de un test único que mide la capacidad antioxidante de los alimentos. Fue formulado por Howard Cao, químico y doctor en medicina del equipo de investigación del *USDA Center* en los años 90. (30)

Según Cao, una combinación de alimentos debe tener mayor poder de protección que un único nutriente tomado a solas. Durante su estancia en el *National Institute of Aging* en Baltimore, Maryland, Cao desarrolló el *ORAC test*. El valor ORAC, comprende el de todos los antioxidantes que contiene un alimento. Se puede averiguar el valor de cada antioxidante por separado con el test citado. La respuesta está en la concentración de fitonutrientes hallados en la sangre ya que éstos estimulan el poder antioxidante de la misma. (30)

Cao cuantificó los ORAC de frutas y verduras. El resultado de su investigación fue que la verdura con mayor poder antioxidante fueron las espinacas. En el grupo de las frutas, los frutos rojos. (30)

Actualmente la empresa *Brunswick Laboratories* en EEUU realiza el *test ORAC.5.0*. Evalúa la capacidad de la muestra de proteger un testigo (sonda cromática o fluorescente) de los daños causados por los radicales libres más comunes: Peroxilo (H_2O_2), Hidroxilo (OH^\cdot), Peroxinitrito ($ONOO^-$), Superóxido (O_2^-) y Oxígeno singlete (O_2). El valor *ORAC 5.0* es la suma de todos ellos. (29)

Cuando se añade una sustancia antioxidante al medio, éste absorbe y estabiliza las ROS (especies reactivas de oxígeno), protegiendo a la matriz de la degradación. La capacidad antioxidante es el grado de protección de la matriz de prueba. El valor estándar de referencia es el Trolox Equivalente y la unidad de medida es el micromol de Trolox Equivalente ($\mu\text{mol/TE/g}$). La equivalencia es: 1 $\mu\text{mol/TE/g}$ tiene la capacidad antioxidante de la vitamina E. (30)

4.11. PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL HIDROXITIRO SOL

Entre las propiedades del Hidroxitiro sol, además de su capacidad antioxidante hay que destacar su actividad antiesclerótica, capacidad antimicrobiana y su capacidad inductora de apoptosis (muerte celular programada).

4.11.1. Capacidad Antioxidante del Hidroxitirosol (ORAC.5)

La cadena de reacciones en las que interviene el HT son las relacionadas con el grupo peroxilo ROO. Se producen una serie de reacciones en las que se eliminan los radicales rompiéndose también la cadena oxidativa. La mayor protección del HT frente a los radicales libres fue evaluada in vitro e in vivo. En distintas pruebas realizadas in vitro se constató que el HT ofrece mayor protección que la Oleuropeína y que la vitamina E frente a diversos radicales como las micelas del ácido linoléico o en la eliminación del anión superóxido. También se demostró su eficacia antioxidante frente al daño por hipoclorito. Por último, otro método de evaluar la acción de los polifenoles del olivo en el que el HT obtuvo mejores resultados es el reativo al ataque por radicales hidroxilo sobre el ácido salicílico. (3)

Todos los estudios in vitro en ratas fueron corroborados in vivo en humanos. Al estudiar la excreción urinaria de un biomarcador del estrés oxidativo, existe una correlación inversa dosis-dependiente entre la excreción urinaria de la prostaglandina y la cantidad administrada de compuestos fenoles provenientes del aceite de oliva. (3)

En definitiva, se ha demostrado en varios estudios in vitro la gran capacidad antioxidante del HT, por encima de los valores de las vitaminas C y E. (3)

El HT es una sustancia que se halla presente de forma natural en el cuerpo humano, por ejemplo, en el iris del ojo. De ese modo, los fenoles del olivo al ser naturalmente reconocidos por el organismo circulan libremente sin presentar los problemas de adaptación de otros tipos de polifenoles extraños. (3)

Tampoco se presentan problemas por acumulación de los polifenoles en el organismo ya que al ser hidrosolubles se excretan por el sistema renal y digestivo. (3)
(5) (13) (20)

4.11.2. Actividad antiesclerótica

Diversos estudios apuntan a que la peroxidación de las lipoproteínas es la responsable de la patogenénesis de la arterioesclerosis. (3) La peroxidación modifica las LDL formando depósitos grasos que producen ateromas. En estudios realizados in vitro se vió que las ratas alimentadas con una dieta rica en aceite de oliva, presentaban mayor resistencia a la peroxidación lipídica que las ratas alimentadas con otra dieta. (31)

En otros estudios con animales y humanos se constató que los leucocitos polimorfonucleares están involucrados en el desarrollo de enfermedades coronarias, anginas y otras consecuencias de la arterioesclerosis. Se comprobó mediante medidores que la enzima responsable es el 5-lipooxigenasa que es inhibida por los compuestos fenólicos del aceite de oliva (HT, ácido caféico, Oleuropina y Tirosol) con una gran efectividad. (3)

4.11.3. Capacidad antimicrobiana

Se ha demostrado que el HT es un buen agente antimicrobiano contra bacterias patógenas en seres humanos, en cepas aisladas clínicamente, con una efectividad mayor que la eritromicina y la ampicilina. Algunos de estos patógenos son: *Haemophilus influenzae*, *Salmonella spp.* y *Vibrio parahaemolyticus*. (32)

4.11.4. Capacidad inductora de apoptosis

Actualmente la quimiopreención es uno de los principales tratamientos del cáncer. Los antioxidantes tienen un pronóstico prometedor en este campo. Existen estudios epidemiológicos que aseguran que el aceite de oliva ejerce un efecto preventivo en el cáncer de mama y colon. Dichos efectos beneficiosos se atribuyen a la fracción fenólica 2-(3,4-dihidroxifenil)-etanol. (33)

4.12. BENEFICIOS DEL HIDROXITIRO SOL PARA LA SALUD

Una vez conocidas las propiedades del Hidroxitiro sol, el siguiente paso es enumerar el efecto que tienen en el organismo humano.

4.12.1. Protector del sistema cardiovascular

Diversos estudios in vitro y en vivo concluyen que el HT protege al LDL de la oxidación por radicales libres. También reduce la producción de moléculas que se adhieren al endotelio. El consumo de HT en cantidades significativas es capaz de regular el glutatión y proveer al tejido adiposo de enzimas antioxidantes. (34)

La EFSA (European Food & Safety Authority) aceptó en 2012 que el HT protege al LDL frente a la oxidación por los radicales libres y previene el deterioro vascular producido por la arterioesclerosis. (34)

4.12.2. Protector frente a los procesos neurodegenerativos

Diversos estudios epidemiológicos in vitro e in vivo indican que el consumo de polifenoles, reduce el riesgo de neurodegeneración y también del declive cognitivo asociado a la edad. Estudios correlacionados revelan que los efectos de la citoprotección en células PC12 se deben al HT. (6) (34)

El cerebro en su actividad tiene un gran desgaste energético ya que consume mucho oxígeno. Durante el proceso oxidativo genera gran cantidad de radicales libres que dañan las células. El HT es capaz de proteger a las células cerebrales frente a la peroxidación de los lípidos debido a que es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica. (34)

4.12.3. Protector frente al cáncer

Estudios realizados sobre el consumo de aceite de oliva virgen y la prevalencia de enfermedades en la población, dan como resultado una menor incidencia en cáncer de mama. (8) El HT y el Tirosol en menor medida protegen de la proliferación de células cancerígenas y apoptosis en células epiteliales mamarias (MCF10A) o células cancerígenas (MDA-MB-231 y MCF7). El HT previene el daño oxidativo del ADN. (8) (36)

4.12.4. Antiinflamatorio

Durante la inflamación se generan radicales libres y se reducen los antioxidantes. El HT tiene capacidad para inhibir enzimas COX y LOX del ácido araquidónico (AA), reduciendo el deterioro oxidativo propio de las inflamaciones. (7)

4.12.5. Protector muscular y articular

El estudio llevado a cabo por Silva, S. et al (2014), obtuvo como resultado que gracias al poder antiinflamatorio del HT, se redujo el edema articular en ratas. El HT estimula la producción de condrocitos regenerando y reparando el cartílago articular. (7)

El HT también ayuda durante la realización de ejercicio físico ya que aumenta la producción de Glutación (antioxidante endógeno) y reduce la producción de ácido láctico y la consecuente atrofia muscular. (7)

4.12.6. Protector frente al SIDA

Estudios recientes como el de Lee-Huang, S. et al (2007), han demostrado que el HT junto con la Oleuropeína son el primer grupo de moléculas capaz de múltiples acciones contra el virus de SIDA. El HT inhibe la entrada e integración del virus. Actúa fuera y dentro de las células. Este hallazgo es un buen punto de partida para el diseño de nuevos inhibidores del VIH. (9) (36)

4.12.7. Potenciador del sistema inmunitario

Fistonic, I. et al (2012), realizaron estudios concluyendo que el HT previene el cáncer de colon, y de mama, el síndrome pre-menstrual y enfermedades cardiovasculares mediante supresión de la síntesis de LDL. Tiene también un efecto antimicrobiano y destruye las colonias de microorganismos que provocan infecciones en el aparato respiratorio, intestinal y genital. (10)

4.12.8. Prevención de la osteoporosis

Keitaro, H. et al (2011), realizaron estudios con ratones. Se comprobó que la administración de HT dosis-dependiente tiene efectos positivos en la formación y crecimiento del hueso. De ahí que sea factible la utilización del HT para tratamiento de los síntomas de osteoporosis. (11)

4.12.9. Protección frente a otras enfermedades

- Protección de la retina. El HT es beneficioso para la salud ocular concretamente en la regeneración del epitelio pigmentario retiniano, degeneración macular y galucoma producidos por el estrés oxidativo. (37)
- En la fase acuosa-grasa posee efectos dermoprotectores. Protege frente a los rayos UVB. Reduce la pigmentación de la piel. Protege contra el edema y eritema causados por excesiva exposición solar. Incluso puede ser efectivo para combatir la psoriasis. (28)
- Efecto antienvjecimiento, estimula la producción de proteínas promotoras de la supervivencia celular.

4.13. VENTAJAS DEL HIDROXITIRO SOL RESPECTO A OTROS FENOLES: BIODISPONIBILIDAD Y GRAN PODER BIOACTIVO

En la actualidad existe una gran tendencia a la suplementación alimenticia con antioxidantes para contrarrestar la acción de los radicales libres y el estrés oxidativo. El HT tiene algunas ventajas sobre otros antioxidantes: Su biodisponibilidad y su gran poder bioactivo.

La biodisponibilidad de una sustancia es su capacidad de participación en los procesos bioquímicos. El HT tiene una biodisponibilidad del 99%, significa que la sustancia se integra con facilidad en los procesos químicos que tienen lugar en el organismo, incluido el cerebro, muy susceptible a los efectos degenerativos de los ROS. (6)

El Hidroxitirosol tiene unas características que le dan un gran poder bioactivo:

- Su gran poder antioxidante.
- Su función protectora de las distintas células del organismo.
- Afinidad estructural con ciertas sustancias presentes en el organismo, por ejemplo, la dopamina (sustituye el grupo amina por el grupo hidroxilo).
- Posee una estructura molecular muy simple, por lo que organismo humano la reconoce y asimila muy fácilmente.

- Es una sustancia que se halla presente de forma natural en el cuerpo humano, por ejemplo, en el iris del ojo. Así al ser naturalmente reconocido por el organismo circula libremente sin presentar los problemas de adaptación de otros tipos de polifenoles extraños. En 15 ó 20 minutos se sitúa en el plasma sanguíneo, circula por el organismo durante 6-8 horas y pasado ese tiempo es eliminado por el sistema renal o digestivo ya que es hidrosoluble. Por este motivo no presenta problemas de acumulación ni de toxicidad. (29)
- Es una molécula anfipática, es hidrosoluble y liposoluble ya que posee un cuerpo lipófilo y un extremo hidrófilo. Gracias a esta característica es un magnífico transporte para otras sustancias que tienen dificultad en llegar a todos los rincones del organismo. El HT las distribuye por todos los órganos del cuerpo ya que traspasa las membranas con mucha facilidad. (29)

4.14. ESTUDIOS

4.14.1. Estudios previos: *EUROLIVE* y *PREDIMED*

- **Estudio *EUROLIVE* (2002-2004)**

El estudio *EUROLIVE* tuvo entre sus objetivos evaluar los beneficios del aceite de oliva en la salud humana, examinar el efecto de los compuestos fenólicos en el estrés oxidativo, comprobar el daño ocasionado por éste en el organismo humano y divulgar la información.

El estudio se llevó a cabo en el Instituto Municipal de Investigación Médica (IMIM) y en él participaron siete centros de investigación de varios países europeos: España, Dinamarca, Finlandia, Italia y Alemania.

La muestra estuvo formada por 200 sujetos sanos a los que se suministró dosis similares o inferiores a las usuales de la dieta mediterránea, de diferentes aceites de oliva con variados contenidos polifenólicos: bajo (2,7 mg/Kg de aceite), medio (164 mg/Kg) y alto (366 mg/kg). La dosis fue de 25 ml/día durante tres semanas.

- El colesterol bueno (HDL) aumentó linealmente según la dosis, o sea, a mayor concentración de polifenoles, mayor HDL.

- Los triglicéridos disminuyeron en todos los casos, independientemente del contenido fenólico.

- La proporción del colesterol total disminuyó de forma inversamente proporcional al contenido polifenólico de los aceites.

- Los marcadores de estrés oxidativo (LDL) disminuyeron a mayor cantidad de polifenoles en el aceite de oliva. Este último se considera uno de los principales factores de riesgo para la arterioesclerosis.

La conclusión final fue que *‘el efecto antioxidante de los polifenoles es decisivo para la mejora del perfil lipídico dónde existe un aumento de las HDL, disminución de la proporción de colesterol total/HDL y disminución de la oxidación de los lípidos’*. El estudio atribuye a los polifenoles Hidroxitirosol, Tirosol y Oleuropeina contenidos en el aceite de oliva virgen la co-responsabilidad de los resultados obtenidos: *‘reducción del riesgo cardiovascular asociado al consumo de aceite de oliva por su efecto antioxidante del perfil lipídico’*. (23) (24)

- **Estudio PREDIMED (2003-2011)**

El estudio *‘Prevención con Dieta Mediterránea’* es un ensayo clínico aleatorizado de intervención dietética que tiene como objetivo comprobar si la dieta mediterránea suplementada con aceite de oliva y frutos secos evita la aparición de problemas cardiovasculares en una población de riesgo y comparar los resultados con los obtenidos si se sigue una dieta baja en grasas. Fue llevado a cabo por un equipo multidisciplinar compuesto por médicos, epidemiólogos e investigadores de diversas procedencias liderados por el Dr. Estruch del Hospital Clínico de Barcelona junto con la Universidad de Barcelona, la Facultad de Farmacia, el instituto de Salud Carlos III y el grupo CIBERObn. La muestra de población fue de 7.447 sujetos asintomáticos de todo el territorio nacional, con riesgo de padecer problemas cardiovasculares. Hombres de entre 55 y 80 años y mujeres entre 60 y 80. Se hizo un seguimiento durante 5 años. Se evaluó la incidencia de episodios de enfermedad, la mortalidad y el desarrollo de otras patologías como diabetes o hipertensión y también variaciones en los biomarcadores de riesgo cardiovascular.

Los resultados publicados en la revista *The New England Journal of Medicine* concluyen que *‘la dieta mediterránea enriquecida con aceite de oliva extra y frutos secos reduce un 30% el riesgo de infarto de miocardio, de accidente vascular cerebral o de muerte por causa cardiovascular’*. (2) (38)

4.14.2. Estudios en curso: CORDIOPREV

- **Estudio CORDIOPREV (2009)**

Es un estudio que está llevando a cabo el equipo de investigación de la Unidad de Lípidos del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba y del grupo de Nutrigenómica. La gran preocupación actual es que las enfermedades cardiovasculares (cardiopatía isquémica y enfermedad cerebrovascular) son la principal causa de muerte en España y en el mundo (Instituto Nacional de Estadística 2013). La prevalencia de estas enfermedades sigue creciendo por diversas causas: el envejecimiento progresivo de la población y el aumento de patologías que las favorecen como son la diabetes y la obesidad. La prevención es pues, el gran reto para la ciencia médica.

El IMIBIC con este estudio pretende demostrar si el tipo de dieta influye en el riesgo de sufrir patologías en personas que ya sufren enfermedad cardiovascular.

Se quiere comparar el efecto de dos dietas distintas:

1. Una dieta baja en grasas: menos del 28% en grasa en la energía total diaria con un 12% en ácidos grasos monoinsaturados.
2. Una dieta tipo mediterránea con un aporte del 34% de grasa (22% ácidos grasos monoinsaturados, principalmente aceite de oliva)

El estudio se inició el año 2009 y en la actualidad sigue en curso. El objetivo es demostrar el efecto beneficioso de la dieta mediterránea en enfermos coronarios y en el riesgo de sufrir nuevos episodios de enfermedad cardiovascular. Además pretende valorar la incidencia en otros eventos clínicos como sufrir nuevos episodios de claudicación intermitente, neoplasias y la evolución del estado cognitivo. También se valorarán otros factores de riesgo como el colesterol, metabolismo de los hidratos de carbono o presión arterial. (39)

4.15. ANTIOXIDANTES PRESENTES EN LOS ALIMENTOS

Una gran variedad de antioxidantes están presentes en los alimentos de forma natural. Las frutas y vegetales contienen flavonoides que tienen gran poder antioxidante. Un ejemplo son la uva, la cebolla, el cacao y los frutos rojos. (40)

Al contrario que la mayoría de polifenoles que no son reconocidos por el organismo ya que los detecta como extraños, las vitaminas A, C, D y E han sido reconocidas como antioxidantes con actividad biológica in vivo. (29)

La vitamina C (ácido ascórbico) no actúa propiamente como un antioxidante en el plasma sanguíneo sino que genera un entorno reductor que permite controlar la producción de ROS.

La presencia de fenoles de la aceituna (HT entre ellos) y sus metabolitos (ésteres de hidroxitirosol, alcohol homovanílico) potencian la estabilidad de la vitamina C en la sangre, así controlan la producción de ROS y actúan como inmunomoduladores evitando que la proliferación de estas sustancias mermen la respuesta inmune. La vitamina C favorece la absorción del hierro que es vital en la producción de células sanguíneas como la hemoglobina, responsable del transporte del oxígeno en la sangre. El HT facilita una mayor presencia en sangre de vitamina C favoreciendo también la absorción de hierro. (29)

En *Brunswick Laboratories* de Estados Unidos en 2010 se creó por primera vez una base de datos pública referente a los valores ORAC de diversos alimentos. Contenía un total de 277 ingredientes que se han ido actualizando hasta hoy de acuerdo con estudios clínicos y análisis in vivo e in vitro. Algunos ejemplos de antioxidantes naturales de gran poder son los tocoferoles (frutos secos y semillas), el ácido ascórbico y el cítrico (frutos cítricos), los carotenóides (frutas y vegetales) y los componentes fenólicos (hierbas, especias, pepitas de uva). Algunos extractos fenólicos se utilizan para conservar marisco, carne, grasas y aceites. El ácido ascórbico se utiliza para conservar zumos, mermeladas, carne curada y algunas conservas alimenticias. Los tocoferoles se utilizan para conservar cereales, carnes, mantequillas y aceites. (29)

4.16. OLIVESAN

Como se ha dicho con anterioridad la *Olea Europea* sintetiza de forma natural un extracto para proteger a la aceituna del ataque de parásitos y hongos y minimizar el efecto devastador de los rayos ultravioleta del sol. Este *extracto* está compuesto por HT y un grupo de fenoles. (18)

En los últimos años la industria aceitera española ha desarrollado distintos proyectos de I+D relacionados con la obtención de HT para su utilización y aprovechamiento en los distintos campos en los que puede ser beneficioso. (13) (14) (15) (16) (17)

BIOMASLINIC S.L. (13) es la empresa de I+D que ha conseguido obtener un extracto natural de fenoles, Olivesan. (18) La materia prima procede de las industrias de extracción de aceite. Se obtiene tras la primera prensa de la aceituna.

- Olivesan es un pack de fenoles obtenido de la aceituna mediante un proceso natural. Además de HT contiene Tiroso, Oleuropeína y ácido enolólico. Estos fenoles realizan una acción sinérgica que potencian la acción del HT.
- Es un producto altamente biodisponible, superior al 99%. El HT está presente en el organismo humano de forma natural (cerebro, iris del ojo), de ese modo el cuerpo lo reconoce y asimila con facilidad.
- Es anfipático, o sea es hidrosoluble y liposoluble. Se puede mezclar con agua, etanol y aceites.
- Olivesan no aporta sabor, color ni olor a los productos a los que se añade.
- Su valor energético es nulo. No aporta calorías.
- No presenta toxicidad a altas concentraciones.
- Se suministra en distintas puridades y formatos según la utilización que se le quiera dar. La pureza varía del 3%-40%.
- La concentración del 3%-10% se presenta en forma líquida para facilitar su disolución en zumos, leche y otros líquidos.
- Se presenta también en polvo (pureza del 5%-20%), para mezcla y formulación.
- El sirope (pureza del 15%-40%) se presenta en forma de gránulos y cápsulas.
- Olivesan se utiliza para alimentación funcional, en preparados nutracéuticos y aplicaciones cosméticas y nutracosméticas. (18)

4.17. LEGISLACIÓN. ORGANISMOS INTERNACIONALES. RECOMENDACIONES DE CONSUMO

La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) es la organización que se ocupa de la evaluación y la comunicación del riesgo de la seguridad de los alimentos y piensos en la Unión Europea. Trabaja en colaboración con organizaciones públicas y privadas de los diferentes Estados Miembro a fin de garantizar la seguridad alimentaria. (41)

En 2011, La EFSA aprobó la siguiente declaración con respecto a los polifenoles del aceite de oliva: *'Los polifenoles del aceite de oliva contribuyen a la protección de los lípidos de la sangre frente al daño oxidativo'*. En las condiciones de uso de la declaración concretó que *'dicha declaración solo puede utilizarse respecto al aceite de oliva que contenga un mínimo de 5 mg de Hidroxitirosol y sus derivados (Oleuropeína o Tiroso)* por 20 g de aceite de oliva. Y que para que un producto pueda llevar esta declaración, *se informará al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene con una ingesta diaria de 20 g de aceite de oliva'*. (35)

'Los resultados del estudio EUROLIVE fueron claves para sustentar la alegación de salud emitida por la EFSA referente al papel protector del consumo de aceite de oliva rico en polifenoles frente a la oxidación de la LDL'. (23)

5. RESULTADOS

Para demostrar la hipótesis objeto de este estudio se recopilaron los valores ORAC de todos los alimentos y sustancias que se querían comparar.

Gracias a la base de datos de *Brunswick Laboratories* (29) se pudieron investigar los valores ORAC de diferentes frutas, verduras, principales extractos con reconocido poder antioxidante y de Olivesan.

5.1. VALORES ORAC DE VERDURAS

Las mediciones ORAC se realizaron frente a los distintos radicales mas frecuentes: radicales Peroxilo (ORAC), radicales Hidroxilo (HORAC), radicales Peroxi-nitrito (NORAC), radicales Superóxido (SORAC), el radical Oxígeno singlete (SOAC) y la suma de todos ellos (ORAC.5).

Tabla 2: Valores ORAC Verduras

Verduras	ORAC	HORAC	NORAC	SORAC	SOAC	ORAC.5
Patata Blanca	63	111	3	—	94	271
Rábano	149	162	5	—	217	533
Tomate	53	181	7	—	563	804
Cebolla dulce	77	238	6	48	406	1.213
Brócoli Raab	397	843	17	211	160	1.629
Lechuga hoja roja	522	1.121	32	94	174	1.974

Tabla 2: Elaboración propia a partir de datos de Brunswick Labs (USA). (29)

5.2. VALORES ORAC DE FRUTAS

Siguiendo con la base de datos de *BRUNSWICK LABS*, se recopilaron los valores ORAC para aquellas frutas que tenían los valores más altos.

- Tabla 3: Valores ORAC Frutas

Frutas	ORAC	HORAC	NORAC	SORAC	SOAC	ORAC.5
Pomelo rojo	110	257	20	453	314	1.154
Cereza	157	669	11	71	388	1.296
Piña	53	127	18	791	331	1.299
Manzana Red Deli.	304	466	15	356	344	1485
Naranja	111	251	16	1005	474	1.857
Frambuesa	389	600	10	548	395	1.942
Ciruelas	498	748	17	265	466	1994
Arándano	469	1230	35	867	539	3.141
Mora	331	1.370	33	945	515	3.194
Fresa	430	1.014	21	2.500	383	4.349

Tabla 3: Elaboración propia a partir de datos de Brunswick Labs (USA). (29)

5.3. VALORES ORAC DE EXTRACTOS ANTIOXIDANTES

En tercer lugar se recopilieron los valores ORAC de distintos extractos con reconocido poder antioxidante.

- Tabla 4: Valores ORAC principales Extractos antioxidantes

Extractos	ORAC	HORAC	NORAC	SORAC	SOAC	ORAC.5
Cocoa	360	707	30	406	85	1.588
Nuez Pecana	307	1.494	57	6.308	317	8.483
Ginko	4.222	9.463	335	6.768	2.097	22.884
Té verde	3.996	14.763	595	14.148	1.317	34.819
Café verde	11.593	40.207	1.294	3.524	2.470	59.088
Pterostibeleno	25.001	41.273	1.093	577	24	67.968
Curcumina	6.211	8.916	906	597	66.292	82.922
Pepitas uva	11.247	29.293	712	51.455	2.854	95.561
Resveratrol puro	30.499	81.989	1.330	266	43.429	157.513

Tabla 4: Elaboración propia a partir de datos de Brunswick Labs (USA). (29)

5.4. VALORES ORAC DE OLIVESAN

Los laboratorios Brunswick certificaron los análisis ORAC.5 de Olivesan. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Poder Antioxidante	Valor ORAC Olivesan 15%	Valor ORAC Olivesan 40%
Peroxyl radicals/ORAC	14.015	20.501
Hidroxy radicals/HORAC	10.162	34.354
Perixynitrite/NORAC	1.137	83
Super oxide anion/SORAC	24.746	20.924
Singlet Oxygen/SOAC	3.012	3.917
TOTAL ORAC.5	53.072	79.779

Tabla 5: Elaboración propia con datos del Certificado de Olivesan realizado por Brunswick Lab.(USA). (29)

En la tabla 5 se pueden ver los valores ORAC de las dos concentraciones más frecuentes de Olivesan frente a los distintos radicales libres. Olivesan resultó ser más efectivo frente a los radicales Peróxido (ORAC) y frente a los radicales anion Superóxido (SORAC).

A continuación con los datos obtenidos de los valores ORAC de los antioxidantes se realizaron unos gráficos.

5.5. GRÁFICOS

A partir de las tablas 2, 3, 4 y 5 se procedió a la elaboración de unos gráficos a fin de comparar e interpretar los resultados obtenidos.

Figura 3: Valores ORAC Verduras.

Fuente: Elaboración propia a partir de la base de datos de Brunswick Labs. (29)

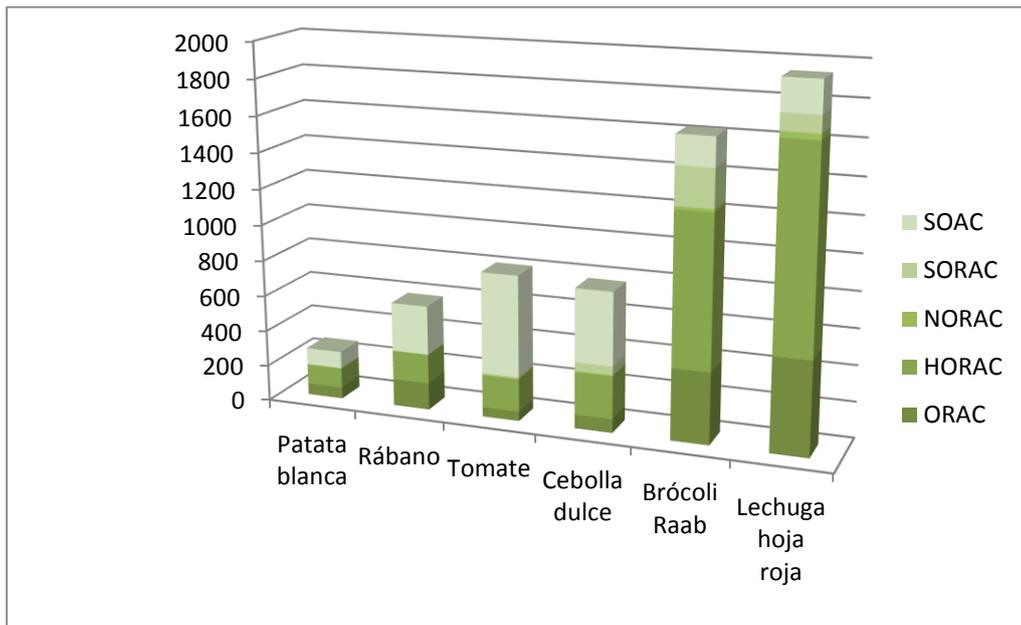
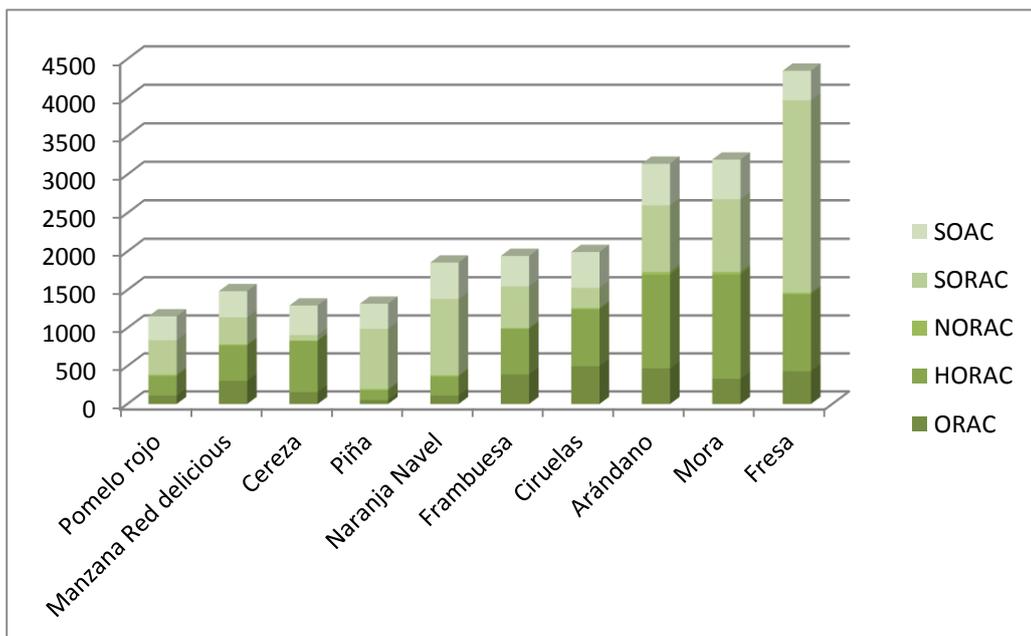


Figura 4: Valores ORAC Frutas.

Fuente: Elaboración propia a partir de la base de datos de Brunswick Labs. (29)



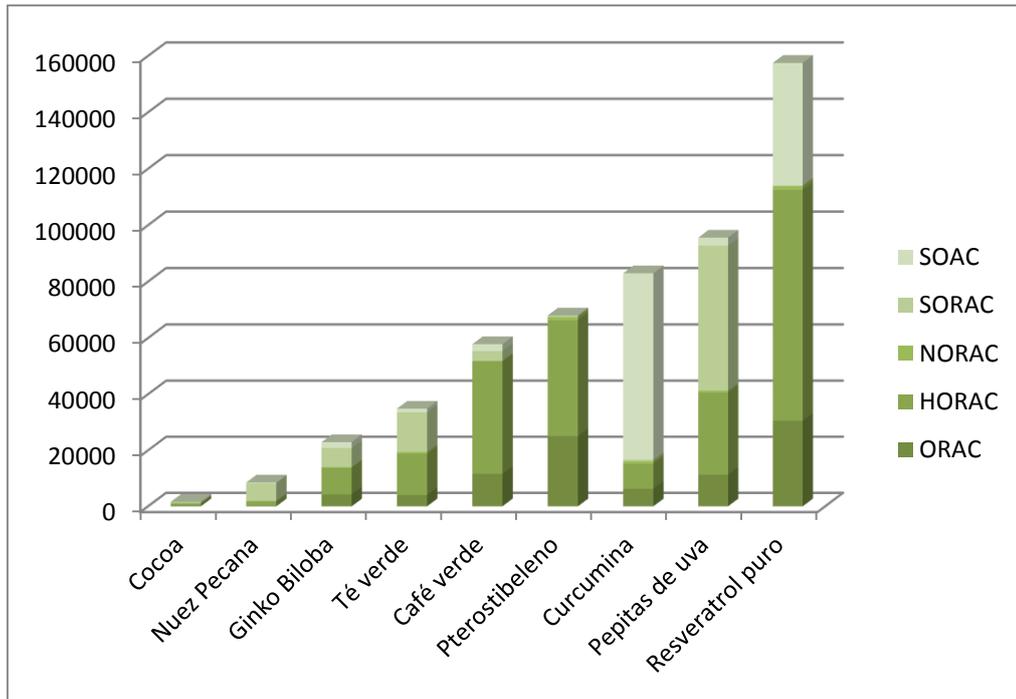


Figura 5: Valores ORAC de Extractos antioxidantes.
 Fuente: Elaboración propia a partir de la base de datos de Brunswick Lab. (USA) (29)

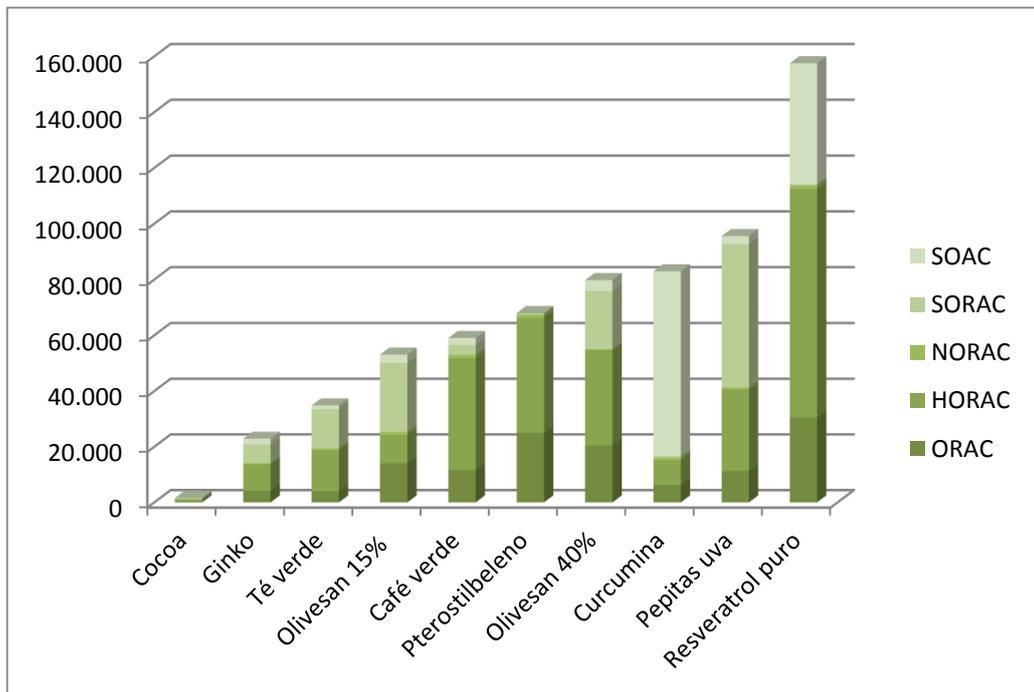


Figura 6: Valores ORAC de Extractos antioxidantes comparados con Olivesan.
 Fuente: Elaboración propia a partir de la base de datos de Brunswick Labs (USA). (29) y datos de Biomaslinic S.L. (13)

Figura 7: Valores ORAC.5 Verduras.

Fuente: Elaboración propia a partir de la bases de datos de Brunswick Labs. (29)

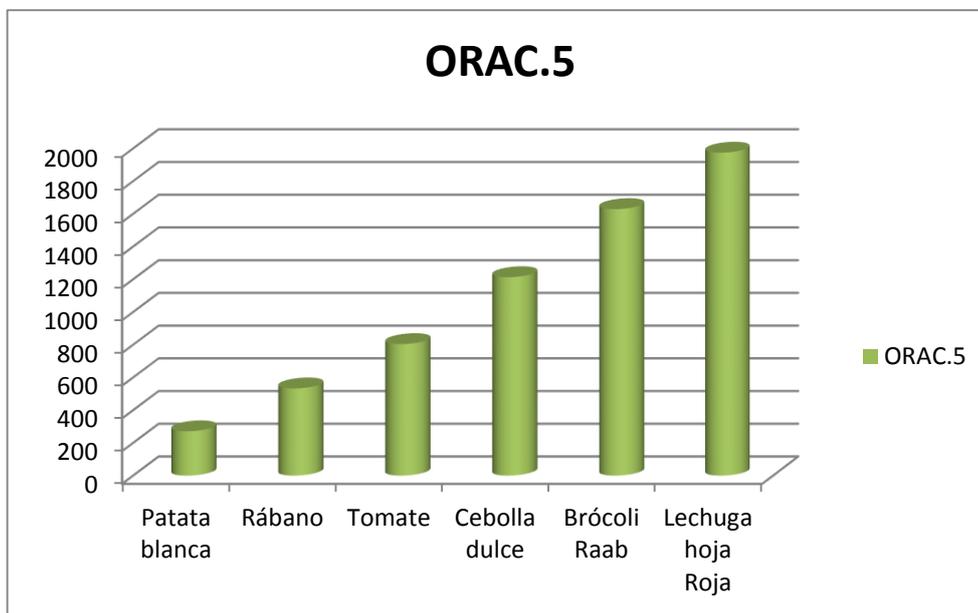


Figura 8: Valores ORAC.5 Frutas.

Fuente: Elaboración propia a partir de la base de datos de Brunswick Labs. (29)

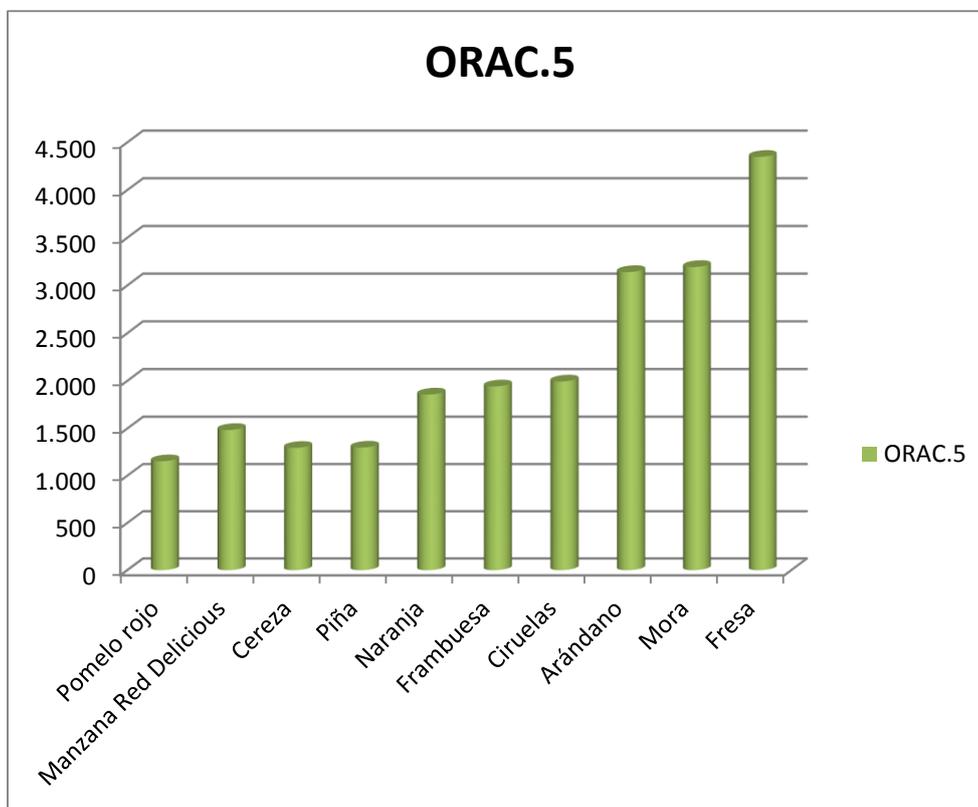


Figura 9: Valores ORAC.5 de extractos antioxidantes.

Fuente: Elaboración propia a partir de la base de datos de Brunswick Labs. (29)

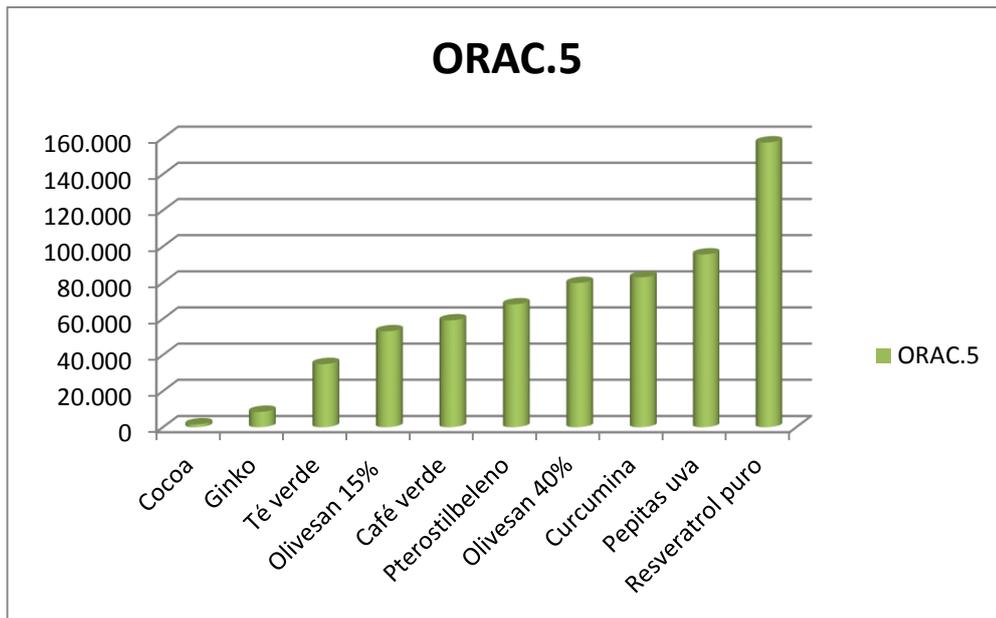
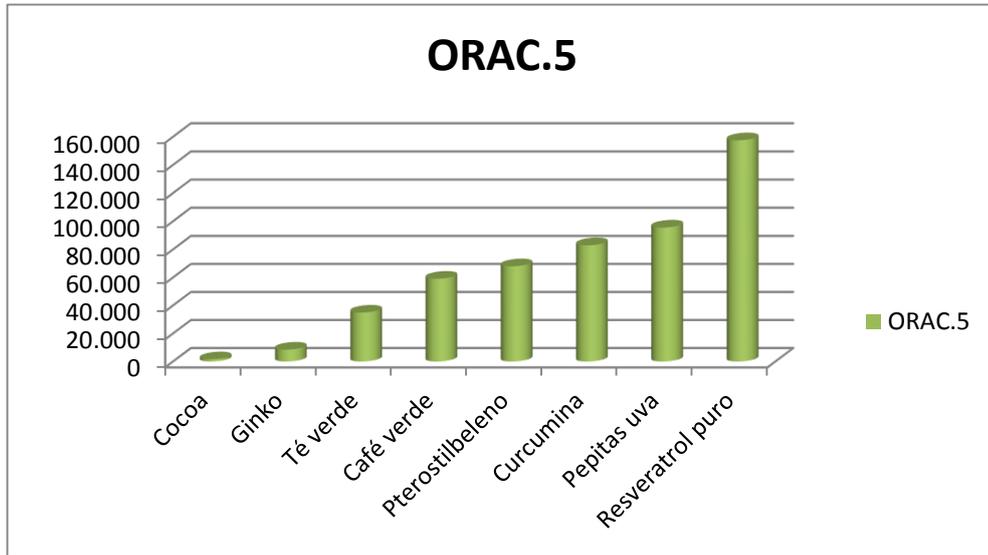


Figura 10: Valores ORAC.5 de extractos antioxidantes comparados con Olivesan.

Fuente: Elaboración propia a partir de la base de datos de Brunswick Labs (29) y datos de Biomaslínic S.L. (13)

Las representaciones gráficas de los valores ORAC y ORAC.5 dan una idea del poder antioxidante de los distintos alimentos y extractos.

Se tomaron los datos de *Brunswick labs*. Se escogieron aquellos alimentos y sustancias cuyo valor ORAC era significativamente alto con respecto al resto. El valor estándar de referencia es el Trolox Equivalente (TE) y la unidad de medida es el micromol de Trolox Equivalente ($\mu\text{mol/TE/g}$). La equivalencia es: 1 $\mu\text{mol/TE/g}$ tiene la capacidad antioxidante de la vitamina E. (29)

- En la figura 3, se puede observar que el tomate es la verdura que tiene un valor SOAC más elevado, seguido por la cebolla. La patata blanca es la que tiene menor poder antioxidante.

Siguiendo con la misma gráfica, se puede observar que la lechuga de hoja roja y el brócoli son las verduras con mayor poder antioxidante frente al radical HORAC.

Se puede observar que los valores de los distintos ORAC para las verduras son bajos. La lechuga con el valor más alto no alcanza los 2.000 $\mu\text{mol/TE/g}$.

- En la figura 4, se observa que la fresa es la fruta con mayor poder antioxidante frente al radical SORAC, y que su valor ORAC total es de 4.349 $\mu\text{mol/TE/g}$, seguida por el arándano.

La mora y el arándano tienen los mayores valores HORAC.

Se puede apreciar que en las frutas los valores ORAC son más elevados que en las verduras, prácticamente se duplican.

En la figura 5, el extracto con mayor poder frente a los radicales NORAC es el Resveratrol puro, con un valor de 157.513 $\mu\text{mol/TE/g}$. Se trata de un valor muy elevado. La Curcumina tiene mayor poder frente a los radicales SOAC.

- En la figura 6, el Resveratrol puro es el que tiene mayor valor HORAC, seguido por el Pterostilbeleno (versión de Resveratrol procedente de arándanos y uvas) y el Olivesan al 40%.

La Curcumina posee el mayor valor SOAC y las Pepitas de uva el valor SORAC más alto.

- En la figura 5, se representa el valor ORAC.5 que es la suma total de los 5 valores ORAC. Se observa que entre las verduras destaca la lechuga de hoja roja como la verdura con mayor poder antioxidante. Su valor es 1.974 $\mu\text{mol/TE/g}$.
- En la figura 8, se puede comprobar que la fresa es la fruta que alcanza el mayor valor total ORAC.5.

- En la figura 9, se puede observar que el Resveratrol alcanza el valor ORAC.5 mas alto entre todos los extractos. Casi 160.000 $\mu\text{mol/TE/g}$.
- Por último en la figura 10, el Resveratrol tiene de nuevo el mayor poder antioxidante ORAC.5. Por encima de la Curcumina y el HT Olivesan al 40% cuyo valor es de 79.778 $\mu\text{mol/TE/g}$.

Hay que recordar que se está comparando un extracto puro con otro concentrado al 15% y al 40%. Esto significa que si la concentración de HT en Olivesan fuera al 100%, su valor antioxidante estaría por encima de los valores ORAC del Resveratrol, de la Curcumina y de las Pepitas de uva.

5.6. EQUIVALENCIAS ENTRE EL HT DEL ACEITE DE OLIVA Y OLIVESAN

Según los datos de *Biomaslinic S.L.*, en la tabla 6 se muestran las equivalencias entre la cantidad de HT contenido en el aceite de oliva (AO), en el aceite de oliva virgen extra (AOVE), Olivesan al 15% y Olivesan al 40%. La lectura es la siguiente:

En cada fila se muestran las equivalencias entre el HT que contiene 1 litro de aceite y Olivesan en sus distintas concentraciones. O sea, 500 mg de olivesan (15%) ó 187,5 mg de Olivesan (40%) proporcionan los mismos beneficios antioxidantes que 1 litro de aceite de oliva. Contienen 75 mg de HT.

Por otro lado, 1 litro de aceite de oliva virgen extra contiene 200 mg de HT. La misma cantidad de HT que hay en 1333 mg de Olivesan (15%) ó en 500 mg de Olivesan (40%).

Tipo Aceite	Olivesan 15%	Olivesan 40%	HT
1 litro AO	500 mg	187,5 mg	75 mg
1 litro AOVE	1333 mg	500 mg	200 mg

Tabla 6: Elaboración propia a partir de datos de Biomaslinic S.L. (13)

Estas proporciones dan una idea de la gran concentración de HT que hay en Olivesan y la gran variedad de usos que se le puede dar a este extracto.

En la tabla 7 se pueden ver las recomendaciones de ingesta de Olivesan según el nivel de actividad diaria y dependiendo de las concentraciones de HT. (18)

- *Salud cardiovascular* se refiere al grado de oxidación para una persona con una actividad normal diaria.
- El término *Salud motriz* se utiliza cuando se mantiene un ritmo bastante activo, por lo tanto las células del cuerpo se oxidan más. La dosis de HT recomendada es mayor que en el caso anterior.
- *Estrés oxidativo* agudo se refiere a un elevado nivel de oxidación. Puede tratarse de una actividad física extrema, por ejemplo la de un deportista de élite o también que la oxidación sea debida a otras causas, como por ejemplo, una enfermedad grave.
- Como se ha dicho anteriormente, la *EFSA* recomienda como mínimo un consumo de HT de 5 mg al día, procedente del aceite de oliva.

Estado	Dosis diaria HT	Olivesan Sirope 15%	Olivesan Sirope 40%	Olivesan Polvo 25%
Salud cardiovascular	5 mg	33,3 mg	12,5 mg	20 mg
Salud motriz	25 mg	166,6 mg	62,5 mg	100 mg
Estrés oxidativo agudo	75 mg	500 mg	187,5 mg	300 mg

Tabla 7: Elaboración propia a partir de datos de Biomaslinic S.L. (13) (18)

6. DISCUSIÓN

6.1. Valor ORAC y biodisponibilidad

En las tablas y gráficos presentados se puede observar que los alimentos poseen diferentes capacidades antioxidantes y que éstas son muy variadas dependiendo del grupo de alimentos del que procedan. Se aprecia que las frutas poseen mayor poder antioxidante que las verduras, pero dónde realmente hay cantidades significativas es en los extractos de algunas sustancias. Así se puede observar que la Curcumina, las Pepitas de la uva y el Resveratrol puro poseen una capacidad antioxidante por encima del compuesto de Olivesan (40% de HT). (Figura 10)

Para seguir adelante con la hipótesis formulada de que *'El Hidroxitirosol puede ser el antioxidante más poderoso con efectos desconocidos hasta la fecha'* se tiene que considerar un factor del que se ha hablado previamente, la biodisponibilidad.

Es cierto que el valor ORAC.5 del Resveratrol puro es mayor que el valor ORAC de Olivesan, pero la biodisponibilidad de Olivesan (40% de HT) es del 99%. Esto significa que el organismo humano asimila prácticamente la totalidad del HT contenido en Olivesan.

Según los datos de un estudio realizado por Walle, T. et al (2004) (42), la biodisponibilidad del Resveratrol tomado por vía oral es muy baja. Los datos de la biodisponibilidad del Resveratrol proporcionados por BIOMASLINIC S.L. (13) apuntan a un 25%. Esta es la razón por la que se puede decir que el poder antioxidante de Olivesan es mayor que el del Resveratrol puro. Siguiendo con la información de *Biomastlinic S.L.* la biodisponibilidad de la Curcumina es menor del 10% y la de las Pepitas de uva es de un 25%. De aquí se deduce que el organismo asimila mejor el HT de Olivesan. (13) (18) (42)

Para conseguir el mismo efecto que produciría una cápsula de Olivesan, se debería consumir una gran cantidad de fruta o de extracto, algo imposible de realizar en la práctica.

Es cierto que a excepción de los estudios Euroolive (23), Predimed (38) y Cordioprev (39), no hay estudios que se hayan realizado con suficientes sujetos como para que sean determinantes, pero hay investigaciones en curso y las expectativas son alentadoras.

6.2. HT contenido en el aceite de oliva y en Olivesan

En la tabla 6, se han representado las equivalencias entre la cantidad de HT contenido en el aceite de oliva y de oliva virgen extra y Olivesan. Se ha podido comprobar que en 500 mg de Olivesan (40%) hay tanto HT cómo en 1 litro de aceite de oliva virgen extra. Es decir que tan solo en un par de gráneas de Olivesan se pueden concentrar los beneficios de 1 litro de aceite de oliva, cantidad que difícilmente se podría ingerir sin los consecuentes efectos nocivos. Esto es una demostración más de los grandísimos beneficios de Olivesan.

6.3. Aplicaciones del Olivesan

Gracias a las propiedades del Hidroxitirosol y sus beneficios para la salud humana. Olivesan se puede utilizar para la prevención de todas las enfermedades ocasionadas por procesos oxidativos. Olivesan se presenta en diferentes formatos y concentraciones según el fin que se le quiera dar: (18)

- El sirope se encapsula como complemento alimenticio en forma de perlas y gráneas. Los laboratorios *NUA* (12) comercializan Olivesan en forma de perla de 170 mg con un contenido de 25,5 mg de HT. Están en el mercado desde hace algunos meses bajo el nombre de *Hidroxinua 25*. Tiene un valor ORAC.5 de 53.072 $\mu\text{mol TE/g}$.
- Como alimento funcional. En su formato en polvo, se puede utilizar para enriquecer con sus propiedades, alimentos sólidos como el pan, pasteles, etc.
- En forma de sirope, para suplementación de productos alimentarios como zumos, bebidas refrescantes, bebidas deportivas, agua, aceites, margarinas, salsas, yogur, etc. (13)
- Suplementación para la alimentación de animales. *BIOMASLINIC S:L*: está realizando estudios para suplementar la alimentación de animales de granja y aprovechar los beneficios antioxidantes del HT. En la actualidad tiene en marcha un estudio en Alemania, conjuntamente con la empresa *KARFHEN*. Durante la cría y engorde de los pavos existe la problemática de que el animal sufre graves problemas cardiovasculares lo que provoca un elevado índice de mortalidad. El estudio que está realizando *BIOMASLÍNICA S.L.* tiene como objetivo la reducción

de la mortalidad de estos animales durante el engorde gracias a la suplementación con HT añadido al pienso. (13)

- El HT tiene también utilidades en el campo de la cosmética. Un ejemplo es la empresa *EG Active Cosmetics* de Barcelona que ha desarrollado una línea de productos para el cuidado de la piel con el extracto Olivesan con propiedades *antiaging*. (46)

7. CONCLUSIONES

En el transcurso de esta investigación se ha hecho un recorrido por los antecedentes del HT. Diversos estudios, como *Euroolive*, *Predimed* y *Cordioprev*, han demostrado las ventajas de la Dieta Mediterránea y el consumo de aceite de oliva. Se han constatado sus efectos beneficiosos en la salud cardiovascular, como antiinflamatorio y como protector frente a los procesos oxidativos del organismo y frente a los radicales libres. (23) (24) (38)

A lo largo de la investigación se han encontrado infinidad de trabajos, proyectos, tesis y doctorados sobre los efectos del Hidroxitirosol en el organismo y la lucha contra las enfermedades. Han sido realizados por estudiantes, profesores universitarios y científicos relacionados con la salud lo cual demuestra el gran interés que esta sustancia suscita y las expectativas que hay depositadas en ella. Esto ha sido un aliciente más para seguir con la búsqueda de información necesaria para la realización de este estudio y afianzar la creencia de la importancia del HT. (43) (44) (45)

Gracias a la autorización de la *EFSA* (2012), se puede afirmar que el Hidroxitirosol tiene un gran potencial antioxidante como componente del aceite de oliva. Forma parte de su composición junto con otros fenoles que son el Tirosol y la Oleuropeína. Este 'pack de fenoles' ejerce su acción protectora conjuntamente potenciando el poder antioxidante del Hidroxitirosol. (35)

La empresa de I+D *BIOMASLINIC S.L.* tras largas investigaciones ha logrado un extracto de fenoles, *Olivesan*, con un alto contenido en Hidroxitirosol (hasta el 40%). Las ventajas que ofrece *Olivesan* son:

- Tiene un proceso de obtención natural.
- Su biodisponibilidad del 99% no es superada por ningún otro antioxidante,
- Es una molécula muy simple. Es un magnífico medio de transporte de otras sustancias que por su naturaleza son incapaces de alcanzar todos los rincones del organismo.
- Es anfipática, es decir hidrosoluble y liposoluble. Por ese motivo atraviesa todas las membranas de los órganos, especialmente el cerebro.
- Esta sustancia forma parte del cuerpo humano de forma natural (está presente en el iris del ojo), por este motivo el organismo la reconoce como propia y no hay rechazo. Ésto significa que el organismo asimila el HT con facilidad.

Tras comparar los valores ORAC.5 de las frutas y verduras se ha constatado que el poder antioxidante que tienen es mínimo comparado con los valores obtenidos por los distintos extractos antioxidantes.

La conclusión final es que Olivesan al 40% con un valor ORAC.5 de 79.779 $\mu\text{mol/TE/g}$ es uno de los cuatro extractos con mayor valor ORAC.5, junto con la Curcumina (82.922 $\mu\text{mol/TE/g}$), el extracto de Pepitas de uva (95.561 $\mu\text{mol/TE/g}$.) y el Resveratrol puro (157.513 $\mu\text{mol/TE/g}$.). El valor añadido de Olivesan, como ya se ha comentado, es su alta biodisponibilidad que hace que en la práctica sea mejor asimilado por el organismo y se aproveche en su totalidad.

La EFSA recomienda un consumo de 5 mg/día de HT procedente del aceite de oliva. Especifica que el HT debe ir acompañado por el resto de polifenoles del aceite de oliva porque potencian su poder antioxidante. Una perla de olivesan tiene 25,5 mg.

La divulgación de las propiedades antioxidantes del HT es el paso siguiente. Presentar el HT a las distintas organizaciones en materia de nutrición y salud, a las empresas de I+D, a las farmacéuticas, a investigadores y a la población en general, porque el gran potencial del HT se debe aprovechar en beneficio de la salud.

Por todo lo planteado en este estudio, la hipótesis propuesta al inicio de esta investigación se puede dar por verificada:

‘El hidroxitirosol puede ser el mejor antioxidante natural con efectos desconocidos hasta la fecha’.

8. BIBLIOGRAFÍA

(1) 'La Dieta mediterránea'. Disponible en: <http://www.unesco.org/culture/ich/es/RL/00884>

(2) Estruch, R. et al. 'Estudio PREDIMED, 'Efectos de la dieta mediterránea sobre la prevención primaria de la enfermedad cardiovascular'. Abril 2009. Disponible en: y en <http://www.predimed.es>

(3) de la Fuente, P. et al. 'Propiedades antioxidantes del Hidroxitirosol de la hoja del olivo (*Olea europaea* L)'. Disponible en: <http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/03%20OLEA%20EUROPAE%20139-147.pdf>

(4) 'Los fenoles del aceite de oliva'. EFSA. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/search/doc/2033.pdf>

(5) González Santiago, M.P. 'Estudio de los efectos cardiovasculares y la absorción oral del hidroxitirosol en modelos animales y humanos'. Universidad de Granada. 2005. Tesis doctoral. Disponible en: <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/610/1/15467569.pdf>

(6) Shaffer, S. et al. 'Cytoprotective effects of olive mill wastewater extract and its main constituent hydroxytyrosol in PC12 cells". Elsevier. 2010. Publicado por: Pharmacol Res. 62(4):322-7. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661810001271>

(7) Silva, S. et al. 'Protective effects of hydroxytyrosol-supplemented refined olive oil in animal models of acute inflammation and rheumatoid arthritis'. PubMed. US National Library of Medicine. National Institute of Health. 2015. Publicado por: J.Nutr Biochem. 26 (4): 360-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25620693>

(8) Warleta, F. et al. 'Hydroxytyrosol Protects against Oxidative DNA Damage in Human Breast Cells.' Nutrients. 2011. National Library of Medicine. 2011. Publicado por: Nutrients. 3(10):839–857. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3257739/>

(9) Lee-Huang, S. et al. 'Discovery of Small-Molecule HIV Fusion and Integrase Inhibitors Oleuropein and Hydroxytyrosol: II. Integrase Inhibition'. US National Library of Medicine.

Institutes of Health. 2007. Publicado por: Biochem Biophys Res Commun. 354(4):879–884. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1857318/>

(10) Fistonc, I. et al. '*Olive oil biophenols and women's health*'. US National Library of Medicine. National Institutes of Health. 2012. Publicado por: Med Glas (Zenica). 9(1) 1-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22634935>

(11) Keitaro, H. et al. '*Olive polyphenol hydroxytyrosol prevents bone loss*'. Elsevier. 2011. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299911004134>

(12) Laboratorios NUA. Disponible en: <http://www.hidroxi-nua.com>

(13) Biolaslinic SL. Disponible en: <http://www.biomaslinic.es>

(14) Genosa I+D. Disponible en: <http://www.genosa.com>

(15) Nutrafur. Disponible en: <http://nutrafur.com>

(16) Probeltegrupo. Disponible en: <http://www.probeltegrupo.es>

(17) Seprox Biotech. Disponible en: <http://www.seprox.es>

(18) Olivesan. Disponible en <http://www.olivesan.com>

(19) Sofi, F. et al. '*Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis*'. Publicado en: BMJ Research 2008. 337:a1344 Disponible en: <http://www.bmj.com/content/337/bmj.a1344>

(20) '*Pirámide alimentaria*'. Fundación Dieta Mediterránea. Disponible en: <http://dietamediterranea.com/piramide-dietamediterranea/>

(21) '*Fichas de plantas útiles*'. Agrónomos ETSIA. UPM. Disponible en: <http://www1.etsia.upm.es/departamentos/botanica/fichasplantas/olides.html>

(22) '*Aceite de oliva, Polyphenol Research*'. Universidad de Barcelona. Disponible en: <http://www.polyphenolresearch.com/aceite-de-oliva>

(23) 'Estudio *Eurolive*'. Disponible en: <http://www.ciberobn.es/newsletters/newsletter23/CIBERObn-Newsletter23.pdf>

(24) Castañer, O. et al. *Protection of LDL from oxidation by olive oil polyphenols is associated with a downregulation of CD40-ligand expression and its downstream products in vivo in humans*. 2012. Publicado por PubMed. National Library of Medicine. USA. Institut of Public Health. 95(5):1238-44. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22440854>

(25) Suárez, M. *Obtención de extractos fenólicos a parti de subproductos de la oliva y aplicación en el desarrollo de un aceite de oliva enriquecido*. 2010. Tesis doctoral. Universitat de Lleida. Escola d'Enginyeria Agrària. Departament de Tecnologia dels Aliments. Disponible en: <http://www.antioxidants.udl.cat>

(26) Giuffrè, A.M. et al. *'Antioxidant activity of olive oil mill wastewater obtained from different thermal treatments' Department of Biotechnologies for Agricultural Food and Environmental Monitoring* 2012. (Bio.M.A.A.) Mediterranean University of Reggio Calabria,. Disponible en: <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/viewFile/1370/1367>

(27) Rodríguez Perón, J.M. et al. *'Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo*'. Rev Cub Med Mil. 2001. vol.30, n.1 [2015-04-17], pp. 15-20. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572001000100007&lng=en&nrm=iso . ISSN 1561-3046

(28) López, A. et al. *'Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades*'. Publicado por: Revista ANACEM. 2012. volumen 6 N°1. Disponible en: <http://revista.anacem.cl/web/wp-content/uploads/2012/04/Antioxidantes-un-paradigma-en-el-tratamiento-de-enfermedades.pdf>

(29) *Brunswick Labs*. (USA) Disponible en: <http://www.brunswicklabs.com/tech-library/orac-database-preface>

- (30) Bride, J. 'Can foods forestall aging?' Publicado por: AgResearch Magazine. 14(7)178-185. 1999. United States Department of Agriculture. Disponible en: <http://agresearchmag.ars.usda.gov/1999/feb/aging>
- (31) Gonzalez-Santiago, M. et al. 'One-month administration of hydroxytyrosol, a phenolic antioxidant present in olive oil, to hyperlipemic rabbits improves blood lipid profile, antioxidant status and reduces atherosclerosis development.' *Atherosclerosis*. 2006. US National Library of Medicine. National Institute of Health. PubMed: 188(1):35-42. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16300770>
- (32) Harris, S. 'Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects' US Library of Medicine. National Institute of Health'. 2010. Publicado por: *Sci Pharm*. 78(2):133-154.PMCID. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3002804/>
- (33) Rafehi, H. et al. 'Mechanisms of action of phenolic compounds in olive'. 2012. Publicado por: *J Diet*. 9(2):96-109. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22607645>
- (34) Schaffer, S. et al. 'Hydroxytyrosol-Rich Olive Mill Wastewater Extract Protects Brain Cells in Vitro and ex Vivo'. *Agric. Food Chem*. 2007. 55(13), pp 5043-5049. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0703710>
- (35) EFSA. *Reglamentos (UE) nº 432/2012 de la Comisión de 16 de mayo de 2012*. Diario oficial de la Unión Europea. Nº de boletín de la EFSA Journal 2011; 9(4):2033. Nº entrada de la lista consolidada que se remitió a la Efsa para su evaluación: 1333, 1638, 1639, 1696, 2865. Disponible en: <http://www.boe.es/doue/2012/136/L00001-00040.pdf>
- (36) Vilaplana-Pérez, C. et al. "Hydroxytyrosol and Potential Uses in Cardiovascular Diseases, Cancer, and AIDS". Publicado en: *Frontiers in Nutrition* 1. 2014, 18. PMC. Web. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4428486/>
- (37) Zhu, L. et al. 'Hydroxytyrosol protects against oxidative damage by simultaneous activation of mitochondrial biogenesis and phase II detoxifying enzyme systems in retinal pigment epithelial cells'. Publicado en: *J Nutr Biochem*. 2010. 21(11):1089-98. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20149621>

(38) 'Se presentan los resultados del estudio PREDIMED sobre dieta mediterránea, liderado por profesores de la UB'. 2013. Universitat de Barcelona. Disponible en: http://www.ub.edu/web/ub/es/menu_eines/noticies/2013/02/070.html

(39) Estudio Cordioprev. Disponible en <http://www.cordioprev.es>

(40) 'Antioxidantes, conservarse mejor'. AESAN. Disponible en: http://www.naos.aesan.msssi.gob.es/ca/csym/saber_mas/articulos/antioxidantes.html

(41) EFSA. Agencia Europea de Seguridad Alimentaria. http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/web/punto_focal_efsa/punto_focal_efsa.shtml

(42) Walle, T. et al. 'High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans'. Publicado en: Drug Metab Dispos. 2004. 32(12):1377-82. Epub. US National Institutes of Health Search database. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15333514/>

(43) Gimeno, E. et al. 'Cambios en el contenido fenólico de las lipoproteínas de baja densidad después del consumo de aceite de oliva en hombres. Un estudio crossover aleatorio y controlado'. Publicado en: Br J Nutr. 2007. 98(6):1243-50. Department of Nutrition and Food Science, Reference Center in Food Technology, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona. Disponible en: <http://www.naturafoundation.es/?objectID=4412&page=7>

(44) Arranz, S. 'Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la Dieta Española. Metodología para su determinación e identificación'. Facultad de Farmacia. Universidad de Madrid. 2010. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/11255/1/T32158.pdf>

(45) Pérez Mañá, C. 'El Hidroxitirosool como antioxidante de origen endógeno y natural. Modulación por la ingesta de alcohol'. Facultad de Medicina. UAB. 2014. Disponible en: <http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/284328/cpm1de1.pdf?sequence=1>

(46) E.G. Active Cosmetics. Disponible en:

http://www.egactivecosmetics.com/images/HT_ANTIOXIDANT_ING2013.pdf