


Roberto Crea - Creagri

Conferenza: I benefici dei polifenoli dell'olivo sulla salute umana

E' incredibile quanto si sta scoprendo sulle proprietà degli antiossidanti contenuti nelle olive: Nel Nord America si suole indicare con "Mediterranean miracle" ciò che richiama alla mente delle persone i benefici della dieta mediterranea, e credo che alla fine di questa mia presentazione saremo d'accordo che con i risultati sperimentali che si stanno ottenendo sulla salute dell'uomo, si può pensare veramente all'olivo come a un miracolo della natura. Sono ormai diversi anni che si studiano a livello sperimentale i benéfici effetti dell'olio d'oliva nella dieta mediterranea anche con indagini epidemiologiche in Italia e in Grecia, e si è messo in evidenza la correlazione tra l'uso dell'olio di oliva e la bassa incidenza di malattie coronariche, di alcune forme di tumore e, più recentemente, del cancro del colon.



The Mediterranean Diet

OLIVE OIL

- Principal fat in the Mediterranean diet
- Correlated to region's notably low incidence of CHD, breast cancer and colon cancer and to high life-expectancy rate
- Health-promoting benefits confirmed in large number of studies
- 2 major fractions: saponifiable fraction or tryglicerides (98-99%) and non-glyceride polyphenol fraction
- Health benefits of extra virgin olive oil now attributed to presence of natural antioxidant polyphenols (especially HYDROXYTYROSOL)

1

Chi segue la letteratura medica avrà visto centinaia di lavori non solo in Italia, ma anche in Australia, Inghilterra, Germania, ecc. sui polifenoli delle olive. Vi è un grande interesse in tutto il mondo per la possibilità di utilizzare la capacità antiossidante di questi polifenoli per curare diverse malattie. Numerose ricerche dimostrano l'attività benefica dei polifenoli dell'olio d'oliva sulle patologie coronariche e su quelle neoplastiche. Lavori sono stati fatti in Italia all'Università di Milano dal prof. Galli, e all'Università di Perugia dal prof. Montedoro, che hanno messo in evidenza, sia in vitro che in vivo, alcuni azioni di queste sostanze naturali presenti nelle olive. Uno studio è stato fatto in Germania sulle proprietà antitumorali dell'olio di oliva per quanto riguarda il cancro, e infine vorrei presentarvi brevemente una ricerca che è stata fatta l'anno scorso in Svezia su una popolazione che non aveva mai provato la dieta mediterranea, e che soffriva di artrite reumatoide.

Dopo solo tre mesi di una dieta nuova dieta basata sul quella mediterranea, si è osservata nei soggetti sofferenti




Several Biological Activities attributed to Olive Oil Phenolics

- Scavenging of superoxide and other ROS
- Inhibition of LDL oxidation *in vitro* and *in vivo*
- Inhibition of platelet aggregation
- Increased plasma antioxidant capacity
- Hypotensive action
- Inhibition of bacterial growth and activity

2

una diminuzione notevole sia del dolore sia dell'infiammazione che sono sempre associati all'artrite reumatoide. La conclusione di questo lavoro è stata che la presenza rilevante dell'olio di oliva, ricco di antiossidanti di tipo fenolico, esercita un'attività antinfiammatoria simile a quella degli omega 3 dell'olio di pesce.



Worldwide Research

MEDITERRANEAN DIET & RHEUMATOID ARTHRITIS. Feb. 19, 2003

Study: An experimental study of a Mediterranean diet intervention for patients with rheumatoid arthritis. Skoldstam, et al. *Ann Rheum Dis.* 2003; 62:208-214.

Background:

- Case-control and epidemiological studies indicate Mediterranean diet (MD) may protect against development or severity of rheumatoid arthritis
- MD uses olive oil as primary source of fat

Nonostante i benefici che l'olio di oliva produce come parte della dieta mediterranea, le quantità di polifenoli che sono presenti negli oli sono estremamente basse. Infatti ormai è accertato che il 99% della frazione polifenolica particolarmente attiva, va a finire nelle acque di vegetazione. Data la loro polarità tutti questi polifenoli si disperdono nell'ambiente e nelle acque di scarico. Si perde così una grande opportunità di recuperare questa classe di composti molto attiva e che è concentrata nelle acque di scarico. Solo in Italia, ad esempio, abbiamo più di 800.000 tonnellate all'anno di acqua di vegetazione prodotte dai frantoi, che non sono mai state utilizzate, anzi sono causa di un costo molto serio per essere smaltite e sono un problema ecologico per l'ambiente.

La nostra attività si è focalizzata sull'opportunità di sfruttare le acque di vegetazione. Mentre nell'olio d'oliva i composti polifenolici sono presenti in quantità piuttosto bassa, nell'acqua di vegetazione sono da 100 a 300 volte più concentrati, quindi ci siamo proposti di trovare un processo che potesse recuperare i polifenoli dalle acque di vegetazione. Da un punto di vista di processo e di prodotto è stato abbastanza



The lost opportunity

- Polyphenols in EVOO

From 100ug to 100mg/liter

(Average 5-50mg/l)

- Polyphenols in v-water

From 5,000 to 10,000 mg/liter

(Average 7,500mg/l)

4

facile, forse anche un caso di fortuna, poter utilizzare l'acido citrico non solo per stabilizzare la fase acquosa da un punto di vista microbiologico, ma anche per realizzare le condizioni per l'idrolisi a idrossitirosolo di molecole molto più complesse, e, allo stesso tempo, prevenire sia la ripolimerizzazione dell'idrossitirosolo sia la fermentazione dovuta alla presenza di microrganismi.

Il nostro processo consiste di due tappe: la prima è quella di separare il nocciolo dalla polpa e la seconda di trattare le acque separate dall'olio con acido citrico. Per quanto riguarda la concentrazione nell'acqua i polifenoli sono presenti da 5 a 10 g. per litro; ciò è importante perché il nostro processo di produzione consiste nel separare la soluzione acquosa, stabilizzarla con acido citrico e concentrarla per farne una soluzione concentrata o addirittura una polvere. Praticamente ogni 2 ml di acqua che noi concentriamo, contiene la stessa quantità di polifenoli contenuti un mezzo litro di olio. Per questo noi oggi non dovremmo più parlare di acqua di vegetazione o acqua di scarico, ma dovremmo chiamare la soluzione acquosa "succo d'oliva".

Con questo procedimento abbiamo potuto produrre i preparati polifenolici in forma liquida concentrata (HIDROX) o in polvere (OLIVENOL). Quindi abbiamo iniziato già tre anni fa una serie di ricerche mirate sia alla valutazione della sicurezza sia alla determinazione dell'attività biologica di questi nuovi prodotti. Nel preparato polifenolico è preminente la presenza di idrossitirosolo perché l'idrolisi prodotta dall'acido citrico e probabilmente anche da enzimi che agiscono a quel determinato pH, rilasciano principalmente l'idrossitirosolo, che è una molecola molto più semplice e molto più attiva dei suoi precursori presenti nell'oliva e nelle foglie, come l'oleuropeina.

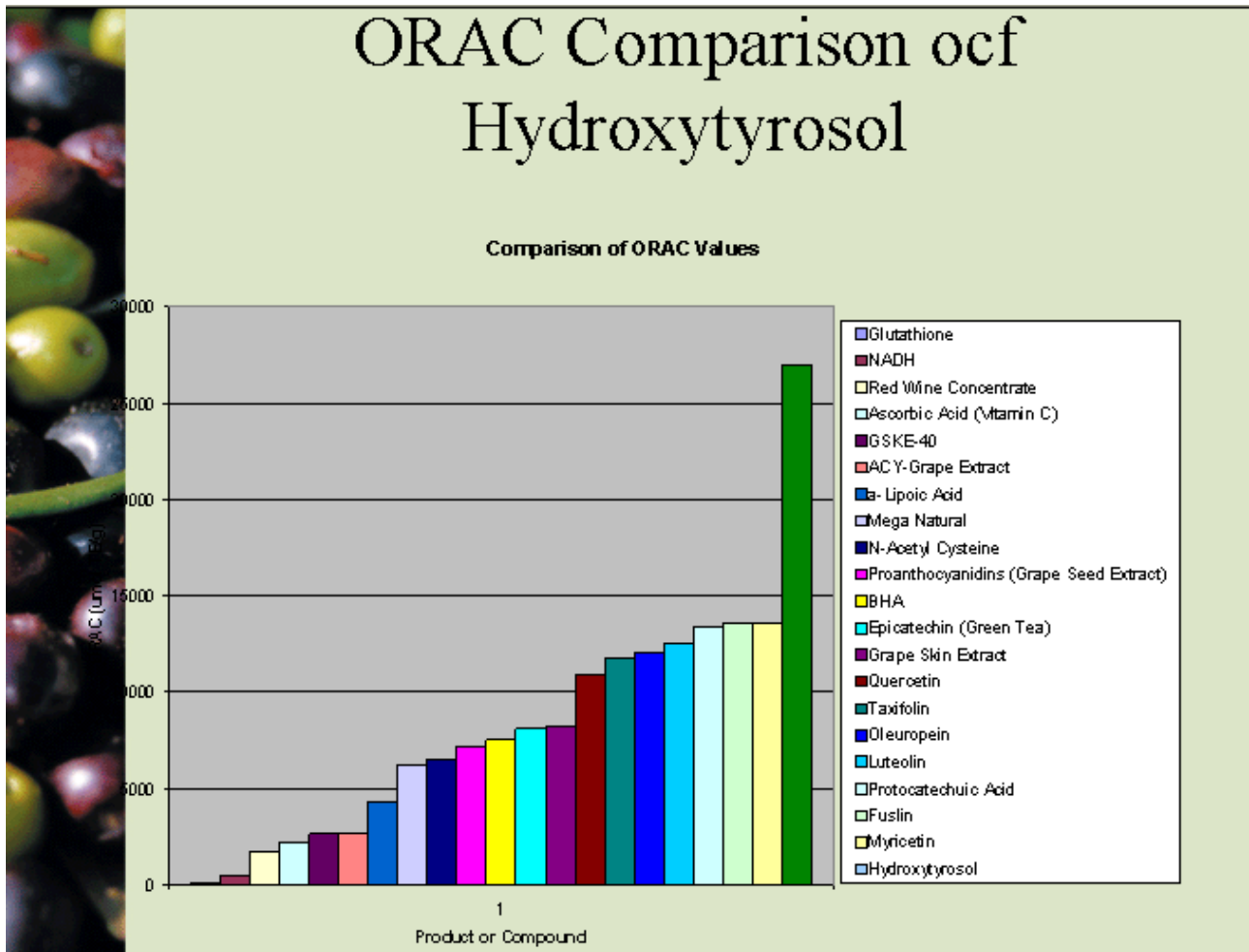
THE PATENTED PROCESS Collection of Vegetation Water

- 50% of the olive's weight is made of vegetation water
- One m-ton of olives will yield ca. 600-1000 liters of v-water
- V-water contains between 5 and 10 g polyphenols/liter.
- 2 ml. V-water contains the same amount of polyphenols as 0.5 liter of Extra Virgin Olive Oil.



Quello che è incredibile è che la molecola dell'idrossitirosolo assomiglia moltissimo a quella della dopamina. La dopamina è una molecola presente nel cervello, la cui assenza o diminuzione provoca malattie come l'Alzheimer, Parkinson, ecc. È interessante vedere come l'idrossitirosolo ottenuto dall'olivo assomigli alla dopamina, che non è altro che la sua forma amminica. L'idrossitirosolo è una molecola molto piccola, capace di penetrare i tessuti molto rapidamente, e da vari esperti è stata confermata come una molecola delle più interessanti dei biofenoli presenti nel frutto dell'olivo. Vi sono testimonianze di scienziati da tutto il mondo che mettono in evidenza le caratteristiche uniche di questo tirosolo non solo come antiossidante, ma anche come sostanza antinfiammatoria. Abbiamo fatto un confronto dell'idrossitirosolo estratto dalle olive con altri antiossidanti usati dall'industria e abbiamo constatato che come attività ORAC (che significa capacità di neutralizzare radicali liberi), l'idrossitirosolo è molto più potente della maggioranza dei prodotti naturali che hanno simile attività.

ORAC Comparison of Hydroxytyrosol



6

Studi fatti sull'uomo confermano che questi composti fenolici dell'olio di oliva e delle acque di vegetazione, sono sostanze che vengono assorbite molto facilmente nel tratto intestinale e si ritrovano nel plasma immediatamente dopo l'ingestione per via orale.

La nostra società basandosi sul processo prima descritto, che è stato brevettato negli Stati Uniti, ha introdotto nel 2001 un integratore dietetico chiamato "olivenol". Abbiamo ritenuto opportuno formulare l'idrossitirosole in capsule che sono, poi, state messe sul mercato.


Olivenol(r)

- First formulation of Hydroxytyrosol developed by CreAgri as Dietary Supplement
- One capsule (or tablet) contains 5 mg Polyphenols, of which approx. 50% is Hydroxytyrosol
- Introduced in the US market in 2001
- Numerous reports of beneficial effects (Testimonials)



7

Oggi si è parlato parecchio della sicurezza, chiaramente è nostra responsabilità una volta messo a punto il processo che ci ha permesso di produrre i preparati fenolici, confermarne l'estrema sicurezza ed in questo senso la nostra società si è impegnata a fare uno studio molto ampio secondo i criteri stabiliti dalla FDA negli Stati Uniti. Praticamente abbiamo investito quasi un milione di dollari in un anno per valutare l'effetto di queste formulazioni polifenoliche ad alte concentrazioni sugli animali da laboratorio, e abbiamo dimostrato che le nostre formulazioni sono sicure e non producono effetti collaterali, nemmeno a concentrazioni molto alte, 5 g/Kg/d assunte per 28 giorni.



Safety Studies in animals for GRAS


Acute oral toxicity study

- No toxicity at doses as high as 5000 mg/kg
- Report written; manuscript accepted for publication (October 2004).

Range-finding reproductive/developmental toxicity study

- No adverse effects on male or female reproduction or viability and growth of pups at doses up to 2000 mg/kg

La procedura per il riconoscimento di una formulazione come GRAS (generally recognized as safe) negli USA si svolge nel seguente modo: una volta eseguiti gli studi di sicurezza prescritti, si presentano i dati a un gruppo di esperti i quali li analizzano, dopo di che affermano se la sostanza è sicura o no. Un volta avuta questa assicurazione, assieme agli esperti abbiamo messo assieme una



GRAS affirmation obtained

THE GRAS STATUS OF OLIVE PULP EXTRACT (HIDROX®) USED AS AN ANTIOXIDANT OR ANTIMICROBIAL AGENT HAS BEEN ACHIEVED.

- Panel Members
- Joseph F. Borzelleca, Ph.D., Fellow, A.T.S.
- George A. Burdock, Ph.D., Diplomate, A.B.T.
- Mildred S. Christian, Ph.D., Fellow, A.T.S.
- **June 23, 2004**

lista di quelle che possono essere le applicazioni nel settore alimentare, dove l'utilizzo di questi polifenoli darà degli effetti antiossidanti o antibatterici. Da questo momento in poi possiamo proporre alle industrie l'utilizzo di queste formulazioni sia per bevande analcoliche sia per prodotti come pane, cereali, salse vegetali ecc.



Proposed use levels and Possible Daily Intake of HIDROX(r)

Food Categories:

- **Processed fruits and fruit juices.** Include juices and juice punches, concentrates, beverages "aides" and drink substitutes made therefrom
- **Beverages Type I- non-alcoholic.** Include fruit flavored drinks, meal supplement/replacement drinks
- **Baked goods and baking mixes.** Include whole wheat and multi-grain breads
- **Breakfast cereals and bars.** Ready to eat and instant and regular hot cereals and Granola type bars
- **Snack foods.** Chips, pretzels and other novelty snacks
- **Gravies and sauces.** Include meat sauces and gravies and tomato, milk, buttery and specialty sauces

*CSFII 1994-96 (2000) database was used for the analysis.

Questa prima fase di studi sulla sicurezza conferma che le acque estratte dalle olive non hanno tossicità, a meno che non si lascino le acque diventare tossiche. Questo è importante perché nella letteratura troviamo tutta una serie di risultati contrastanti; c'è chi dice che sono tossiche, e le chiama acque nere, e c'è chi dice che non sono tossiche perché le acque diventano nere durante la separazione dell'olio dalle acque in frantoio, quando il produttore non fa niente per accelerare la separazione e per proteggerle e le abbandona all'aria esposte alle ossidazioni e alle alterazioni batteriche, che producono una tossicità che inizialmente non esisteva. Quindi per la prima volta dall'oliva noi otteniamo un prodotto che possiamo chiamare con molta tranquillità "succo di oliva". Oggi possiamo benissimo guardare alla oliva come al frutto che non solo ci dà l'olio, ma ci dà anche un succo che può essere usato a livello alimentare.

La cosa notevole riguardo a questi prodotti è l'attività antinfiammatoria oltre all'attività tipica antiossidante. E' sull'attività antinfiammatoria che la nostra Società si è focalizzata in questi ultimi anni e ha investito parecchio sulla ricerca. Vi farò vedere come partendo da testimonianze occasionali di persone che hanno utilizzato l'olivenol, abbiamo rilevato un grosso effetto sulla artrite reumatoide sulla base delle esperienze su persone che avevano dolori o gonfiori alle giunture, come nel caso di un professionista che soffriva di osteoartrite e si curava con dosi massicce di antireumatici e antinfiammatori steroidei e che dopo solamente dieci giorni di assunzione di Olivenol, ha avuto risultati assolutamente imprevedibili, eliminando totalmente il dolore associato all'infiammazione

Sulla base di queste osservazioni abbiamo iniziato una collaborazione con alcune Università, in particolare con quella dell'Arizona, e l'anno scorso abbiamo cominciato uno studio su pazienti affetti da artrite reumatoide e da osteoartrite. 300 pazienti sono stati intervistati e di questi 90 sono stati selezionati: metà sono stati trattati con olivenol due volte al giorno e l'altra metà con placebo,

e alla fine di quattro settimane si sono valutati i risultati. Sono molto lieto di riportare che proprio sulla base di questi studi, che poi si riassumono come rapporti che il paziente stesso deve compilare settimana per settimana sul suo stato fisico di salute, e il rapporto che viene invece fatto dal reumatologo che segue questi pazienti, si vede la differenza tra il gruppo placebo ed il gruppo che ha utilizzato l'olivenol. Si è così potuto mettere in evidenza che il 78,6% della popolazione che ha utilizzato i polifenoli dell'olivo ha mostrato dei miglioramenti durante le otto settimane da un punto di vista sia clinico sia biochimico, analizzando campioni di sangue, di urine e di saliva e poi correlando i miglioramenti clinici anche con il quadro biochimico. Seguendo opportuni markers si è capito qual'è il meccanismo di azione di questi polifenoli: nel caso specifico abbiamo visto che i pazienti affetti da osteoartrite reagiscono meglio di quelli affetti da artrite reumatoide. In conclusione, però, si vede che c'è un effetto significativo in tutte due le popolazioni, con una diminuzione notevole sia del dolore sia dell'infiammazione, con un miglioramento della motilità dei pazienti.

Ancora più importante, perché si basa essenzialmente sull'intervista del paziente e sul piano clinico, è lo studio condotto assieme al prof. Numano nella sua clinica di Tokio: è uno studio aperto dove 52 individui affetti da forme infiammatorie sia a livello vascolare, sia a livello di malattie della pelle, sono stati in osservazione per un periodo di 18 mesi dal prof. Numano, che è riconosciuto come un luminaire nel campo delle infiammazioni vascolari. E' risultato molto evidente l'effetto dell'Olivenol sulla psoriasi, cosa che non prevedevamo. La psoriasi riguarda 13 milioni di persone in tutto il mondo ed è una malattia molto debilitante dal punto di vista estetico ed emozionale; è molto seria perché i pazienti con la psoriasi non hanno oggi possibilità di cura certa; esiste tutta una serie di trattamenti, che tendono a contenere la progressione di questa malattia con costi enormi. Le terapie esistenti sono immunorepressive, cortisoidi, ecc., ma nessuno di questi trattamenti è una cura vera e propria. Alcuni pazienti affetti da psoriasi hanno mostrato miglioramenti, come nel caso di una paziente affetta da psoriasi purulenta, ricoverata nella clinica del prof. Numano per altri motivi, curata con Olivenol: prendendo solo due pillole al giorno, dopo solamente alcuni mesi ha risolto all'80-85% le placche della psoriasi. Questi dati che stiamo avendo dal laboratorio del prof. Numano su diverse malattie dimostrano che i polifenoli dell'olivo ingeriti per via orale sono molto potenti, se si pensa che in ogni capsula ne sono presenti dai 5 ai 10 mg, la quantità corrispondente a quella contenuta solo in alcuni ml di acque di vegetazione. Poiché una tonnellata di olive produce circa una tonnellata di acqua di vegetazione, mentre il contenuto di olio che si estrae da una tonnellata di acqua è al massimo il 15%, da una tonnellata di acqua riusciamo a produrre un milione di queste capsule di Olivenol, e questi pazienti solamente con due pillole al giorno in alcuni mesi dimostrano una regressione incredibile della malattia.. In conclusione abbiamo notato che contrariamente a tutta una serie di antiossidanti o vitamine che vengono normalmente proposti come integratori dietetici, queste sostanze fenoliche dell'olivo agiscono in modo molto rapido, non hanno alcuna tossicità e hanno tutta una serie di benefici per la salute umana. In questo momento stiamo collaborando con il Parkinson Institute della California proprio perché pazienti affetti dal Parkinson stanno utilizzando olivenol per controllare i sintomi caratteristici di queste malattie.

Da questa mia presentazione è chiaro che il meccanismo con cui questi polifenoli agiscono è di tipo antinfiammatorio e oggi l'infiammazione è ritenuta la causa comune di tutta una serie di malattie, che vanno da quelle cardiovascolari, a quelle della pelle e a quelle di tipo neurodegenerativo. Non conosciamo ancora il meccanismo d'azione di questi polifenoli e quindi dal punto di vista della ricerca siamo praticamente all'inizio. Sulla base di risultati raggiunti in Giappone abbiamo iniziato la collaborazione con un gruppo, sempre in Giappone, che studierà l'effetto di questi polifenoli sull'invecchiamento del cervello; quindi si aprono delle prospettive estremamente interessanti dal punto di vista della ricerca, ma soprattutto dal punto di vista produttivo e per la possibilità di commercializzare queste sostanze per applicazioni alimentari e per applicazioni mediche.

Avvicinandomi alla conclusione voglio dirvi che in questo momento stiamo lavorando con ditte in Giappone quali la Mitsubishi, la Kikomann la Santori che stanno sperimentando l'utilizzo di queste formulazioni polifenoliche per tutta una serie di prodotti di cibo funzionale o di integratori dietetici.

Negli Stati Uniti i nostri preparati polifenolici sono già sul mercato che abbiamo prodotti da società come Anitroll e Nidegsway e Estée Lauder che utilizza queste sostanze per prodotti cosmetici. Quindi abbiamo iniziato un nuovo capitolo nell'industria di trasformazione delle olive, dove in pratica il succo delle olive in una formulazione altamente sicura potrà essere utilizzato per tutta una serie di applicazioni interessanti. Questo non significa diminuire l'importanza dell'olio; voglio rifarmi un po' al concetto del prezzo e della qualità: se noi adesso proponiamo un nuovo paradigma per un utilizzo delle olive dove non si produce alcun tipo di scarto ma si utilizzano tutte le componenti, potremo proporre al produttore una formula che gli permetterà di sfruttare i prodotti di scarto eliminando costi non necessari e addirittura creando delle nuove fonti di guadagno che sono appunto l'acqua di vegetazione, le bucce, ecc. Quindi la proposta che voglio lasciarvi è questa: se noi veramente vogliamo essere, come diceva il prof. Scaramuzzi, ricchi di fantasia e creativi dobbiamo avere il coraggio di guardare in un modo totalmente diverso a quello che è stato fatto finora, e fare in modo che processi innovativi supportati da dati scientifici ben stabiliti, aprono la strada a tutta una serie di applicazioni il cui futuro è imprevedibile. Basterebbe pensare che una sola applicazione nel settore alimentare richiederà decine e decine di tonnellate di questi nuovi materiali: la ragione per cui l'industria in generale è molto interessata alle nostre proposte è quella di poter avere una materia prima facilmente accessibile, che può essere prodotta in quantità notevoli e a bassi costi e che è altamente attiva. Unendo tutti questi criteri è possibile affrontare tematiche di ampia applicazione; non a caso società come la Pepsi Cola in questo momento hanno instaurato un dialogo con la nostra società.