

Resumen

El alpeorujos es el subproducto de la elaboración del aceite de oliva mediante el sistema de separación en dos fases. Se trata de un material semisólido compuesto por una fase acuosa, restos de pulpa y fracciones del hueso de la aceituna. Presenta inconvenientes en su gestión y manejo debido a su gran producción, concentrada en los meses de campaña olivarera, sus propiedades físicas y su elevada toxicidad para el medio ambiente. Esta toxicidad se debe en gran parte a su elevada concentración en compuestos fenólicos, que presentan características fitotóxicas y antimicrobianas. Por otra parte, dichos compuestos son fitoquímicos demandados por la industria farmacéutica, alimentaria, agroquímica y cosmética debido precisamente a su capacidad antioxidante, antimicrobiana y antiinflamatoria que los convierten en sustancias preventivas de muy diversas enfermedades.

Los NADES (Natural Deep Eutectic Solvents) son disolventes formados por componentes de origen natural, que presentan baja toxicidad, son de fácil disponibilidad, bajo coste, cubren un amplio rango de polaridades y son altamente extractivos, lo que los haría atractivos para las industrias anteriormente mencionadas.

En este trabajo se extrajo la fracción fenólica de alpeorujos frescos de tres variedades de aceitunas con dos disolventes NADES distintos con el objetivo de determinar si los extractos fenólicos obtenidos presentaban efecto antimicrobiano y pudieran ser utilizados como biopesticidas y, por otra parte, analizar su citotoxicidad sobre células de organismos superiores para determinar su posible uso en alimentación animal.

Se determinaron y cuantificaron los compuestos fenólicos de cada uno de los extractos. El análisis microbiológico se testó sobre seis cepas de bacterias fitopatógenas de relevante importancia económica para la agricultura de países de la cuenca del Mediterráneo, mediante la determinación de la mínima concentración inhibitoria (MIC). El estudio de citotoxicidad se realizó sobre células de microglía determinándose la toxicidad de los extractos mediante ensayos MTT.

Se estudió también la evolución de los compuestos fenólicos de los extractos NADES mediante una digestión in vitro simulando los procesos digestivos que ocurren en la boca, el estómago y el intestino delgado.

Los extractos necesitaron ser acondicionados para permitir su testaje sobre microorganismos y células.

Como resultado de este trabajo, se obtuvieron extractos NADES con concentraciones en polifenoles de entre 8000 mg/L y 4.500 mg/L que mostraron actividad bacteriostática comparable al que exhiben otros extractos fenólicos de origen natural. Durante el proceso digestivo simulado se produjeron pérdidas de fenoles considerables. Ambos NADES presentaron citotoxicidad a concentraciones elevadas; no obstante, los extractos obtenidos con estos NADES contrarrestaron esta citotoxicidad.

Los resultados obtenidos abren un amplio campo de estudio para determinar y profundizar en las cualidades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias de estos extractos para ser utilizados como biopesticidas o como componentes bioactivos con potencial nutracéutico.

Abstract

Alpeorujo is the by-product of the production of olive oil by means of two-stage separation systems. It is a semi-solid material composed of an aqueous phase, pulp remnants and fractions of the olive pit. It presents disadvantages in its management and handling due to its high production, concentrated in the olive season months, its physical properties and its high toxicity to the environment. This toxicity is largely due to its high concentration in phenolic compounds, which have phytotoxic and antimicrobial characteristics. Moreover, these compounds are phytochemicals demanded by the pharmaceutical, food, agrochemical and cosmetic industries precisely because of their antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory which make them preventive substances for a wide range of diseases.

NADES (Natural Deep Eutectic Solvents) are solvents formed by components of natural origin, presenting low toxicity, are readily available, low cost, cover a wide range of polarities and are highly extractive, which makes them easily usable in the above mentioned industries.

In this work, the phenolic fraction of fresh alpeorujos was extracted from three varieties of olives with two different NADES solvents in order to determine whether the phenolic extracts obtained had an antimicrobial effect and could be used as biopesticides and otherwise, analyze its cytotoxicity on cells of higher organisms to determine its possible use in animal feed.

Phenolic compounds were determined and quantified for each of the extracts. The microbiological analysis was tested on six strains of phytopathogenic bacteria of significant economic importance for agriculture in countries of the Mediterranean area by determining the minimum inhibitory concentration (MIC). The cytotoxicity study was performed on microglia cells and the toxicity of the extracts was determined by MTT tests. The evolution of phenolic compounds of NADES extracts was also studied by means of an *in vitro* digestion simulating the digestive processes that occur in the mouth, stomach and small intestine. The extracts needed to be conditioned to allow testing on microorganisms and cells.

As a result of this work, NADES extracts were obtained with concentrations in polyphenols of between 8000 mg/l and 4500 mg/ml that showed bacteriostatic activity comparable to that exhibited by other phenolic extracts of natural origin. During the simulated digestive process, there were significant phenol losses. Both NADES presented cytotoxicity at high concentrations; however, extracts obtained with these NADES counteracted this cytotoxicity.

The results obtained open a wide field of study to determine and deepen the antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory qualities of these extracts to be used as biopesticides, or as bioactive components with nutraceutical potential.