

## **ABSTRACT**

Pomace olive oil, alpeorujo, is the single and pollutant by-product generated during the extraction of virgin olive oil, leading to a serious environmental problem. Alpeorujo is rich in phenolic compounds potent natural antioxidants with bioactive activities. Deep Eutectic Solvents (DESs) are emerging solvents due to its versatility and ability to solubilize organic material such as polyphenols. In this work we studied the capacity of DESs to obtain polyphenols from fresh alpeorujo of the Manzanilla cultivar in different extractive conditions. The effect of temperature (25°C, 40°C, 80°C), time (1 h, 24 h) and ratio alpeorujo : solvent (1:1 and 1:2) on the extraction of polyphenol was analyzed comparing two DESs, prepared with Choline Chloride-glycerol (EU-1) and Choline Chloride-Xylitol (EU- 2) with the conventional solvent methanol in aqueous mixtures 80% v/v (C-1), 50% v/v (C-2) and water (C-3). Phenolic extracts were analyzed in HPLC-DAD. We founded that the temperature of 80°C, ratio solvent : alpeorujo (1:1) and 24h of extraction-time were the more effective conditions. When phenols were individually analyzed, we denoted that DESs were able to extract mainly phenols of low polarity and bioactive molecules such as dialdehydic form of elenolic acid linked to hydrotyrosol, dialdehydic form of elenolic acid linked to tyrosol oleocanthal, oleacin, others derivates of ligstroside and oleuropein and oleosides. In this study we have determined the highest efficiency of DESs obtaining polyphenols from alpeorujo when compared to conventional solvents. These results propose DESs as efficient and environment-friendly alternative to conventional methanol extraction of bioactive molecules from olive oil waste.

## RESUMEN

El alpeorujo es el subproducto de la extracción del aceite de oliva virgen, es una sustancia contaminante y supone un serio problema medioambiental. El alpeorujo es rico en polifenoles que son potentes antioxidantes naturales con actividad bioactiva. Los disolventes eutécticos profundos (DESs), son disolventes emergentes debido a su versatilidad y capacidad para solubilizar sustancias orgánicas como los polifenoles. En este trabajo hemos estudiado la capacidad de los DESs para obtener compuestos fenólicos del alpeorujo fresco procedente de aceituna Manzanilla en diferentes condiciones de extracción. Se analizó el efecto de la temperatura (25°C, 40°C, 80°C), del tiempo de extracción, (1 hora, 24 horas) y de la relación alpeorujo : disolvente (1:1, 1:2) sobre la obtención de polifenoles comparando dos DESs preparados con cloruro de colina–glicerol (EU-1) y cloruro de colina–xilitol (EU-2) con los disolventes convencionales metanol, en mezclas acuosas al 80% (v/v) y Al 50% (v/v) y agua. Los extractos fenólicos se analizaron en HPLC-DAD-MS. Se ha determinado que la temperatura de 80°C, relación alpeorujo : disolvente (1:1) y 24 horas de tiempo de extracción, fueron las condiciones más extractivas para todos los disolventes. Cuando los compuestos fenólicos se analizaron de forma individualizada, se observó que los DESs eran capaces de extraer fenoles de baja polaridad de naturaleza bioactiva como son las agluconas de oleuropeína y ligustrósido en sus formas dialdehídicas y oleósidos. En este estudio se ha determinado la mayor capacidad de los DESs para obtener polifenoles del alpeorujo cuando se comparan con disolventes convencionales. Estos resultados proponen a los DESs como una alternativa eficiente y respetuosa con el medio ambiente a la extracción convencional con metanol y con agua de sustancias bioactivas del alpeorujo.