



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102018075756-3

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102018075756-3

(22) Data do Depósito: 11/12/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 23/06/2020

(51) Classificação Internacional: C07C 29/80; C07D 311/72.

(52) Classificação CPC: C07C 29/80; C07D 311/72.

(54) Título: PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GERANILGERANIOL E TOCOTRIENÓIS A PARTIR DE SEMENTES OU CORANTE DE URUCUM (BIXA ORELLANA L.) UTILIZANDO ETANOL

(73) Titular: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS DO ESTADO DE SÃO PAULO, Pessoa Jurídica. Endereço: AVENIDA BRASIL, 2880, CAMPINAS, SP, BRASIL(BR), 13070-178, Brasileira

(72) Inventor: PAULO ROBERTO NOGUEIRA CARVALHO; MARTA GOMES DA SILVA.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 11/12/2018, observadas as condições legais

Expedida em: 23/01/2024

Assinado digitalmente por:

Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GERANILGERANIOL E TOCOTRIENÓIS A PARTIR DE SEMENTES OU CORANTE DE URUCUM (*BIXA ORELLANA L.*) UTILIZANDO ETANOL.

Campo da Invenção

[0001] A presente invenção descreve um processo de extração de geranilgeraniol e tocotrienóis a partir de sementes ou corantes de Urucum (*Bixa orellana L.*) utilizando etanol que compreende as etapas de preparação do extrato, filtração do extrato, concentração do extrato etanólico e destilação do extrato oleoso. A presente invenção situa-se nos campos da tecnologia de alimentos, farmacognosia, química e farmácia.

Antecedentes da Invenção

[0002] As sementes de urucum (*Bixa orellana L.*) têm grande importância para as indústrias de alimentos pela presença do carotenoide bixina, muito utilizado como corante natural. Contudo, essas mesmas sementes vem adquirindo notoriedade por conter, também em seu arilo, outras substâncias de importância para a saúde humana, como o geranilgeraniol e os tocotrienóis. O urucum tem seu uso reconhecido em diferentes países por ser anti-inflamatório, antimalárico, cardiotônico, digestivo, estomáquico, expectorante, febrífugo, hipotensivo, laxativo, tratamento de queimadura, repelente de inseto e no combate à tosse (BARBOSA FILHO, 2006; VILAR *et al.*, 2014). Diante disso, iniciaram-se estudos buscando a identificação das substâncias responsáveis por essas propriedades farmacológicas. Muitos desses estudos apontam os geranilgeraniol e os tocotrienóis como, parcialmente responsáveis por essas propriedades.

[0003] Atualmente, sabe-se que a concentração de geranilgeraniol é certa de 1% de peso das sementes secas (CARVALHO *et al.*, 2016). Essa substância tem sido destaque na profilaxia e no tratamento de diversos tipos de câncer sendo que seus usos e mecanismos de ação estão sendo descritos com

frequência na literatura. Além do auxílio no combate ao câncer o geranilgeraniol também tem sido destaque na inibição do crescimento do *Staphylococcus aureus* (INOUE et al, 2005), combate ao *Trypanosoma cruzi* (MENNARARRETO, et al., 2008) e inibidor da *Micobacteria tuberculosis* (VIK et al., 2007). O termo geranilgeraniol tem sido utilizado para descrever um álcool diterpeno de cadeia linear e ocorrência natural, cuja fórmula estrutural pode ser descrita como: all trans-3,7,11,15-tetrametilhexadecatetra-2,6,10, 14-em-1-ol. Solúvel em solventes orgânicos como clorofórmio, acetona, e álcool, o geranilgeraniol é conhecido como um intermediário de biossínteses importantes, como a da vitamina K, dos tocoferóis, de diversos hormônios e dos carotenóides.

[0004] Os tocotrienóis, também conhecidos como uma das formas da vitamina E, estão presentes no urucum em uma concentração próxima a 140 mg/100g de semente (FREGA et al, 1998). Aos tocotrienóis tem sido associadas propriedades anti-câncer, antioxidante, redutoras de colesterol e propriedades neuro-protetivas (SEN, et al., 2007). Sendo que, dessas é destaque de estudos a atividade antioxidante que se mostra 50 vezes maior do que nos tocoferóis no combate à oxidação de lipídios induzida por ferro (SERBINOVA et al, 1991), além do potencial de inibição de oxidação de proteínas e peroxidação de lipídios em ratos (KAMAT, DEVASAGAYAM, 1995). Essas substâncias são constituídas por estruturas de natureza isoprênica, com um anel cromanol e uma cadeia lateral com 16 átomos de carbono. Os tocotrienóis são encontrados principalmente na forma de isômeros α , β , γ e δ , em razão da posição do grupo metila no anel cromanol. Os tocotrienóis apresentam-se como um óleo viscoso, inodoro, amarelo claro e são praticamente insolúveis em água, porém solúveis em óleo vegetal e solventes apolares.

[0005] Na busca pelo estado da técnica em literaturas científica e patentária, foram encontrados os seguintes documentos que tratam sobre o tema:

[0006] O documento BR10201502942-2 revela um processo de extração e separação de componentes insaponificáveis de sementes de urucum com

utilização de soluções alcalinas e aquecimento. O uso de soluções alcalinas promove a saponificação dos lipídeos e a extração dos pigmentos. Entretanto, esses pigmentos precisam ser precipitados por acidificação do extrato e separados por centrifugação. Nessa etapa ocorre a produção de três fases: uma fase sólida com os pigmentos, uma fase oleosa com material insaponificável e uma fase líquida contendo um efluente de elevada carga poluente. As sementes esgotadas nesse processo ficam contaminadas com resíduo de solução alcalina utilizada na etapa de extração, dificultando a seu uso posterior na alimentação animal.

[0007] O documento “Gestão do efluente do processo de produção de corante de urucum” de Carvalho, A.L publicado em 2014 descreve um estudo de tratamento de efluente no processo de extração de corante de urucum usando soluções alcalinas (KOH ou NaOH) seguida de precipitação com ácido (H_2SO_4) visando a diminuição do custo de efluentes gerados na produção desses corantes. O presente documento diferencia-se da invenção pelo solvente utilizado na extração a partir da semente de urucum.

[0008] O documento WO2000071531 revela um processo de separação de geranylgeraniol e tocotrienóis a partir de subprodutos da indústria de corantes obtendo-se uma composição de tocotrienóis. A separação do geranylgeraniol e tocotrienol é realizada por destilação a partir de um produto denominado “subproduto” de urucum, que é formado pelo material insaponificável obtido pela extração alcalina dos pigmentos das sementes.

[0009] O documento PI 0416795-3 revela a recuperação de fitonutrientes, entre eles os tocotrienóis a partir de óleos vegetais.

[0010] O documento BR102012008718-9 revela um processo de separação de um produto funcional rico em insaponificáveis, como os tocotrienóis, a partir de óleo de arroz.

[0011] O documento “Isolation of geranylgeraniol from the unsaponifiable fraction of linseed oil” de Fedeli et al. publicado em 1966, revela o isolamento de dois álcoois por coluna de alumina de camada fina e cromatografia gás-

líquido, a partir de uma fração insaponificável de óleo de linhaça. Os álcoois foram identificados como fitol e geranylgeraniol.

[0012] Assim, do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

[0013] Em resumo, os processos tradicionais de extração de geranylgeraniol e tocotrienóis geram um grande volume de efluentes com uma elevada carga de sulfato que é um composto poluente e no Estado da técnica não há processos de extração descritos que impeçam a formação desses efluentes.

BARBOSA FILHO, J. M. *Bixa orellana*: Retrospectiva de uso populares, atividades biológicas, fitoquímica e emprego na fitocosmética, no continente americano. **Anais do Simpósio Brasileiro de Urucum**, João Pessoa, PB, (Mídia eletrônica-CD), 2006.

CARVALHO, P. R. N.; DA SILVA, M. G.; TAVARES, P. E. R.; FABRI, E.G.; MARTINS, A. L. M. Concentração de lípidos, carotenóides totais, geranylgeraniol e tocotrienol em diferentes acessos de urucum (*Bixa orellana* L.) da coleção do Instituto Agrônomo (IAC). *O Urucum*, Campinas, 2016.

VILAR, D. A.; VILAR, M. S. A.; MOURA, T. F. A. L.; RAFFIN, F. N.; OLIVEIRA, M. R.; FRANCO, C. F. O.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; DINIZ, M. F. F. M.; BARBOSA-FILHO, J. M. Traditional Uses, Chemical Constituents and Biological Activities of *Bixa orellana* L.: A Review. *The Scientific World Journal*. v. 24, 2014.

INOUE, Y.; HADA, T.; SHIRAIISHI, A.; HIROSE, K.; HAMASHIMA, H.; KOBAYASHI, S. Biphasic effects of geranylgeraniol, teprenone and phytol on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.

doi:10.1128/AAC.49.5.1770–1774.2005. p. 1770-1774, 2005.

MENNA-BARRETO, LARANJA, G. A. T.; SILVA, M. C. C.; COELHO, M. G. P.; PAES, M. C.; OLIVEIRA, M.M.; CASTRO, S. L. Anti-trypanosoma cruzi activity of pterodon pubescens seed oil: geranylgeraniol as the major bioactive component. Parasitol Res. DOI 10.1007/s00436-008-0937-0.v. 103, p. 111-117, 2008.

KAMAT, J.P.; DEVASAGAYAM T. P. Tocotrienols from palm oil as potent inhibitors of lipid peroxidation and protein oxidation in rat brain mitochondria. Neurosci Lett, v.195, n. 3, p. 179–182, 1995.

SEN, C.; K.; KHANNA, S.; ROY, S. Tocotrienols in health and disease: The other half of the vitamin E family. Molecular Aspects of Medicine. n. 28, p. 692-728, 2007.

FREGA, N.; MOZZON, M.; BOCCI, F. Identification and estimation of tocotrienols in the annatto lipid fraction by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. JAOCS. v. 75, n. 12, p. 1723-1727, 1998.

SERBINOVA, E.; KAGAN, V.; HAN, D.; PACKER, L. Free radical recycling and intramembrane mobility in the antioxidant properties of alphanatocopherol and alpha-tocotrienol. Free Radical Biol. Med. v. 10, n. 5, p. 263–275, 1991.

Sumário da Invenção

[0014] Dessa forma, a presente invenção resolve os problemas do estado da técnica a partir de um processo de extração de geranylgeraniol e tocotrienóis a partir de sementes ou corante de urucum (*Bixa orellana L.*) que compreende quatro etapas principais: preparação do extrato a partir de uma matéria-prima (sementes ou corante de urucum); filtração do extrato; concentração do extrato

etanólico; e destilação do extrato oleoso obtendo-se, por fim, quatro frações (A, B, C, D) de componentes sendo que nas frações B e C são obtidos geranilgeraniol em concentração que varia de 20 a 100% e tocotrienóis em concentração que varia de 30 a 100%. Esse processo é realizado apenas com etanol, ou seja, não necessita do uso de soluções alcalinas para promover a saponificação dos lipídeos e a extração dos pigmentos das sementes de urucum e assim, possibilita a separação do geranilgeraniol e dos tocotrienóis sem gerar efluentes que contenham alta quantidade de cloretos e sulfatos.

[0015] A presente invenção tem como conceitos inventivos os seguintes objetos:

[0016] A presente invenção tem como primeiro objeto o processo de extração de geranilgeraniol e tocotrienóis a partir de sementes ou corante de urucum (*Bixa orellana L.*) utilizando etanol compreendendo as seguintes etapas:

- a) Preparação do extrato (1)
- b) Filtração do extrato (2);
- c) Concentração do extrato etanólico (3); e,d) Destilação do extrato oleoso (4).

[0017] Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e serão descritos detalhadamente a seguir.

Breve Descrição das Figuras

[0018] É apresentada a seguinte figura:

[0019] A figura 1 mostra o fluxograma básico do processo de extração de geranilgeraniol e tocotrienóis a partir de sementes ou corantes de urucum (*Bixa orellana L.*).

Descrição Detalhada da Invenção

[0020] Nesse contexto, será descrito o processo de extração de geranilgeraniol e tocotrienóis de urucum (*Bixa orellana L.*) que compreende quatro etapas principais. São elas: preparação do extrato (1) a partir de uma matéria-prima (sementes ou corante de urucum); filtração do extrato (2); concentração do extrato etanólico (3); e, destilação do extrato oleoso (4). Na etapa de

preparação do extrato destacam-se algumas diferenças quando a matéria-prima inicial (11) é semente de urucum ou corante de urucum. A extração com sementes de urucum ocorre em um sistema contra-corrente em três ciclos e obtém-se três porções de extrato etanoico (1D, 1E e 1F) e pela secagem (5) e moagem (6) das sementes esgotadas (1C) obtém-se como subproduto a farinha de semente de urucum (7). Já a extração no corante ocorre apenas por agitação vigorosa da mistura corante e etanol sem repetição do processo, obtendo o extrato 1G. A etapa de filtração (2) é realizada em centrífuga ou filtro-prensa e, quando o extrato é obtido a partir do corante, obtém-se o extrato etanólico (2C) e uma massa corante (2B). Em seguida é adicionado óleo vegetal (3B) ao extrato etanoico (2C) e a mistura é evaporada (3), recuperando parte do etanol (3C) e gerando um extrato oleoso (3D), este, por sua vez, passará por um processo de destilação (4) no qual são separados o geranilgeraniol (4D) e os tocotrienóis (4E). Esse último processo deve ser realizado em destilador de filme fino e/ou destilador de passo curto capazes de atingir temperaturas entre 100°C e 300°C e pressões entre 0,01mbar e 50mbar. Ao final do processo as frações B e C são constituídas, respectivamente, de geranilgeraniol em concentração que varia de 20 a 100% e de tocotrienóis em concentração que varia de 30 a 100%.

[0021] Em um primeiro objeto, a presente invenção apresenta o processo de extração de geranilgeraniol e tocotrienóis a partir de sementes ou corante de urucum (*Bixa orellana* L.) utilizando etanol compreendendo as seguintes etapas:

- a) Preparação do extrato (1);
- b) Filtração do extrato (2);
- c) Concentração do extrato etanólico (3); e,
- d) Destilação do extrato oleoso (4).

[0022] Em uma concretização, a etapa (a) compreende as seguintes etapas:

- i) Adição das sementes inteiras ou corante de urucum (11) ao sistema de extração com tacho de agitação vigorosa;

ii) Adicionar massa de etanol (1B);

iii) Obtenção do extrato de Urucum

[0023] Em uma concretização, a etapa (ii) compreende a massa de etanol adicionada (1B) ser em uma proporção de 2:1 (etanol:semente) ou 2:1 a 4:1(etanol:corante).

[0024] Em uma concretização, a etapa (iii) compreende a agitação das sementes ou do corante com etanol por um tempo de 5 a 30 minutos.

[0025] Em uma concretização, a etapa (iii) com sementes de Urucum ocorre em um sistema contra-corrente de pelo menos três ciclos compreendendo a transferência dos extratos da primeira (1E) e segunda (1F) extrações para um tanque pulmão, as sementes serem mantidas no tacho, a massa de etanol ser adicionada na proporção inicial e repetição da agitação por 5 a 30 min.

[0026] Em uma concretização, o final da etapa (iii) compreende a obtenção de duas a três porções de extrato etanólico e um subproduto das sementes esgotadas (1C).

[0027] Em uma concretização, o dito subproduto da etapa (iii) é farinha de sementes de urucum (7) obtida a partir da secagem (5) e moagem (6) das sementes esgotadas (1C).

[0028] Em uma concretização, a etapa (b) compreende a separação dos extratos obtidos na etapa (iii), em centrífuga ou filtro-prensa, separando-se os extratos etanólicos (2C) da massa corante (2B).

[0029] Em uma concretização, a massa corante (2B) separada é seca (8) em secadores de bandejas a uma temperatura máxima de 70°C e moída (9) em moinho de martelo, obtendo-se um pó (10).

[0030] Em uma concretização, a etapa (c) compreende a adição de uma massa de óleo vegetal (3B) de 5 a 50% do volume do extrato etanoico, ao sistema de evaporação (3) e, em seguida, a evaporação do etanol, obtendo-se um extrato oleoso (3D) e etanol reutilizável (3C).

[0031] Em uma concretização, a etapa (d) compreende a separação do geranilgeraniol (4D) e dos tocotrienóis (4E) do extrato oleoso por destilação (4)

a alta temperatura e alto vácuo em destilador de filme fino e/ou destilador de passo curto a temperatura entre 100°C e 300°C e pressão entre 0,01 mbar e 50 mbar.

[0032] Em uma concretização, no final da etapa (d) serem obtidas quatro frações A (4C), B (4D), C (4E), D (4B) de componentes que compreendem, respectivamente:

- terpenos de baixa massa molecular, álcoois graxos e substâncias com maior pressão de vapor;
- geranilgeraniol em concentração que varia de 20 a 100%;
- tocotrienóis em concentração que varia de 30 a 100%.
- mistura de substâncias de menor pressão de vapor como ceras e triglicerídeos.

[0033] A presente invenção é vantajosa por não necessitar do uso de soluções alcalinas para promover a saponificação dos lipídeos e a extração dos pigmentos das sementes de urucum sendo capaz de separar os geranilgeranióis e os tocotrienóis sem gerar efluentes que contenham alta quantidade de cloretos e sulfatos danosos ao ambiente e ainda permite que todos os extratos e substratos sejam reaproveitados. Além disso, é um processo que facilita a secagem e a utilização de sementes esgotadas.

Exemplo

[0034] Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo sem limitar, o escopo da mesma.

Exemplo – Processo de extração de geranilgeraniol e tocotrienóis

[0035] As matérias-primas (11) utilizadas nesse processo são corantes extraídos das sementes de urucum, obtidos sem a saponificação dos lipídios ou sementes de urucum com impurezas inferiores a 1% e umidade inferior a 12%.

[0036] O sistema de extração deve ser constituído de um tacho que permita a agitação vigorosa da mistura semente e etanol ou corante e etanol.

Etapa de extração a partir de sementes de urucum (1)

[0037] O processo de extração a partir de sementes de urucum (1) é realizado em um sistema contra-corrente, de no mínimo três etapas. O processo inicia-se com a adição das sementes inteiras no tacho do sistema de extração. Em seguida, adiciona-se etanol (1B) na proporção de 2:1 (etanol:sementes). Posteriormente, inicia-se a agitação que deve ser realizada por tempo suficiente para a remoção do geranilgeraniol e do tocotrienol das sementes, esse tempo pode variar de 5 a 30 minutos. Após esse período o primeiro extrato (1E) é transferido para um tanque pulmão e as sementes permanecem no sistema de extração. Acrescenta-se etanol, na mesma proporção inicial, ao sistema e a agita-se pelo mesmo período. Encaminha-se o segundo extrato (1F) para o tanque pulmão e as sementes são mantidas no sistema. Repete-se o processo pela terceira vez gerando um terceiro extrato (1D) e as sementes esgotadas (1C).

[0038] O terceiro extrato (1D) é utilizado na primeira extração do processo seguinte e as sementes esgotadas (1C) são secas (5) em secadores de bandejas e moídas (6) em moinho de martelo, gerando uma farinha de sementes de urucum (7).

Etapa de extração a partir do corante de urucum (1)

[0039] Quando a matéria-prima é corante de urucum este é adicionado ao sistema de extração (1) seguido do etanol (1B) em uma proporção 4:1 (etanol:corante). Agita-se a mistura por tempo suficiente para a remoção do geranilgeraniol e do tocotrienol do corante, variando de 5 a 30 minutos. Após esse período a mistura corante e etanol (1G) é transferida para o sistema de filtração (2).

Etapa de filtração dos extratos (2)

[0040] Nessa etapa, os extratos da primeira (1E) e da segunda (1F) extração das sementes ou da mistura do corante/etanol (1G) são separados da massa corante, por meio de centrífuga ou filtra-prensa, gerando o extrato etanólico (2C) e a massa corante (2B). A massa corante separada é seca em secadores

de bandejas (8) a uma temperatura máxima de 70°C e moída em moinho de martelo (9) e o pó obtido (10) pode ser utilizado em alimentos, cosméticos e medicamentos.

Etapa de evaporação dos extratos etanoicos (3)

[0041] Na etapa de evaporação dos extratos etanoicos, encaminha-se o extrato etanoico (2C) separado pela centrífuga ou filtro-prensa para um sistema de evaporação (3). A esse sistema, adiciona-se uma massa de óleo vegetal (3B), correspondente a 5 até 50% do volume do extrato (2C). Evapora-se o etanol e recupera-o em um sistema de condensação. O etanol recuperado (3C) é reutilizado no processo de separação do geranilgeraniol e dos tocotrienóis.

Etapa de destilação do extrato oleoso (4)

[0042] Na etapa de destilação, encaminha-se o extrato oleoso (3D) separado no processo de evaporação (3) para um sistema de destilação a alta temperatura e alto vácuo como um destilador de filme fino ou destilador de passo curto. Esses sistemas, a uma temperatura entre 100 °C e 300 °C e pressões entre 50 mbar e 0,01 mbar separam quatro frações de componentes.

[0043] A Fração A (4C) é constituída de terpenos de baixa massa molecular, álcoois graxos e outras substâncias com maior pressão de vapor. A Fração B (4D) é constituída pelo geranilgeraniol em concentração que varia de 20 a 100%. A Fração C (4E) é constituída por tocotrienóis em concentração que varia de 30 a 100%. A Fração D (4B), que não é evaporada, é constituída por uma mistura de substâncias de menor pressão de vapor como ceras e triglicerídeos. Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes e alternativas, abrangidas pelo escopo das reivindicações a seguir.

Reivindicações

1. Processo de extração de geranilgeraniol e tocotrienóis a partir de sementes ou corante de urucum (*Bixa orellana L.*) utilizando etanol **caracterizado por** compreender as seguintes etapas:

a) preparação de um extrato alcoólico (1), em que é adicionada uma massa de álcool em uma proporção de 2:1 a 4:1 (álcool:urucum) em massa, sob agitação;

b) filtração do extrato alcoólico (2) em centrifuga ou filtro-prensa;

c) adição de uma massa de óleo vegetal de 5% a 50% do volume do extrato alcoólico, concentrando o extrato etanólico (3) por evaporação;

d) destilação do extrato oleoso (4) em alta temperatura e alto vácuo em destilador de filme fino e/ou destilador de passo curto a temperatura entre 100 °C e 300 °C e pressão entre 0,01 mbar e 50 mbar, obtendo as frações compreendendo geranilgeraniol e tocotrienóis.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** etapa de preparação de um extrato (1) compreender uma agitação do urucum com álcool por 5 minutos a 30 minutos.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado por** compreender uma etapa de separação do extrato alcoólico de resíduos sólidos.

FIGURAS

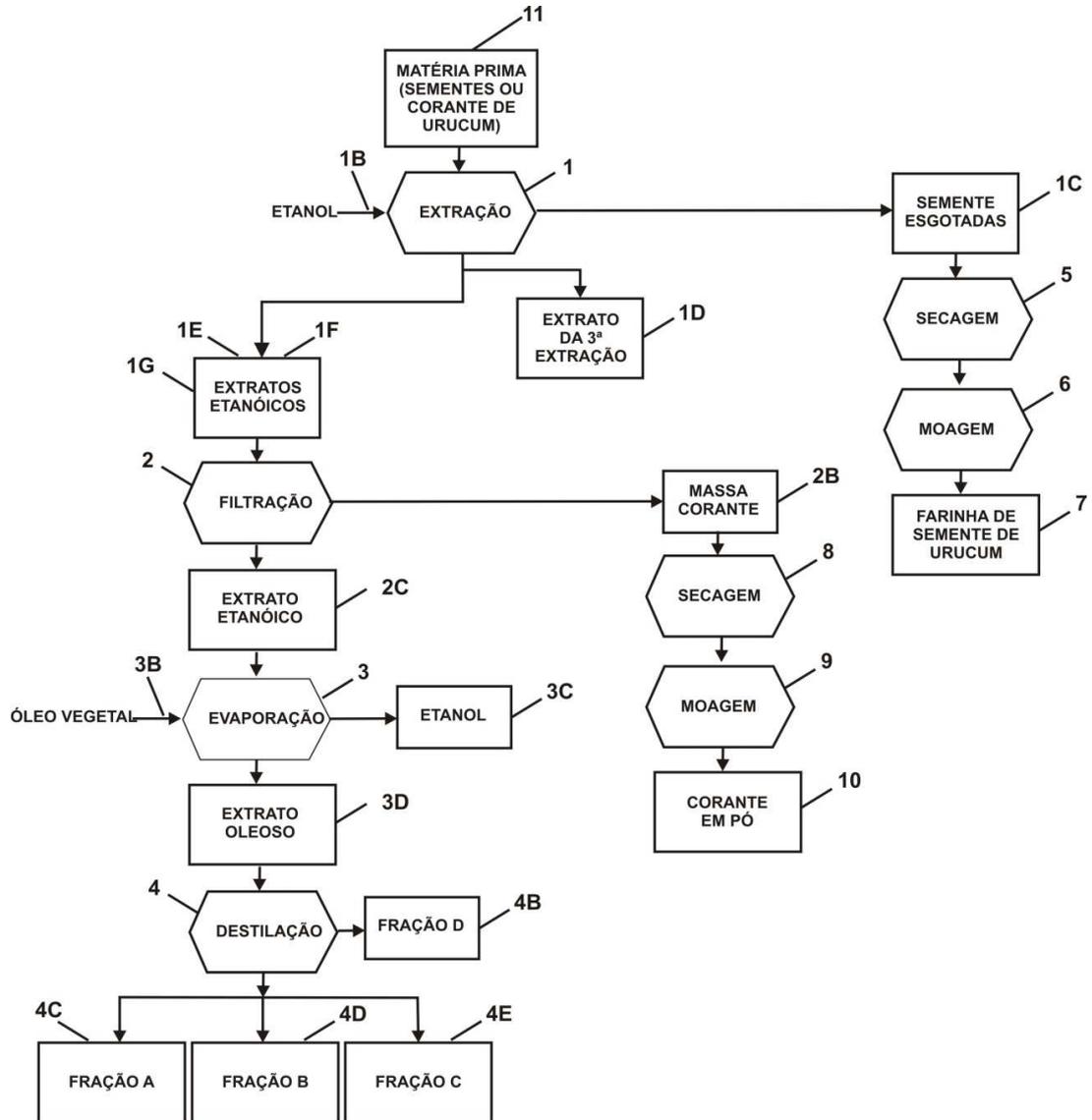


Figura 1