República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria, Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

* B R 1 0 2 0 2 4 0 0 3 6 6 9 A 2 *

(21) BR 102024003669-7 A2

(22) Data do Depósito: 23/02/2024

(43) Data da Publicação Nacional: 09/09/2025

(54) Título: PROCESSO SUSTENTÁVEL DE OBTENÇÃO DE EXTRATO VEGETAL A PARTIR DO BAGAÇO DA OLIVA, COMPOSIÇÃO DE UM NANOCARREADOR VESICULAR VEGANO DE ORIGEM NATURAL CONTENDO ESTE EXTRATO E O USO COSMÉTICO, ALIMENTÍCIO E AGROPECUÁRIO DESTE EXTRATO E DESTA COMPOSIÇÃO

(51) Int. Cl.: A61K 8/9789; A61K 8/36; A61K 8/63; A61K 8/34; A61Q 19/00; (...).

(52) CPC: A61K 8/9789; A61K 8/36; A61K 8/63; A61K 8/347; A61Q 19/00; (...).

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL; NUN TECNOLOGIA SUSTENTAVEL LTDA.

(72) Inventor(es): IRENE CLEMES KULKAMP GUERREIRO; LIGIA DAMASCENO FERREIRA MARCZAK; SIMONE JACOBUS BERLITZ; ROBERTA COUGO RIÉFFEL.

(57) Resumo: PROCESSO SUSTENTÁVEL DE OBTENÇÃO DE EXTRATO VEGETAL A PARTIR DO BAGAÇO DA OLIVA, COMPOSIÇÃO DE UM NANOCARREADOR VESICULAR VEGANO DE ORIGEM NATURAL CONTENDO ESTE EXTRATO E O USO COSMÉTICO, ALIMENTÍCIO E AGROPECUÁRIO DESTE EXTRATO E DESTA COMPOSIÇÃO. A presente invenção refere-se ao processo produtivo sustentável para a extração dos compostos fenólicos bioativos do bagaço da produção do azeite de oliva. Refere-se também à composição de um nanocarreador vesicular de origem natural contendo o extrato obtido pelo processo citado anteriormente e componentes de origem natural e os usos cosmético, alimentício e agropecuário do extrato vegetal sustentável do bagaço da oliva e do nanocarreador natural. A invenção aqui descrita tem por objetivo o desenvolvimento de processos e produtos envolvendo a obtenção de ingredientes naturais de fontes renováveis, contendo bioativos da oliva, em especial os compostos fenólicos, com atividades biológicas expressivas, alcançando bioativos estáveis e seguros para utilização em produtos cosméticos, alimentícios e agroindustriais. O processo produtivo desenvolvido é sustentável, sem o uso de solventes tóxicos, reduzindo, desta forma, os impactos ambientais negativos.

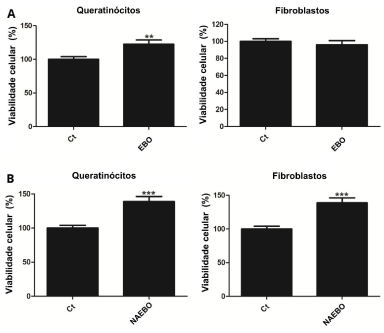


Figura 7

Relatório Descritivo de Patente de Invenção

PROCESSO SUSTENTÁVEL DE OBTENÇÃO DE EXTRATO VEGETAL A PARTIR DO BAGAÇO DA OLIVA, COMPOSIÇÃO DE UM NANOCARREADOR VESICULAR VEGANO DE ORIGEM NATURAL CONTENDO ESTE EXTRATO E O USO COSMÉTICO, ALIMENTÍCIO E AGROPECUÁRIO DESTE EXTRATO E DESTA COMPOSIÇÃO

Campo da invenção

[0001] A presente invenção refere-se ao processo sustentável de obtenção de extrato vegetal proveniente do bagaço residual da produção do azeite de oliva. A invenção também contempla a composição de um nanocarreador vesicular de origem natural contendo o referido extrato. As composições obtidas a partir dos processos aqui descritos podem ser aplicadas no campo da ciência cosmética, alimentícia e agropecuária.

Fundamentos da invenção

[0002] A olivicultura tem apresentado crescimento anual no Brasil, impulsionando a demanda por azeite de oliva e resultando no aumento das indústrias de processamento de olivas. Esse cenário tem levado a um significativo incremento na geração de resíduos desse processo. O bagaço da oliva é o principal resíduo gerado pelas indústrias de azeite de oliva no Brasil, e representa cerca de 85 a 90% da produção, podendo ser um problema ambiental quando descartado de forma incorreta no meio ambiente. Porém, este resíduo apresenta grande potencial para criação de novos produtos, devido a riqueza da composição de sua matriz química, com destaque para os compostos fenólicos, os quais possuem inúmeras propriedades biológicas benéficas, tornando-se de interesse e potencial aplicabilidade para o setor produtivo.

[0003] O bagaço utilizado na presente invenção é gerado no processo de produção de azeite, e se assemelha com uma lama, espessa, castanha

esverdeada, contendo cerca de 80% de tegumento de oliva junto à casca, em torno de 30-35% de polpa, cerca de 30-35% de caroço e água residual. O bagaço da oliva apresenta diferentes teores de umidade e no sistema de duas fases atinge cerca de 70 a 85%.

[0004] Segundo Servili e colaboradores (2015), o potencial de reaproveitamento do bagaço do azeite de oliva está fortemente relacionado à sua composição fenólica, pois cerca de 97 a 98% dos compostos fenólicos da oliva permanecem neste resíduo, tornando-se uma oportunidade de valorização desta biomassa.

[0005] Desta forma, há uma necessidade de desenvolvimento de tecnologias inovadoras e ecologicamente amigáveis capazes de viabilizar a extração dos compostos fenólicos do bagaço da oliva, e que também apresentem baixo custo, tempo reduzido do processo e sem a utilização de solventes tóxicos. Considera-se como solventes tóxicos as substâncias químicas que têm a capacidade de causar danos à saúde humana quando inalados, ingeridos ou absorvidos pela pele em quantidades significativas. Essas substâncias são frequentemente usadas em processos industriais e estão presente em alguns produtos, mas podem representar riscos à saúde, tanto do ponto de vista ocupacional, quanto pelo uso dos produtos que os contém. Alguns exemplos de solventes tóxicos comumente utilizados na preparação tanto de extratos vegetais quanto de nanocarreadores são: metanol, etanol, acetona, hexano, dimetil sulfóxido, entre outros.

[0006] Gómez-Cruz e colaboradores (2020) desenvolveram extratos do bagaço da oliva esgotado, onde o bagaço passa por uma secagem e uma extração de óleo residual e por fim resta uma biomassa lignocelulósica. A água foi utilizada como solvente para recuperação de compostos antioxidantes. O extrato desenvolvido por estes autores é diferente da invenção aqui proposta, pois estes autores aplicaram processo de extração do óleo residual, utilizando hexano como solvente, e pelo processo de extração dos compostos fenólicos, que foi realizado em incubadora orbital utilizando temperatura de 85 °C e com período de 90 minutos para o processo extrativo.

[0007] A invenção contemplada no documento CN110123879A se refere a um extrato de bagaço de azeitona, obtido por meio de extração com etanol, separação por precipitação com água, purificação por resina macroporosa e outras operações. Ou seja, possui etapas mais complexas e processos mais prolongados dos que apresentados na invenção apresentada no presente documento.

[0008] No documento CN110123878A, o preparo do extrato do bagaço de oliva consiste em uma primeira extração com uma solução contendo água e etanol, em seguida, adição de água e filtração em centrífuga para obtenção de um precipitado do extrato do bagaço de oliva. Este precipitado é redissolvido com uma solução etanólica à qual é adicionada uma pequena quantidade de resina de adsorção macroporosa, volatilizada para secar o solvente empregado, adicionada uma solução de desorção, realização do processo de dessorção, combinação das soluções desorvidas, concentração a vácuo e secagem por spraydrier, levando assim à obtenção de um extrato em pó do bagaço de azeitona. Ou seja, neste processo várias etapas são necessárias, aumentando a complexidade de produção, com emprego de vários equipamentos, além do uso de etanol.

[0009] Sanchez-Arévalo e colaboradores (2023) propuseram um processo integrado para a recuperação dos compostos fenólicos do bagaço úmido de oliva. Este processo consiste na extração sólido:líquido assistida por ultrassom, realizada por um período de 45 minutos a 40 °C, utilizando água como solvente. Em seguida foram empregadas técnicas de ultrafiltração e nanofiltração. Considerando a associação dos processos extrativos empregados, diferencia-se do processo extrativo da invenção aqui proposta.

[0010] Emin Argun e colaboradores (2023) extraíram os compostos fenólicos do bagaço da oliva através de um processo de extração por dióxido de carbono supercrítico. Os procedimentos de extração foram aplicados no bagaço liofilizado, no bagaço termicamente seco e no bagaço da oliva misturado à perlita, um adsorvente capaz de absorver o teor de água e aumentar a interação

do CO_2 com o bagaço. Desta forma, os diferentes extratos obtidos mostram clara diferença nas condições de extração do bagaço da oliva apresentados pela invenção aqui reivindicada.

[0011] Nos documentos CN111357772A e CN111357772B, além do uso de diversas etapas, o preparo do extrato de bagaço da oliva é realizado com a utilização de solventes orgânicos como metanol, acetato de etila ou etanol.

[0012] O documento EP3854226A1 traz o desenvolvimento de um extrato seco. O bagaço de azeitona é centrifugado para obter uma fração líquida e uma fração sólida. A fração sólida é liofilizada com um agente crioprotetor e moída, resultando em um pó. A fração sólida é seca, moída e peneirada para obter um pó rico em polpa e/ou pelo menos um pó rico em caroço do bagaço de azeitona. O único uso explorado para cosméticos é de agente esfoliante e não realiza nenhum estudo para outras atividades ou de efetividade desta ação esfoliante.

[0013] Maraulo e colaboradores (2021) buscaram otimizar um método de extração verde para o bagaço da oliva, combinando ultrassom, agitação e soluções aquosas contendo β-ciclodextrina, água ou etanol para recuperar os compostos bioativos deste subproduto. O uso do ultrassom e os solventes empregados diferenciam estas condições extrativas dos processos da invenção aqui descrita.

[0014] Katsinas e colaboradores (2021) desenvolveram um processo para maximizar a recuperação de compostos fenólicos do bagaço da oliva em extratos secos, utilizando n-hexano para desengordurar o bagaço e na sequência uma técnica de extração por dióxido de carbonosupercrítico. O processo extrativo da invenção aqui reivindicada não utiliza a etapa de desengorduramento devido ao emprego do solvente hexano, assim como o equipamento empregado para as técnicas extrativas é diferente.

[0015] No documento de patente ES2935844A1, o extrato é obtido utilizando um "solvente eutético natural à base de ácido" (NADES, na sigla em inglês). Esse tipo de solvente é uma mistura de compostos orgânicos derivados de fontes naturais, como ácidos orgânicos e açúcares, que formam um líquido com

propriedades solventes. A principal diferença entre o processo de extração utilizando NADES e a extração sólido-líquida requerida neste documento está no solvente utilizado e no processo de extração. O processo de extração da presente invenção é mais simples considerando que a extração por NADES exige um tempo de extração de até 6 horas e uma etapa de centrifugação entre 1.000 rpm e 10.000 rpm.

[0016] A patente PI0614917-0 diz respeito a um processo para obter um concentrado natural e bioativo a partir de resíduos de oliveiras e subprodutos, utilizando tecnologias limpas. As tecnologias incluem extração com fluidos supercríticos, nanofiltração e osmose inversa. O processo resulta em um extrato de oliva rico em hidroxitirosol, um composto com propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e anticarcinogênicas. A etapa de extração por fluido supercrítico é realizada num intervalo de temperaturas entre 30ºC e 200ºC, preferivelmente entre 30ºC e 80ºC, e com pressões que oscilam desde 6 MPa até 40 MPa. O extrato obtido pela presente invenção não utiliza fluido supercrítico, nanofiltração ou osmose reversa. A extração sólido-líquida relatada no presente pedido apresenta algumas vantagens em relação à extração por fluido supercrítico. Em termos de etapas de processo, esse método requer etapas reduzidas e equipamentos menos complexos, o que resulta em um processo mais simples. Além disso, o tempo de processo é geralmente menor, já que a agitação e o tempo de contato são mais eficientes na extração dos compostos desejados. Do ponto de vista energético, a extração sólido-líquida com solventes naturais tem um custo energético mais baixo, uma vez que não é necessário atingir condições supercríticas nem reciclar o fluido. Em resumo, a extração sólido-líquida com solventes naturais requerida no presente processo oferece uma alternativa mais simples e eficiente em termos de tempo e energia, com alta taxa de recuperação dos compostos ativos.

[0017] Cádiz-Gurrea e colaboradores (2021) analisaram extratos obtidos da folha da oliveira para aplicação cosmética. Para isso, avaliaram seu potencial através da análise de sua composição e de sua bioatividade por ensaios *in vitro.*

Foram detectados 49 compostos. Os extratos da folha da oliveira demonstraram atividade antioxidante, com resultados proporcionais ao teor de compostos fenólicos encontrados. Também apresentaram ação sobre a inibição das enzimas hialuronidase e elastase, sugerindo o potencial dos extratos dos derivados da oliva para uso tópico. Apesar de compostos em comum com o extrato da invenção apresentada, os extratos das folhas da oliveira descritos por Cádiz-Gurrea e colaboradores foram obtidos de forma diferente, um deles por uma primeira extração com etanol seguida por etapas de filtração e concentração. Em seguida, foi feita uma segunda extração de água, seguida das etapas de filtração, tratamento térmico, secagem a vácuo, moagem e padronização. O outro extrato foi obtido através de dois processos de extração em paralelo com diferentes metodologias de filtração e secagem. Os extratos finais foram fornecidos como resíduo seco, diferenciando-se assim da invenção aqui apresentada, além da matéria-prima utilizada, que neste caso foram as folhas da oliveira e não o bagaço da oliva.

[0018] Cecchi e colaboradores (2018), desenvolveram um extrato hidroalcóolico diluído do subproduto da oliva, utilizando agitação magnética por 2 horas, que foi em seguida desengordurado com *n*-hexano. Este extrato mostrou efeitos antienvelhecimento *in vitro e* sugere que este subproduto pode ser uma fonte adicional econômica e ecológica de compostos fenólicos bioativos da oliva. O processo de recuperação dos compostos fenólicos apresenta um período extrativo mais prolongado e como solvente utiliza uma solução com etanol, diferentemente das técnicas e solventes empregados no processo para obtenção do extrato da invenção apresentada no presente documento.

[0019] O documento JP2022133706A contempla um processo de extração que utiliza pressão reduzida e temperaturas baixas para obter extratos de substâncias a partir de uma matriz sólida ou líquida. Nesse método, a extração ocorre sob vácuo, o que diminui a pressão atmosférica e reduz o ponto de ebulição dos solventes, permitindo que ocorra a extração. Entretanto, esse método geralmente requer equipamentos especializados para criar e manter o

vácuo, controlar a temperatura e realizar a extração. Esses equipamentos podem ser mais complexos e requerem investimento adicional.

[0020] A patente US10479958B2 descreve um método extrativo que difere da presente invenção por utilizar como substrato um bagaço de oliva desengordurado, e realizar etapas sucessivas de extração aquosa, resultando em um tempo maior de processamento.

[0021] O documento EP2526785 descreve o processo de obtenção de um fitoextrato a partir de águas vegetais e/ou dos bagaços provenientes da moagem da azeitona. Este processo está baseado na combinação de métodos de pré-tratamento físico-químico e tratamento enzimático, filtração tangencial por membrana e evaporação a vácuo. A presente invenção diferencia-se deste documento por não utilizar as águas de vegetação para obter o extrato, nem utilizar métodos de tratamentos enzimáticos, filtração tangencial por membrana e não incluir etapa de evaporação a vácuo no processo de obtenção do extrato vegetal.

[0022] O documento WO2019/058320 refere-se a um fitocomplexo ou concentrado natural, rico em compostos polifenólicos, como hidroxitirosol e oleuropeína-aglicona di-aldeído (3,4-DHPA-EDA), derivado das águas vegetais e/ou de bagaço de azeitona derivados do processamento da azeitona, para utilização na proteção e/ou regeneração de tecidos epiteliais corporais ou ainda na formulação de uma composição compreendendo o referido concentrado, para uso oral, como bebida, pílulas ou similares. O documento BR112016009606 refere-se ao mesmo fitocomplexo, porém para utilização no tratamento e prevenção da angiogênese e inflamação na forma de uma bebida. O documento BR112020022644 se refere ao mesmo fitocomplexo, porém apresenta o uso no tratamento e/ou prevenção do carcinoma da próstata. O documento BR112020019729 refere-se também ao fitocomplexo, para utilização em reduzir ou atenuar os sintomas ou efeitos colaterais associados ou causados por diabetes e/ou as condições patológicas associadas a ela. O referido concentrado é obtido por um processo que compreende as etapas de microfiltração e

concentração por osmose reversa. A presente invenção difere-se deste documento pelo fato de não utilizar os métodos de microfiltração e concentração por osmose reversa no processo produtivo do extrato vegetal.

[0023] O documento WO02/64537 refere-se a um método de obtenção de hidroxitirosol purificado a partir de produtos e de subprodutos derivados da oliveira por meio de um tratamento cromatográfico em duas etapas, que consistem em um método cromatográfico de resina de troca iônica não ativada, seguido de um segundo tratamento em uma resina não iônica absorvente do tipo XAD que concentra e purifica o hidroxitirosol por meio de eluição com metanol ou dissolução com etanol:água (de 30 a 33%). O método também pode ser aplicado a bagaços derivados do sistema bifásicos e trifásicos de processamento da oliva e ainda os caroços da oliva, desde que estes forem submetidos a um processo de explosão a vapor. O processo acima descrito difere-se do processo de obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva descrito na presente invenção por utilizar um método cromatográfico em duas etapas, acompanhado em determinada etapa dos solventes metanol ou etanol e por obter hidroxitirosol isolado ao final do processo. Por outro lado, o objetivo da presente invenção não é o isolamento de substância e sim obter um extrato com diversas substancias q atuam em sinergia.

[0024] O documento WO2004/009206 refere-se a um processo hidrotérmico que utiliza um reator onde é colocado o material vegetal residual bruto em contato com água quente. Este processo compreende as seguintes etapas: a) colocar o material a ser tratado em contato com a água em um reator e ajustar a relação sólido/líquido entre 1/5 e 1/15 (p/v); b) agitar esta mistura; c) aquecer a mesma a uma temperatura entre 180 e 240 °C e a uma pressão a qual a água permaneça na fase líquida; d) agitar a mistura por um período entre 4 e 30 minutos; e) resfriar o reator até aproximadamente 40 °C, descarregar a mistura e recuperar a fração líquida através de filtração. O processo descrito difere-se do processo de obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva descrito na presente invenção por utilizar um reator do tipo autoclave e altas temperaturas

sob o material vegetal em seu estado bruto. O processo da presente invenção utiliza temperaturas moderadas, não utiliza reator do tipo autoclave e, também, o processo contempla um tratamento do bagaço da oliva anterior a extração.

[0025] O documento WO01/45514 fornece métodos para extrair compostos antioxidantes de materiais à base de azeitona, incluindo azeitonas, polpas de azeitona, azeite e águas residuais da fabricação de azeite. Um dos métodos inclui as etapas de extração das azeitonas, polpa de azeitona ou azeite com um solvente aquoso polar (o solvente aquoso polar é uma mistura de água e metanol, etanol, acetonitrila ou acetona e compreende ainda um ácido solúvel em água numa quantidade tal que o solvente aquoso polar tem um pH ácido), para formar uma fase aquosa contendo componentes antioxidantes. Esta fase aquosa passa através de uma matriz sólida para reter os componentes antioxidantes na matriz, a seguir, a matriz é lavada com um solvente orgânico polar (solvente orgânico polar compreende álcoois, acetona, acetato de etila, acetonitrila, dioxano, misturas aquosas dos mesmos e misturas dos mesmos) para produzir uma solução da composição antioxidante no solvente orgânico polar. O documento inclui ainda a etapa de evaporar parte do solvente orgânico polar para formar um líquido concentrado da composição antioxidante. Outro método consiste nas etapas de passar as águas residuais da produção de azeite contendo os componentes antioxidantes através de uma matriz sólida para reter os componentes antioxidantes na matriz e lavar a matriz com um solvente orgânico polar para produzir uma solução da composição antioxidante no solvente orgânico polar. O processo descrito utiliza métodos para extração de compostos antioxidantes da oliva e seus derivados baseados no uso de solventes, em sua maioria orgânicos, diferentemente do processo extrativo descrito na presente invenção que utiliza solventes verdes e não tóxicos.

[0026] O documento WO2009/132807 refere-se a composições específicas compreendendo certas combinações de polifenóis da azeitona, tais como, por exemplo, oleuropeína e/ou ligstrosídeo em combinação com hidroxitirosol e/ou tirosol, caracterizada por apresentar proporção de polifenóis não hidrolisados

(oleuropeína e/ou ligstrosídeo) e polifenóis hidrolisados (hidroxitirosol e/ou tirosol) dentro de certos limites que proporcionam certos benefícios à saúde. Os polifenóis podem ser extraídos das folhas da oliveira ou das águas residuais do processamento da oliva. O produto é considerado do tipo farmacêutico ou uma composição nutricional para o tratamento ou prevenção de condições inflamatórias, de osteopenia e osteoporose, incluindo perda óssea induzida ou exacerbada por deficiência de estrogênio, estresse oxidativo. Tal documento revela um processo para obtenção de um produto com proporções específicas de seus componentes fenólicos da azeitona, diferenciando-se do processo extrativo descrito na presente invenção que obtém um extrato vegetal caracterizado por uma composição diversa, constituído por polifenóis da oliva e que usa como matéria-prima o bagaço do processamento da oliva, enquanto o documento apresentado acima utiliza as águas residuais e as folhas da oliveira, além de apresentar diferenças nos usos dos produtos obtidos.

[0027] O documento WO2023/285969 divulga um processo para a purificação de extratos contendo hidroxitirosol (menos de 5%) derivados da indústria olivícola e sem o uso de solventes orgânicos para obter produtos com hidroxitirosol concentrado, compreendendo as seguintes etapas: a) ajustar o pH do extrato para um valor de pH menor do que 7 usando um regulador de pH (b) carregar o extrato inicial de hidroxitirosol em uma resina de troca aniônica de base fraca de poliestireno, estireno, divinilbenzeno, polidivinilbenzeno, poliestireno-DVB ou matriz estireno-DVB; c) eluir a resina usando água quente a uma temperatura entre 50-100ºC para obter um extrato com hidroxitirosol purificado. O extrato purificado obtido é concentrado em hidroxitirosol, removendo a água e é seco para obtenção de um produto em pó. O processo descrito no documento acima citado possui o objetivo de concentrar um extrato inicial, obtendo um extrato concentrado em hidroxitirosol em pó como produto final, diferenciando-se do processo apresentado na presente invenção que visa a obtenção de um extrato vegetal oriundo do bagaço da oliva composto por variados compostos fenólicos e com apresentação da forma final líquida,

dispensando a fase de secagem do processo e não empregando a etapa de acidificação.

[0028] O documento ES2634333 refere-se a um processo de tratamento de resíduos de lagares e obtenção de subprodutos de interesse industrial, compreendendo uma etapa de mistura de resíduos sólidos e líquidos que contribui para a melhoria do processo extrativo, uma etapa de extração e uma etapa de separação de sólido-líquido que consistem em centrifugação, nanofiltração e filtragem a vácuo. O processo apresenta também uma etapa de hidrólise. O processo descrito difere-se do processo extrativo para obtenção do extrato vegetal da presente invenção pela presença das etapas de centrifugação, nanofiltração e hidrólise no processo produtivo.

[0029] O documento WO2013/007850 refere-se a um método para obtenção de um extrato compreendendo hidroxitirosol, como produto acetilado ou em mistura com 3,4 dihidroxifenilglicol e sua purificação, compreendendo pelo menos uma cromatografia em coluna de uma fonte de hidroxitirosol como subprodutos da azeitona e da oliveira, utilizando uma mistura de pelo menos duas resinas iônicas, preferencialmente uma resina aniônica com uma resina catiônica. Em uma primeira fase obtém-se um líquido rico em fenóis como matéria-prima, em uma segunda fase permite um extrato enriquecido em hidroxitirosol e um hidroxitirosol com 3-4-dihidroxifenilglicol, e é produzido acetato de hidroxitirosol, e, na terceira fase, são obtidos hidroxitirosol altamente puro, DHFG, a sua mistura e acetato de hidroxitirosol. O processo consiste em extração, reação, concentração, adsorção e dessorção, utilizando misturas de resinas de troca iônica, adsorção em resinas não iônicas e fração polimérica fenólica, membranas de osmose reversa e evaporadores. O processo descrito diferencia-se do processo apresentado na presente invenção para obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva principalmente pela utilização de métodos que compreendem o uso de coluna de cromatografia, resinas iônicas, membranas de osmose reversa e evaporadores. Desta forma, o processo apresentado na presente invenção para obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva é mais simples.

[0030] O documento WO2012/175771 refere-se a um extrato fenólico obtido a partir de subprodutos derivados da extração de azeite e/ou da indústria de preparação de azeitona, que se caracteriza por incluir uma composição média de álcoois fenólicos totais superior a 5% em peso seco e uma composição média no total de ácidos fenólicos acima de 0,3% em peso seco. Da mesma forma, a invenção refere-se ao método para obtenção do referido extrato que compreende uma etapa prévia de tratamento térmico do subproduto de azeitona, etapa adicional de separação sólido-líquido, posterior ao tratamento térmico, resultando em uma fase sólida e uma fase líquida, seguida de uma etapa de extração separada do extrato fenólico da fase líquida e da fase sólida, extração com utilização de pelo menos um solvente orgânico e etapa adicional de microencapsulação ou nanoencapsulação do extrato fenólico; de absorção ou adsorção do extrato fenólico em qualquer tipo de suporte; ou de formar uma emulsão do extrato fenólico. O documento também se refere à sua utilização como antioxidante nas preparações alimentícias, cosméticas e/ou farmacêuticas, como agente inibidor da ação da enzima L-tirosinase, ou como agente inibidor da agregação plaquetária na prevenção de doenças coronarianas. O processo aqui descrito diferencia-se do processo descrito na presente invenção pela presença de etapas extrativas de uma fase sólida e outra fase líquida obtidas pela etapa adicional de separação sólido-líquido e pela utilização de um solvente orgânico, não descrito no documento. A microencapsulação, nanoencapsulação, a absorção ou adsorção do extrato fenólico em qualquer tipo de suporte ou uma emulsão do extrato fenólico não faz parte da presente invenção e a nanoencapsulação apresentada no documento não apresenta referências a sua composição ou tipo de nanossistemas. Os nanossistemas apresentados na presente invenção, por sua vez, são do tipo nanocarreador vesicular, com composição natural e vegana, componentes e proporções definidos, diferenciando-se assim do documento descrito anteriormente.

[0031] O documento WO2008/142178 apresenta o procedimento para obtenção de extratos com alto teor de hidroxitirosol a partir de subprodutos da azeitona para aplicação na alimentação, indústria cosmética e farmacêutica. A extração da primeira etapa é efetuada sobre água de vegetação ou sobre o extrato orgânico concentrado obtido desta água de vegetação. Antes da extração dos compostos antioxidantes, o solvente extrator é acidificado a pH 1 ou inferior para hidrolisar a oleuropeína restante em solução, transformando-a em hidroxitirosol, então ajustando o pH para 7 com solução de hidróxido de sódio. A água de vegetação deve ser desengordurada e livre de sólidos suspensos e sedimentáveis. A extração dos compostos polifenólicos é realizada utilizando uma mistura de acetato de etila, etanol e água. A fase orgânica é separada da fase aquosa por centrifugação, logo a fase orgânica, que contém os componentes polifenólicos antioxidantes solúveis é colocada em contato com uma resina XAD. Finalmente, os componentes polifenólicos retidos na resina são recuperados com água, esta água é evaporada, obtendo-se um extrato rico em hidroxitirosol. Este processo diferencia-se do processo apesentado na presente invenção por etapas adicionais, como acidificação e ajuste do pH do solvente, desengorduramento da água de vegetação, contato com a resina XAD, evaporação da água, além do uso de solventes tóxicos como o acetato de etila.

[0032] O documento BRPI0614917 descreve o processo para obtenção de um concentrado natural, rico em hidroxitirosol, a partir de resíduos e subprodutos de oliveiras utilizando tecnologias limpas, as quais compreendem extração por fluidos supercríticos, nanofiltração e osmose reversa, que são utilizadas individualmente ou de forma integrada. O concentrado rico em hidroxitirosol apresenta atividades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e anticarcinogênicas que são superiores às atividades observadas para o hidroxitirosol sozinho, em concentração equivalente, o concentrado rico em hidroxitirosol pode ser preparado na forma de partículas sólidas, como uma solução aquosa, em emulsão ou como nanopartículas à base de lipídios. A aplicação industrial compreende as indústrias alimentícia, farmacêutica e

cosmética. O processo extrativo do documento citado apresenta como diferenças do processo produtivo do extrato vegetal do bagaço da oliva apresentado na invenção aqui descrita pelo uso de equipamentos como fluidos supercríticos, nanofiltração e osmose reversa individualmente ou combinados. Sendo assim um processo mais complexo e apresenta etapas adicionais quando comparado ao processo descrito na presente invenção.

[0033] Mohhamadi e colaboradores (2016) nanoencapsularam um extrato das folhas das oliveiras. Para isso, prepararam nanoemulsões revestidas com biopolímeros contendo óleo de soja e um emulsificante não iônico. Foi utilizado um homogeneizador do tipo ultraturrax para a produção. As gotículas das emulsões apresentaram distribuição de tamanho bimodal (141,8 nm e 713,4 nm). Os nanocarreadores citados por estes autores são nanoemulsões e referem-se ao encapsulamento de extrato das folhas da oliveira, enquanto a reivindicação da presente invenção apresenta nanocarreadores do tipo vesiculares, contendo o extrato vegetal do bagaço da oliva e composição diferente das nanoemulsões apresentadas.

[0034] Azar e colaboradores (2021) produziram um extrato de folha de oliveira encapsulado em nano transportador lipídico através da metodologia de homogeneização de cisalhamento e com a utilização de um sonicador de sonda, contendo polissorbato 80, manteiga de cacau e um lipídeo líquido: azeite de oliva. Estes autores adicionaram caseinato de sódio e hidrogel de pectina ao nanocarreador. O nanocarreador apresentou alta eficiência de encapsulamento com a finalidade de melhorar a vida útil de alimentos funcionais. Os nanocarreadores descritos na presente invenção são compostos por ingredientes de fontes naturais e buscam formar vesículas lipídicas, diferindo, portanto, dos nanocarreadores lipídicos que utilizam um lipídeo líquido e outro sólido.

[0035] Diversos documentos de patente focam na extração e isolamento do hidroxitirosol e não exploram o extrato contendo outras substâncias que compõem a matriz química da biomassa da oliva. O extrato do presente pedido

de prioridade de invenção se caracteriza pela presença de diversas substâncias, incluindo hidroxitirosol, tirosol, oleuropeína, oleosídeo, verbacosídeo, entre outros. Além disto, uma grande parte dos documentos exploram as folhas da oliveira, não utilizando o bagaço proveniente da extração do azeite de oliva, não dando um destino para este resíduo.

[0036] A valorização dos extratos produzidos a partir dos resíduos da produção de azeite se deve a uma atividade antioxidante otimizada atribuída ao efeito sinérgico entre os variados compostos fenólicos obtidos da matriz vegetal em comparação com os compostos isolados, segundo publicação de Gullón e colaboradores (2020).

[0037] A principal atividade biológica dos compostos fenólicos do bagaço da oliva é a atividade antioxidante. Os compostos fenólicos são capazes de agir como antioxidantes de diferentes maneiras, a sua potente ação antioxidante deve-se ao potencial de óxido redução de algumas moléculas, onde, podem doar um átomo de hidrogênio para as estruturas de radicais livres, sequestrar metais pró-oxidantes, quelando-os, e ainda atuar na ativação das enzimas antioxidantes e inibidores de enzimas oxidantes. Tais processos geram o aumento da resistência celular, favorecendo o combate do processo degenerativo. Porém, para exercer sua ação antioxidante em formulações, existe o desafio de estabilizar estes compostos.

[0038] Gil-Martín e colaboradores (2022) relataram que os compostos fenólicos fornecidos pelos resíduos da oliva são agentes antioxidantes de defesa, capazes de neutralizar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, quelar metais pró-oxidantes e regenerar antioxidantes, tornando-se assim barreiras contra danos oxidativos e patologias degenerativas. Os autores ressaltam o potencial uso dos compostos fenólicos dos resíduos do azeite de oliva como antioxidantes naturais para aplicação em nutracêuticos e como aditivos para preservação e processamento de alimentos. O extrato do bagaço da oliva e o nanocarreador natural aqui apresentados possuem teores representativos de recuperação dos

compostos fenólicos da oliva, sendo alternativa para aplicação como aditivo no setor alimentício e de suplementação alimentar.

[0039] Rodrigues e colaboradores (2017) relatam que processos fisiológicos, como o envelhecimento, são associados a um desequilíbrio entre a atividade de espécies reativas de oxigênio (ERO) e antioxidantes. Quando em excesso, as ERO apresentam efeitos deletérios como oxidação lipídica, oxidação proteica, quebra da fita de DNA e alteração da expressão gênica. Os autores ressaltam que a atividade antioxidante oferecida pelos extratos vegetais é um benefício funcional e que os tratamentos cosméticos de última geração contam com propriedades antioxidantes de ingredientes derivados de plantas e são uma alternativa bastante oportuna para os resíduos da extração do azeite de oliva. Estes resíduos são considerados uma fonte potente de antioxidantes naturais, justificando a aplicação tanto do extrato do bagaço da oliva quanto do nanocarreador natural aqui apresentados em produtos cosméticos.

[0040] Morgana e colaboradores (2022) reforçam a importância da substituição de produtos sintéticos amplamente utilizados atualmente pelas indústrias alimentícias por bioaditivos funcionais naturais e sustentáveis. Os autores demonstram que os compostos fenólicos são reconhecidos por sua atividade antioxidante para aplicação alimentícia e apresentam potencial de reutilização dos compostos fenólicos extraídos do bagaço da oliva como bioaditivos alimentares.

[0041] Morgana e colaboradores (2022) combinaram tecnologias utilizando solventes eutéticos naturais profundos para extração dos compostos fenólicos do bagaço da oliva visando à sua aplicação como ingrediente funcional ou aditivo alimentar. Demonstraram que técnicas ecologicamente amigáveis podem ser eficientes, pois seus resultados mostraram biodisponibilidade dos bioativos e apoiam o potencial do bagaço da extração do azeite de oliva para aplicações em saúde e nutrição. O processo de desenvolvimento do extrato acima citado difere-se da presente invenção pelo tipo de solvente utilizado que é diferente, bem

como pelo tempo empregado no processo de extração, que é menor no processo inventivo aqui descrito.

[0042] Nunzio e colaboradores (2018) desenvolveram um extrato aquoso do bagaço da oliva com o objetivo de obter um ingrediente potencial de baixo custo e rico em polifenóis para a formulação de alimentos funcionais. O extrato aquoso foi produzido por um processo que compreende 10 minutos de agitação em agitador magnético seguido de 44 minutos de sonicação a 40 °C, sendo diferente assim do processo extrativo do extrato do bagaço do bagaço da oliva apresentado na presente invenção, o qual não utiliza equipamentos de alta energia, como o sonicador.

[0043] O documento CN114557963 refere-se ao lipossoma nano-hidroxitirosol e ao método de preparação do mesmo, método que compreende as etapas de preparação de um filme transparente de lecitina, preparação de uma emulsão de hidroxitirosol, preparação de lipossoma de hidroxitirosol e semelhantes. A composição do lipossoma nano-hidroxitirosol consistem em lecitina e colesterol solubilizados em um solvente orgânico, que deve ser evaporado. Há etapas envolvidas de uso de evaporador rotativo e homogeneizador de micro jato de alta pressão. O lipossoma nano-hidroxitirosol descrito no documento acima diferencia-se do nanocarreador vesicular de origem vegetal da presente invenção por sua composição, que contém colesterol, solvente orgânico e hidróxido de sódio e pelo método de produção do nanocarreador. Por outro lado, o nanocarreador vesicular de origem vegetal da presente invenção possui ingredientes selecionados de origem vegetal e ainda compreende em sua composição o extrato vegetal do bagaço da oliva.

[0044] O documento FR3107657 define o processo e o sistema para recuperação de polifenóis provenientes de resíduos sólidos e/ou resíduos líquidos industriais do setor de alimentos e bebidas. O processo caracteriza-se por compreender uma série de operações, primeiramente, submeter os resíduos sólidos a extração de polifenóis por adição de solvente e ação de ultrassom ou micro-ondas para obtenção de solução tratada; logo, introduzir e reter em um

reservatório intermediário um ou mais volumes de solução tratada; a seguir, pulsar todo ou parte do conteúdo do reservatório intermediário como alimentação para um processo contínuo que compreende as operações em série de microfiltração, ultrafiltração e osmose reversa, na sequência, reutilizar o permeado de osmose reversa como solvente na operação inicial ou como um abastecimento ao tanque intermediário para aumentar a sedimentabilidade dos sólidos contidos no tanque intermediário, protegendo as membranas de sua obstrução e incrustação. O processo descrito no documento para recuperação de polifenóis de resíduos difere-se do processo para obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva da presente invenção por utilizar os equipamentos e métodos como ultrassom ou micro-ondas, um reservatório e ainda microfiltração, ultrafiltração e osmose reversa.

[0045] O documento CN109369732 divulga um método de processamento de azeite de alta qualidade e reciclagem do resíduo (bagaço). O método compreende as seguintes etapas: projetar um separador espiral bifásico horizontal assistido por ultrassom, limpar e esmagar azeitonas frescas, utilizar um homogeneizador ultrassônico, realizar centrifugação para separar o óleo bruto e o bagaço contendo água, adotando o separador espiral bifásico, usa refrigeração para sedimentar o óleo bruto, realizando a prensagem do filtro com diatomita ativa e filtrando por uma membrana cerâmica para obter azeite virgem de qualidade especial enriquecido com polifenol; realizar desidratação eletro-osmótica e preparar um biofertilizante, realizar fermentação biológica em águas residuais e preparar vinho de frutas a partir do filtrado e pasteurizar. O processo inclui ainda misturar todas as águas residuais do processo de produção, filtrando por uma membrana cerâmica, para obter extrato de polifenol de azeitona com teor total de polifenóis maior ou igual a 90 %, e separando para preparar oleuropeína, hidroxitirosol, ácido oleanólico, ácido ursólico, ácido maslínico, verbascosídeo, galuteolina e outros compostos de monômeros de polifenol, adotando enriquecimento direcionado por impressão molecular e tecnologias de acoplamento de cromatografia contracorrente de alta velocidade. O processo

acima descrito diferencia-se do processo da presente invenção para obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva por iniciar o processo com a extração do óleo enriquecido em polifenóis, e para a reutilização dos resíduos utiliza métodos complexos e equipamentos como ultrassom, membranas cerâmicas e o extrato que obtém é derivado de águas residuais do processo e não diretamente do bagaço da oliva. Este método apresenta técnicas mais complexas e etapas adicionais do que o processo descrito na presente invenção.

[0046] O documento WO2018/178492 refere-se a um método de obtenção de azeite e de pelo menos um extrato concentrado em polifenóis e um ingrediente funcional. O método é realizado nas etapas de: (1) introdução das azeitonas; (2) separação do caroço, da casca e da polpa da azeitona; (3) remoção do caroço; (4) aplicação de pulso elétrico na pasta de azeitona gerada na etapa anterior; (5) desidratação da pasta de azeitona pulsada até uma umidade inferior a 30% em um dispositivo de secagem contínua a vácuo; (6) separação do azeite por centrifugação da pasta de azeitona; (8) desidratação da polpa isenta de óleo até uma umidade inferior a 10%; e, por último, (9) aplicação de fluidos supercríticos à polpa desidratada isenta de óleo, sob condições de agitação, pressão, temperatura e tempo, (10) obtendo-se assim extratos de azeitona e (11) farinha de azeitona. A invenção do documento citado permite evitar a geração de resíduos, o consumo de água, o uso de solventes altamente tóxicos e a perda da qualidade sensorial do óleo, ao mesmo tempo que melhora o rendimento e reduz o tempo necessário. O método referido pelo documento aqui citado difere-se do método de obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva da presente invenção por utilizar fluídos supercríticos sob agitação, pressão, temperatura e tempo para obtenção de uma série de extratos e uma farinha de azeitona com alto teor de fibras, proteínas e polifenóis antioxidantes.

[0047] A invenção WO2018/109600 fornece um método de produção de extrato, o extrato e formulações contendo este extrato. O extrato é produzido a partir do bagaço obtido do processo de produção do óleo da fruta *Olea europaea*. O extrato compreende uma mistura de compostos solúveis em óleo e solúveis

em água, incluindo hidroxitirosol, tirosol, oleuropeína, α-tocoferol e esqualeno. O método empregado para obtenção do referido extrato utiliza o bagaço e uma mistura de solventes para extração, compreendendo um componente de solvente orgânico (n-heptano ou acetato de etila), álcool (metanol, etanol ou isopropanol), água e limoneno. O método de extração é por *Soxhlet* modificado no qual a pressão é reduzida para cerca de 150 - 450 mbar durante cerca de 2 a 5 horas. O método extrativo aqui citado difere-se do método de produção do extrato vegetal do bagaço da oliva da presente invenção pelo fato de utilizar um equipamento *Soxhlet*, solventes orgânicos tóxicos e limoneno.

[0048] O documento CN105055527 divulga um método de preparação de um extrato de folha de oliveira e do referido extrato. O extrato de folha de oliveira cujo teor de oleuropeína é superior a 90% é obtido através dos processos de infiltração, extração enzimática, separação e secagem em folhas de oliveira. Todo o método compreende apenas quatro etapas, os reagentes adotados são ingredientes comuns atóxicos, o rendimento é alto, o custo é baixo, o produto obtido pode ser utilizado diretamente no preparo de medicamentos, produtos para saúde e alimentos, e o método é muito adequado para produção industrial. O método deste documento citado apresenta diferenças do método extrativo aplicado para obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva que é objeto deste pedido de invenção. Primeiramente, a matéria-prima para extração faz uso de folhas de oliveira e não do bagaço da oliva, além de utilizar métodos como infiltração e extração enzimática, técnicas não empregadas no processo da presente invenção.

[0049] O documento US20150196498 refere-se a um suplemento dietético compreendendo um extrato de azeitona contendo uma proporção em peso de hidroxitirosol para oleuropeína superior a 200:1, uma proporção em peso de hidroxitirosol para forma aldeídica de oleuropeína aglicona entre 5:1 e 850:1, uma proporção em peso de hidroxitirosol para tirosol entre 55:1 e 618:1. Esta composição oral contém polifenóis de azeitona numa quantidade eficaz para fornecer, numa porção diária, pelo menos 5 mg de hidroxitirosol e as proporções

acima apresentadas com o propósito de servir como um método para proteger os lipídios do sangue contra estresse oxidativo. O hidroxitirosol é extraído da azeitona e/ou dos resíduos sólidos da azeitona após a extração do azeite por hidrólise ácida e purificação em colunas de resina eluída com, contendo uma proporção em peso de hidroxitirosol para hidroximetilfurfural entre 45:1 e 10.000:1, e o teor de hidroxitirosol no extrato é de pelo menos 0,5% (p/p) com pureza de pelo menos 40%. O suplemento dietético compreende adicionalmente um carreador. O documento citado apresenta um método de obtenção de um extrato da azeitona ou de bagaço da azeitona rico em hidroxitirosol, obtido pela hidrólise ácida e purificação em colunas de resina para ser utilizado em sua composição de suplementação dietética, diferenciando-se assim do método empregado para aquisição do extrato vegetal do bagaço da oliva da presente invenção, que utiliza extração sólido-líquida.

[0050] O documento CN104774139 divulga um método para preparar hidroxitirosol natural a partir de folhas de oliveira como matéria-prima, adotando um processo de extração *in situ* assistido por ultrassom, usando um sistema bifásico que consiste em um solvente orgânico A e uma solução alcalina; realiza a descoloração com carvão ativado em uma fase de extração com solvente orgânico, aplica então a concentração comprimida e remove impurezas adotando um solvente orgânico B. Ainda, realiza fusão térmica em um extrato que é obtido em virtude da remoção de impurezas por um solvente orgânico C, filtrando enquanto aquece e depois realizando concentração comprimida e secagem para obter um produto com hidroxitirosol de alta qualidade. O método extrativo aqui citado diferencia-se do método extrativo da presente invenção, primeiramente, por utilizar folhas da oliveira como matéria-prima, e por empregar o equipamento ultrassom e a utilização de solventes tóxicos.

[0051] O documento US9420820 refere-se a um método inovador e altamente eficiente, utilizando tecnologias limpas, para obtenção de um concentrado bioativo natural rico em polifenóis a partir de água de lagar de azeite. As tecnologias limpas integram centrifugação, um processo de separação baseado

em cristalização abafada e evaporação a vácuo. O método fornece um isolado de polifenol altamente concentrado de outros componentes presentes no OMW, com até metade do conteúdo de polifenóis (hidroxitirosol). O método descrito no documento citado é diferente do método de obtenção do extrato vegetal do presente pedido de prioridade de invenção, por utilizar centrifugação e separação por cristalização abafada e ainda evaporação à vácuo, que são métodos mais complexos e demorados do que os da presente invenção.

[0052] O documento WO2008/090460 apresenta um processo de produção de um extrato contendo hidroxitirosol a partir de um material selecionado a partir de azeitonas e/ou resíduos de azeitonas após a extração do azeite e um aparelho para executar o método. O referido processo inclui a hidrólise ácida dos referidos materiais de partida e a purificação da solução resultante, em água a uma temperatura dentro da faixa de 700°C a 1400°C, a uma pressão dentro da faixa de pressão atmosférica a 20 psi acima da pressão atmosférica e a um pH dentro da faixa de 1,0 a 6,0; e remoção de sólidos suspensos da solução acontece em resina cromatográfica. Compreende ainda uma etapa de concentração por osmose reversa da solução e remoção da água até que o produto esteja em um estado sólido. O método apresentado neste documento emprega um aparelho específico para execução, aplica etapa de hidrólise a altas temperaturas, etapa de separação de sólidos e outra de concentração e ainda a secagem do produto, tornando este processo diferenciado do processo de obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva da presente invenção que aplica um processo extrativo com princípios sustentáveis e mais simples. Os métodos do documento citado apresentam técnicas mais complexas e etapas adicionais comparados ao processo descrito na presente invenção.

[0053] O documento WO2013/037751 refere-se a um método para processar bagaço de azeitona úmido e compreende adicionar um composto de cálcio e/ou uma solução de cálcio ao bagaço de azeitona úmido e filtrar o bagaço de azeitona úmido em um dispositivo de separação para obter uma fase sólida e uma fase líquida e os polifenóis serão adquiridos da fase aquosa. A adição de

cálcio e o fato do processo utilizar o bagaço úmido como biomassa diferencia o processo extrativo citado no documento WO2013/037751 do processo da presente invenção.

[0054] O documento CN102060893 descreve um método para preparar simultaneamente oleuropeína e flavonoides totais de azeitona a partir das folhas de oliveira com baixo custo de produção, método ecologicamente correto e através de um processo simples. O método compreende as etapas de: realizar refluxo ou extração múltipla, adsorção em série através de resina de adsorção macroporosa e dessorção gradiente; recuperação de um solvente orgânico em solução de dessorção e realização de secagem por pulverização para obter, respectivamente, extratos de alto teor de oleuropeína e flavonoides totais de azeitona. Os extratos obtidos apresentam alto teor de oleuropeína e de flavonoides totais da azeitona. O documento CN100473656 também divulga um método para preparar extrato de folha de oliveira rico em oleuropeína de alta pureza. O método adota separação por membrana composta e técnicas de adsorção para substituir a técnica tradicional de extração de solvente, podendo assim aumentar a pureza da oleuropeína, economizar energia e eliminar a poluição. O solvente polar pode extrair a oleuropeína, e o solvente não polar pode remover as substâncias lipossolúveis, sendo, portanto, vantajoso para aumentar o rendimento e a pureza da oleuropeína. Os solventes que podem ser utilizados neste processo são etanol, metanol, éter de petróleo, n-hexano, álcool mineral e acetona. O documento WO99/38383 relata um método para preparar um extrato obtido de folhas de oliveira rico em oleuropeína, onde as folhas são cobertas por uma solução de álcool, que permanece em contato com as folhas por pelo menos 4 horas. Este processo é repetido pelo menos mais duas vezes, e os extratos obtidos são combinados, concentrados por destilação sob vácuo e seco por pulverização ou secagem em estufa sob vácuo, para obter um pó contendo cerca de 30-40% em peso de oleuropeína. Os processos citados diferem-se do método empregado para obtenção do extrato vegetal do bagaço da oliva descrito na presente invenção pela matéria-prima utilizada e pelos

métodos que apresentam o uso de solventes orgânicos tóxicos e em suas etapas, aplicação de técnicas como refluxo, adsorção e secagem por pulverização ou liofilização, entre outras. Estes métodos apresentam técnicas mais complexas e etapas adicionais do que o processo descrito na presente invenção.

[0055] O documento BR200817538 B1 descreve uma composição cosmética ou farmacêutica, para aplicação tópica, que possui uma fase externa hidrofílica, pelo menos um princípio ativo cosmético e/ou farmacêutico e pelo menos uma substância carreadora para o princípio ativo. A substância transportadora aqui forma tais estruturas, que compreendem pelo menos duas camadas lamelares de membrana dupla dispostas uma sobre a outra na forma de um sanduíche. O ingrediente ativo é distribuído na camada de membrana dupla e na camada da fase interna de modo que a camada da fase interna contenha o ingrediente ativo em uma faixa de concentração entre 2% em peso e 98% em peso e a camada de membrana dupla contenha o ingrediente ativo em uma concentração entre 98% em peso e 2% em peso, respectivamente em relação à concentração total de ingrediente ativo. A composição aqui referida difere-se da composição do nanocarreador vesicular de origem natural por não ser caracterizada por um sistema nanoestruturado e por não selecionar constituintes exclusivamente de origem natural e vegana, e por não apresentar um ingrediente ativo determinado, como no caso do nanocarreador vesicular de origem natural que utiliza o extrato vegetal do bagaço da oliva.

[0056] O documento WO2008/058599 refere-se à utilização de um extrato de azeitona contendo um mínimo de cerca de 5 % de polifenóis e um mínimo de cerca de 2 % de hidroxitirosol em produtos alimentares como bebidas e produtos de panificação, pestos, *chutneys* ou molhos de macarrão. O extrato de azeitona contém ácido cítrico como estabilizante e é utilizado na forma de um pó. O documento apresentado difere-se da presente invenção por não reivindicar o processo extrativo do extrato utilizado. O extrato apresentado não é derivado do bagaço da azeitona e sua utilização nos produtos alimentícios especificados é

na forma de pó, diferentemente do extrato vegetal do bagaço da oliva descrito na presente invenção.

[0057] O documento WO2007/118631 refere-se a novos complexos fosfolipídicos de extratos de frutos ou folhas de azeitona ou composições contendo-os com biodisponibilidade melhorada. O extrato de frutos ou folhas de azeitona reage com fosfolipídios em um solvente alcoólico e o composto complexo é então isolado por concentração e secagem. As composições farmacêuticas preparadas contêm como princípio ativo um complexo em mistura com um veículo farmacêutico adequado, com o propósito para preparação de medicamentos com ações quimiopreventivas, antioxidantes e preventivas de doenças cardiovasculares. A composição descrita no documento citado difere-se da composição da presente invenção por não formar um nanocarreador vesicular. A composição descrita no documento sofre um processo de concentração e secagem e apresenta uma aplicação farmacêutica, diferentemente da composição da presente invenção.

[0058] Hadidi e colaboradores (2022) relatam que a indústria de alimentos prefere aditivos naturais ao invés de sintéticos. Os subprodutos vegetais gerados pelas agroindústrias são fonte de uma grande variedade de antioxidantes naturais capazes de serem aplicados em produtos à base de carnes, já que a oxidação proteico-lipídica é uma das principais causas de deterioração da qualidade da carne durante o seu processamento e armazenamento. Desta forma, o extrato do bagaço da oliva e o nanocarreador natural podem ser opções de antioxidantes naturais para auxiliar na preservação desses produtos agropecuários.

[0059] Os antioxidantes podem contribuir para a saúde das plantas e para a qualidade dos produtos da agricultura. Desta forma, os antioxidantes naturais podem desempenhar um papel interessante quando aplicados na agricultura, com o objetivo de contribuir para práticas agrícolas sustentáveis, auxiliando assim na preservação dos solos e das plantas. Os antioxidantes naturais podem ainda contribuir para aquisição de culturas mais resistentes ao estresse oxidativo

por aumentar a capacidade das plantas em suportar condições adversas. O extrato do bagaço da oliva e o nanocarreador natural apresentados na presente invenção se apresentam como alternativas naturais para aplicação em culturas agrícolas que visam uma produção saudável e sustentável.

[0060] Os antioxidantes naturais podem ser utilizados na agricultura como aditivos após as colheitas, em situações em que servem para proteger os produtos agrícolas contra a oxidação, a rancificação e a deterioração durante armazenamento e transporte. Os compostos fenólicos presentes em plantas podem ser aplicados em produtos ou incorporados às suas embalagens para prolongar a vida útil e manter a qualidade dos alimentos. Sendo assim o extrato do bagaço da oliva e o nanocarreador natural podem ser alternativas naturais para aplicação para auxiliar na preservação de produtos agrícolas durante seu armazenamento e transporte.

[0061] A utilização de antioxidantes naturais pode permitir a redução do uso de conservantes sintéticos em alimentos para animais, algo de muito interesse para os consumidores e produtores. Devido à sua versatilidade, o extrato do bagaço da oliva e o nanocarreador natural podem ser alternativas naturais como aditivos antioxidantes em fontes alimentares de animais de produção. Os antioxidantes naturais, como extratos de plantas ricos em compostos fenólicos, podem ser adicionados à alimentação animal para ajudar a proteger os ingredientes da ração contra a oxidação, evitando assim a deterioração deste alimento e a perda do seu valor nutricional. Além de proteger os alimentos, os antioxidantes naturais oferecidos em uma dieta alimentar também podem ter benefícios para a saúde dos animais. Alguns compostos antioxidantes, como os compostos fenólicos, podem ter propriedades que contribuem para a saúde e o bem-estar dos animais de produção.

[0062] De acordo com Leonardão e co-autores (2003) em sua publicação que aborda os princípios da química verde, os produtos ou processos da química verde podem ser divididos em três grandes categorias: i) uso de fontes renováveis ou recicladas de matéria-prima; ii) aumento da eficiência de energia,

ou a utilização de menos energia para produzir a mesma ou maior quantidade de produto e iii) evitar o uso de substâncias persistentes, bioacumulativas e tóxicas. O presente processo sustentável se classifica concomitante nas três categorias, pois utiliza fontes renováveis, utiliza menor energia para produzir a mesma quantidade de produto em comparação com as técnicas já descritas na literatura, e não usa solventes tóxicos.

[0063] Os processos aqui descritos diferem do estado da técnica pela aplicação de processos sustentáveis, livres de solventes tóxicos, com número de etapas reduzidas, sem uso de equipamentos de alto gasto energético, menor tempo de extração e recuperação de alto teor de compostos fenólicos.

[0064] O nanocarreador contendo o extrato do bagaço da oliva tem por objetivo a estabilização e proteção dos compostos extraídos do bagaço da oliva, bem como aumentar as atividades biológicas, proporcionando liberação gradual dos bioativos, melhorando sua permeação pela pele e facilitando sua incorporação em diferentes formulações cosméticas. O diferencial da composição do nanocarreador descrito na presente invenção decorre da utilização exclusiva de ingredientes de origem natural e sem a utilização de solventes tóxicos. Este nanocarreador segue o processo de produção sustentável, sendo produzido com ingredientes naturais e de origem vegetal, permitindo assim o desenvolvimento de um insumo nanotecnológico natural e sustentável.

Sumário da invenção

[0065] A presente invenção refere-se ao processo produtivo sustentável para a extração dos compostos fenólicos bioativos do bagaço da produção do azeite de oliva. O processo de obtenção do extrato descrito na presente invenção difere-se dos métodos já descritos na literatura, por apresentar etapas menos complexas, utilizando equipamentos simples, tempo reduzido de processamento, consequentemente maior eficiência energética, além de não utilizar ingredientes ou solventes tóxicos.

[0066] A presente invenção contempla adicionalmente, a composição de um nanocarreador vesicular de origem natural contendo o extrato obtido pelo processo citado anteriormente e componentes exclusivamente de origem natural.

[0067] A presente invenção contempla ainda os usos cosmético, alimentício e agropecuário do extrato vegetal sustentável do bagaço da oliva e do nanocarreador natural.

[0068] A invenção aqui descrita tem por objetivo o desenvolvimento de processos e produtos envolvendo a obtenção de ingredientes naturais de fontes renováveis, contendo bioativos da oliva, em especial os compostos fenólicos, com atividades biológicas expressivas, alcançando bioativos estáveis e seguros para utilização em produtos cosméticos, alimentícios e agroindustriais. O processo produtivo desenvolvido é sustentável, sem o uso de solventes tóxicos, reduzindo, desta forma, os impactos ambientais negativos.

Breve descrição das Figuras

[0069] A figura 1 apresenta o cromatograma da análise de Cromatografia a Líquido de Ultra Eficiência Acoplada a Espectroscopia de Massas de Alta Resolução (UHPLC-QqTOF-MS), demonstrando o perfil dos compostos fenólicos do extrato do bagaço da oliva. A presença dos compostos foi confirmada utilizando seus íons fragmentos e o seu perfil isotópico.

[0070] A figura 2 apresenta a análise da capacidade de proteção à oxidação do betacaroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoleico, ou seja, é capaz de avaliar a atividade das amostras testes em inibir os radicais livres, gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. Avaliação realizada pelo sistema betacaroteno/ ácido linoleico. O resultado demonstra maior capacidade protetora do extrato do bagaço da oliva (EBO) quando comparado com Acetato de tocoferol (AT). Os resultados desta análise foram expressos em porcentagem de proteção ao sistema betacaroteno/ ácido linoleico. Dados expressos por média ± desvio padrão. As análises estatísticas

foram realizadas por Test T de Student. Os valores com p<0,05 são estatisticamente significativos, sendo * p <0,05.

[0071] A figura 3 demonstra o resultado da análise da capacidade antioxidante frente ao sistema betacaroteno/ ácido linoleico de diferentes concentrações do extrato do bagaço da oliva. Os resultados mostram valores entre 31,4 ± 1 até 34 ± 3 % de porcentagem de proteção sobre o sistema betacaroteno/ ácido linoleico. Os resultados foram expressos em porcentagem de proteção ao sistema betacaroteno/ ácido linoleico. Dados expressos por média ± desvio padrão (DP). Análises estatísticas por Anova. Os valores com p<0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

[0072] A figura 4 apresenta a imagem de formulações cosméticas. O extrato de bagaço de oliva foi incorporado a 1% em emulsões O/A. Para fins de comparação foi preparada uma emulsão O/A contendo 1% de acetato de tocoferol e outra emulsão O/A sem adição de ingredientes ativos (emulsão base).

[0073] A figura 5 demonstra a análise quanto ao potencial antioxidante das emulsões cosméticas pelo método de inibição do radical DPPH•. Os resultados apresentam o potencial de inibição do radical DPPH• pelas formulações cosméticas contendo extrato do bagaço da oliva e acetato de tocoferol como ativos em comparação com a formulação base. Esta figura demonstra a maior atividade antioxidante da emulsão contendo o extrato da oliva em comparação às outras formulações. As análises estatísticas foram feitas por ANOVA de uma via, seguida de teste post hoc de Tukey. Os valores com p<0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Resultados expressos em porcentagem de desativação do radical DPPH•.

[0074] A figura 6 apresenta o potencial do Nanocarreador vesicular natural (NAOPE), do Extrato do bagaço da oliva (OPE) e do Acetato de tocoferol (AT) em concentração de 5mg/mL, de inibir a atividade da enzima hialuronidase *in vitro*, demonstrando resultados significativamente maior para o extrato e para o nanocarreador contendo o extrato em comparação ao AT. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição da hialuronidase. Dados expressos por

média ± desvio padrão (DP). Análises estatísticas por Anova seguida pelo teste de Tukey. Os valores com $p<0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

[0075] A figura 7 apresenta o potencial do Extrato do bagaço da oliva (EBO) e do Nanocarreador vesicular vegano (NAOPE) para estimular a renovação celular utilizando culturas de fibroblastos e queratinócitos humanos. O grupo controle (Ct) representou 100%, e o percentual de renovação celular das amostras foi calculado em relação ao controle. O Extrato do bagaço da oliva demonstrou capacidade de estimular queratinócitos, sugerindo desta forma potencial para renovação epidérmica. Quando as células foram expostas ao Nanocarreador vesicular vegano foi observado um aumento significativo na proliferação celular em queratinócitos e fibroblastos, demonstrando aumento da atividade dos bioativos do extrato do bagaço da oliva e sugerindo capacidade de renovação epidérmica e dérmica.

Descrição detalhada da invenção

[0076] O processo de produção do extrato do bagaço da oliva foi desenvolvido com características sustentáveis, apresenta baixo gasto energético e escalabilidade. Este processo produtivo é composto por etapas definidas, que garantem a alta taxa de recuperação dos compostos de interesse de forma ambientalmente amigável. As etapas que compõem o processo produtivo do extrato do bagaço da oliva são o tratamento do bagaço e o processo extrativo dos compostos bioativos, detalhados a seguir.

[0077] O termo processo sustentável neste pedido de patente refere-se ao processo de produção definido a partir das seguintes características: eficiência energética, uso eficiente de recursos, menor impacto ambiental, uso de ingredientes de fonte renováveis. A extração de bioativos do bagaço da oliva por meio de processos sustentáveis é uma abordagem importante do ponto de vista ambiental e econômico.

[0078] A obtenção de um extrato rico em compostos fenólicos é uma alternativa promissora para o reaproveitamento do bagaço residual da produção do azeite de oliva, pois pode proporcionar atividades biológicas significativas, graças a ação sinérgica de seus compostos. Desta forma evita o desperdício desta matéria-prima e o acúmulo deste resíduo no meio ambiente.

[0079] Para garantir a integridade dos compostos bioativos do bagaço foi desenvolvido um protocolo de coleta e tratamento do mesmo, contribuindo para maior recuperação destes compostos no processo extrativo. O método extrativo destes compostos apresenta baixo gasto energético e sem o uso de solventes tóxicos, sendo considerado um processo sustentável. O extrato do bagaço da oliva obtido deste processo é obtido a partir de fontes renováveis.

[0080] O processo de produção do extrato do bagaço da oliva inicia com um protocolo de coleta do mesmo, que deve acontecer diretamente na agroindústria de produção do azeite. A coleta deve ocorrer imediatamente após o processamento da oliva. O bagaço da oliva deve ser previamente congelado até o seu processamento.

[0081] A secagem do bagaço da oliva pode ser realizada em liofilizador ou em estufa. No liofililizador os parâmetros podem variar entre - 40 a - 50 °C de temperatura de condensador durante o período de 24 a 96 horas. Na estufa, a faixa de secagem varia entre 30 e 55 °C. A variação de temperatura depende das condições naturais do bagaço, considerando que os compostos de interesse devem ser preservados para sua posterior recuperação. Para este processo, o bagaço é disposto em bandejas. O processo de secagem leva entre 8 e 18 horas, dependendo das condições naturais do bagaço. Após seco, o bagaço é moído em moinho de facas ou equipamento de ação equivalente, até alcançar partículas entre 400 e 1000 microns.

[0082] As etapas citadas até aqui auxiliam na preservação dos compostos de interesse do bagaço da oliva, sendo fundamentais para garantir a recuperação destes compostos nas etapas extrativas seguintes.

[0083] O processo extrativo dos compostos de interesse do bagaço da oliva acontece através de uma extração sólido-líquido. As razões sólido-líquido podem variar de 1:5 até 1:30 (massa:volume), dependente do solvente utilizado para o processo e as condições específicas do bagaço.

[0084] Os solventes utilizados no processo extrativo da presente invenção podem variar entre: 1,3-propanediol, glicerina vegetal, sorbitol, água e suas misturas em diferentes proporções. Os solventes empregados são biocompatíveis, biodegradáveis e não tóxicos.

[0085] O bagaço seco e moído é adicionado ao solvente sob agitação constante e temperatura controlada. A temperatura empregada no processo extrativo pode variar entre 35 e 55 °C. A temperatura adequada é selecionada considerando o solvente utilizado no processo extrativo. Uma vez selecionada, a temperatura deve se manter constante pelo período do processo. O tempo de extração pode variar entre 15 e 40 minutos, dependendo do solvente utilizado. Após o término do processo extrativo, o extrato pode passar por uma etapa de filtração.

[0086] O método de extração dos compostos fenólicos do bagaço da oliva foi aprimorado com o objetivo de assegurar suas caraterísticas sustentáveis e sua eficácia. Durante o processo de desenvolvimento, foi realizada uma avaliação comparativa entre a aplicação de um homogeneizador ultrassônico e o método sustentável proposto nesta invenção, ambos empregados pelo mesmo período. A eficiência dos processos foi avaliada quantitativamente por meio da capacidade de reduzir o reagente Folin-Ciocalteu. O ensaio do reagente Folin-Ciocalteu é um método baseado em reações de transferências de elétrons entre o reagente e os compostos fenólicos presentes no extrato, esta interação promove a mudança de cor do sistema reacional de forma proporcional à quantidade de compostos redutores presente na substância teste. Notavelmente, os resultados obtidos demonstraram valores semelhantes para ambas as técnicas extrativas, validando assim a eficácia do processo sustentável. Como resultado desse estudo comparativo, a utilização do homogeneizador ultrassônico foi dispensada em favor do método sustentável

proposto, que se destaca pela sua eficiência e pelo menor impacto ambiental. Estes dados reforçam que o processo sustentável é uma abordagem eficaz e ecologicamente amigável para a extração de compostos fenólicos do bagaço da oliva.

[0087] Adicionalmente, no processo de aprimoramento da extração de compostos fenólicos do bagaço da oliva, foi conduzida uma análise detalhada da etapa de extração lipídica por Soxhlet, que envolve o uso de solventes orgânicos como hexano ou éter de petróleo. No entanto, nossos testes revelaram que essa etapa não afetou significativamente a concentração de compostos fenólicos totais nas amostras. Portanto, foi optado por dispensar a etapa convencional de desengorduramento da amostra, evitando o uso desnecessário de solventes orgânicos tóxicos, equipamentos adicionais e recursos energéticos. Essa determinação demonstra a eficiência e a sustentabilidade do processo proposto, que se destaca pela minimização do impacto ambiental e pela economia de recursos. Essa decisão demonstra a eficiência e a sustentabilidade do processo proposto, que se destaca pela minimização do impacto ambiental e pela economia de recursos em comparação com métodos convencionais

[0088] O extrato obtido é rico em compostos fenólicos da oliva, como hidroxitirosol, oleuropeína, oleosídeo, verbascosídeo, entre outros. A faixa da capacidade de reduzir o reagente Folin-Ciocalteau, encontra-se na faixa de 10 a 50 mg equivalentes a ácido gálico por grama de bagaço seco.

[0089] O nanocarreador descrito na presente invenção é um sistema nanoestruturado do tipo vesícula lipídica. As vesículas estão dispersas em solução aquosa, apresentando diâmetro médio de partícula entre 100 e 400 nm. O nanocarreador possui características biodegradáveis e biocompatíveis e são capazes de incorporar os compostos hidrofílicos extraídos do bagaço da oliva.

[0090] Vesículas lipídicas nanoestruturadas são compostas de moléculas anfifílicas que se associam em forma de uma camada dupla, podendo, por vezes formarem mais de uma bicamada, e que apresentam partículas de diâmetro médio nanométrico ou submicrométrico. Geralmente, as interfaces externas e

internas destas vesículas lipídicas possuem um carácter hidrofílico, as regiões entre as lamelas nas vesículas, os domínios lipofílicos estão situados entre as camadas duplas.

[0091] Para fins de delimitação do presente pedido, o termo vegano se refere a ausência de produtos de origem animal na composição do nanocarreador. Adicionalmente, o emprego deste termo na qualificação do nanocarreador compreende ainda a ausência de ensaios ou testes desta composição utilizando animais de qualquer espécie.

[0092] Ainda para fins de delimitação do presente pedido, o termo natural se refere a ingredientes ou componentes cuja composição molecular é composta por pelo menos 50% de materiais de origem natural, conforme definido pela ISO 16128-2. Da mesma forma, o termo de origem natural se refere a ingredientes que são obtidos apenas de plantas, cogumelos, algas, animais, microrganismos ou minerais, incluindo os obtidos a partir destes materiais por processos físicos e extração utilizando solventes naturais, de acordo com a norma ISO 16128-2.

[0093] Diferente dos nanocarreadores convencionais, o nanocarreador de origem natural da presente invenção é produzido a partir de ingredientes de origem natural e ambientalmente sustentáveis e sem o uso de solventes tóxicos. A composição deste nanocarreador vesicular vegano compreende o extrato vegetal sustentável do bagaço da oliva obtido a partir do processo de extração descrito na presente invenção, junto a fosfolipídeos vegetais, emulsionantes de origem vegetal, compostos vegetais triperpênicos ou esteróis vegetais, solventes de origem natural, conservantes de origem natural e água.

[0094] Os fosfolipídeos que compõem o nanocarreador podem ser fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina e fosfatidilglicerol.

[0095] Os fosfolipídeos desempenham um papel fundamental na composição estrutural da bicamada das vesículas lipídicas formando vesículas semelhantes às encontradas nas membranas celulares. A presença dos fosfolipídeos nas bicamadas confere às vesículas certa flexibilidade e a capacidade de fundir-se

com membranas celulares. A combinação de fosfolipídios com compostos ou extratos vegetais pode contribuir para melhorar o transporte e a liberação de compostos além de um aumento da sua biodisponibilidade e interação com o tecido cutâneo.

[0096] Os emulsionantes de origem vegetal podem ser: estearato de glicerila, glicosídeo de cetearila, ácido esteárico, poliglyceril-3 diisostearato, álcool cetoestearílico e álcool estearílico, ácido láurico e laurato de sorbitano, monopalmitato de sorbitano, olivato de cetearila, olivato de sorbitano e suas misturas.

[0097] Os emulsionantes são utilizados com o intuito de promover a manutenção da estabilidade do nanocarreador vegetal, pois se posicionam nas interfaces entre as camadas de fosfolipídeos na bicamada, evitando a aglutinação e a fusão prematura das vesículas lipídicas. Os emulsionantes naturais contribuem para a composição do nanocarreador natural, podendo também contribuir para a melhora da textura e viscosidade da solução de nanocarreador. Os emulsificantes contribuem para a estabilidade coloidal das vesículas lipídicas, ajudando a evitar a coalescência ou a separação das fases.

[0098] Os compostos naturais triterpênicos que podem ser empregados na produção do nanocarreador são o ácido ursólico, esqualano, ácido oleanólico, ácido betulínico, lupeol, ácido maslínico, ácido ciclopeptídeo, ácido alfa-amirina e ginsenosídeos. Ainda podem ser utilizados esteróis vegetais para compor o nanocarreador da presente invenção, como o hidrocarboneto esqualano que é derivado do óleo de olivas, ou ainda outros fitoesteróis como o betasitosterol, sitosterol, campesterol ou estigmasterol.

[0099] Os sistemas nanoestruturados vesiculares podem ter sua estabilidade física melhorada pela adição de esteróis vegetais ou compostos tripterpênicos, que podem contribuir na fluidez e na composição de sua bicamada e tornando-a mais resistente.

[0100] Os solventes podem ser 1,3-propanediol, glicerina vegetal, sorbitol ou água. Os solventes que podem ser empregados para a preparação do

nanocarreador são não tóxicos e considerados solventes verdes, com alta biocompatibilidade.

[0101] Os solventes auxiliam no desenvolvimento do nanocarreador, podendo contribuir para a organização dos constituintes da solução de nanocarreador. Os solventes naturais podem desempenhar outras funções como potencializar os conservantes.

[0102] O conservante pode ser uma composição de álcool benzílico, ácido benzóico, ácido sórbico, benzoato de sódio, sorbato de potássio, ácido salicílico, caprilato de glicerila, propanediol, undecilenato de glicerila, extratos vegetais, óleos essenciais, água e suas misturas.

[0103] Os conservantes ajudam a prolongar a vida útil da suspensão de nanocarreadores naturais, prevenindo ou retardando a contaminação microbiana, contribuindo para a manutenção de sua qualidade e garantindo sua segurança. A adição de conservantes naturais na suspensão de nanocarreadores apresenta vantagens frente aos conservantes sintéticos, como maior aceitação dos consumidores, menor potencial de irritação, são muitas vezes derivados de fontes renováveis e ainda são passíveis de integrar produtos adequados para certificações.

[0104] A água utilizada pode ser de osmose reversa, destilada ou deionizada.

[0105] O processo de produção do nanocarreador consiste em preparar duas fases, uma oleosa e outra fase aquosa, aquecidas separadamente, que passam por processo de emulsificação a partir de um processo doador de energia que pode ser aquecimento, agitação, ultrassonicação, homogeneização a alta pressão ou ainda a associação destes métodos.

[0106] A composição do nanocarreador da presente invenção é constituída por ingredientes de origem natural, veganos e compatíveis com a pele. Seu processo de preparação é simples e facilmente escalável, excluindo o uso de ingredientes tóxicos, apresentando-se como uma composição aprimorada de sistemas nanoestruturados.

[0107] O extrato obtido a partir do processo apresentado nesta invenção demonstra atividades biológicas com destaque para a atividade antioxidante, podendo ser aplicado em cosméticos, alimentos e produtos agropecuários. Esta atividade antioxidante também está relacionada à eficiência de recuperação dos bioativos do bagaço da oliva durante o processo extrativo.

[0108] Com o objetivo de demonstrar a eficiente recuperação dos bioativos do bagaço da oliva no processo aqui descrito, diferentes composições de solventes, diferentes tempos de extração, e diferentes razões sólido-líquido foram testadas. A quantidade de compostos redutores totais que está relacionada à presença de compostos fenólicos, os quais são responsáveis pelas atividades biológicas, foram analisados pelo método da capacidade de reduzir o reagente Folin-Ciocalteu de acordo com a metodologia descrita por Waterhouse (2001), e seus resultados estão demonstrados na tabela 1. A tabela 1 apresenta extratos do bagaço da oliva obtidos sob diferentes condições extrativas dentro das apresentadas no presente pedido de prioridade de invenção.

Tabela 1. Análise da capacidade de reduzir o reagente Folin-Ciocalteau dos extratos do bagaço da oliva

Extrato	**Compostos redutores de Folin-Ciocalteau (mg EAG/g)**
Extrato do bagaço da oliva-1	14,9 ± 0,5 $^{c, d}$
Extrato do bagaço da oliva-2	22,0 ± 0,9 ^{b}
Extrato do bagaço da oliva-3	29,0 ± 1,3 ^{a}
Extrato do bagaço da oliva-4	19,8 ± 1,4 $^{b, c}$
Extrato do bagaço da oliva-5	33,0 ± 5,7 ^{a}
Extrato do bagaço da oliva-6	14,3 ± 0,4 $^{c, d}$

Legenda: Resultados expressos em miligrama equivalente a ácido gálico por grama de bagaço seco. Análise estatística feita por ANOVA seguida por teste Tukey (p=0,05). Dados expressos por média ± desvio padrão (DP). Médias seguidas pelas mesmas letras dentro de uma linha não diferem pelo teste de Tukey.

[0109] Para a identificação dos compostos fenólicos foi realizada uma análise qualitativa da composição do extrato do bagaço da oliva, obtido através do processo descrito na presente invenção, por Cromatografia a Líquido de Ultra

Eficiência Acoplada a Espectroscopia de Massas de Alta Resolução (UHPLC-QqTOF-MS), baseada na metodologia descrita por Peralbo-Molina e colaboradores (2012). Foram identificados os compostos hidroxitirosol, tirosol, oleuropeína, verbascosídeo, oleosídeo, rutina, vanilina, p-HPEA-EA, loganina, entre outros. O cromatograma da análise por UHPLC-QqTOF-MS está demonstrado na figura 1.

[0110] A determinação dos compostos hidroxitirosol e oleuropeína no extrato do bagaço da oliva foi realizada em cromatografia líquida de alta eficiência com a técnica descrita por Habibi e colaboradores (2017). O teor de hidroxitirosol encontrou-se na faixa de 20 a 200 µg/mL, enquanto o teor de oleuropeína apresentou uma concentração entre 50 e 150 µg/mL. Os resultados apresentados neste documento evidenciam a eficiência da recuperação dos compostos de interesse do bagaço da oliva pelo processo produtivo desenvolvido na presente invenção.

[0111] A potencialidade de inibição de radicais livres, avaliada através da capacidade de desativar o radical ABTS•+ (metodologia descrita por Re e colaboradores, 1999) de diferentes composições de extrato do bagaço da oliva, segundo o processo extrativo descrito estão apresentados na tabela 2 (extratos do bagaço da oliva obtidos sob diferentes condições extrativas dentro das apresentadas no presente pedido de prioridade de invenção).

Tabela 2. Capacidade de desativação do radical ABTS·+ do extrato do bagaço da oliva

Extrato	ABTS•+ **(µg ET/g)**
Extrato do bagaço da oliva-1	107,0 ± 1,5 ^{d}
Extrato do bagaço da oliva-2	126,1 ± 9,6 $^{b, c}$
Extrato do bagaço da oliva-3	142,8 ± 3,9 ^{a}
Extrato do bagaço da oliva-4	117,8 ± 0,2 $^{b, c, d}$
Extrato do bagaço da oliva-5	128,0 ± 0,4 ^{b}
Extrato do bagaço da oliva-6	78,6 ± 3,3 ^{e}

Legenda: Resultados expressos em capacidade de desativar o radical ABTS equivalente a Trolox® por grama de bagaço de oliva seco. Análise estatística feita por ANOVA seguida por teste Tukey (p=0,05). Dados expressos por média ± desvio padrão (DP). Médias seguidas pelas mesmas letras dentro de uma linha não diferem pelo teste de Tukey.

[0112] A capacidade antioxidante do extrato obtido através do processo apresentado na presente invenção foi também analisada pela desativação do radical DPPH•, de acordo com Gonzales e colaboradores (2021). Para fins de comparação, nesta análise foi utilizado outros antioxidantes: butilhidroxitolueno (BHT) e acetato de tocoferol, ingredientes amplamente empregados em produtos cosméticos, alimentícios e agropecuários. Os resultados a seguir estão demonstrados como IC_{50} de cada antioxidante analisado, de forma que quanto maior é o IC_{50}, menor é a atividade antioxidante. Os resultados estão expostos na tabela 3. Ressalta-se que o BHT é de origem sintética e o acetato de tocoferol pode ser obtido de fontes naturais.

Tabela 3. Capacidade antioxidante pela desativação do radical DPPH do extrato vegetal do bagaço da oliva, hidroxittolueno butilado (BHT) e Acetato de tocoferol.

Antioxidante	**IC_{50} (µg/mL)**
BHT	84,80
Acetato de tocoferol	49107,98
Extrato do bagaço da oliva	4433,78

Legenda: Resultados apresentados em IC_{50}, concentração necessária para reduzir a absorbância do controle em 50% (para os extratos do bagaço da oliva, resultados em microgramas de ativos por mililitros) pelo método de desativação do radical DPPH.

[0113] A comparação direta do extrato do bagaço da oliva com acetato de tocoferol em diferentes concentrações demonstra claramente seu potencial antioxidante, conforme demonstrado abaixo na tabela 4.

Tabela 4. Análise da capacidade antioxidante do Extrato do bagaço da oliva e do Acetato de tocoferol através da inibição do radical DPPH.

Concentrações	**EXT. OLIVA**	**Acetato de tocoferol**
50 µg/mL	0,65 ± 0,01%	Não houve atividade
100 µg/mL	1,23 ± 0,01%	Não houve atividade
500 µg/mL	5,48 ± 0,02%	Não houve atividade
1000 µg/mL	11,29 ± 0,02 %	Não houve atividade
2500 µg/mL	26,60 ± 0,02 %	0,98 ± 0,01%
5000 µg/mL	55,07 ± 0,02%	4,17 ± 0,01%
7500 µg/mL	80,28 ± 0,01%	10,07 ± 0,01%

10000 µg/mL	91,33 ± 0,01%	10,23 ± 0,01%
15000 µg/mL	91,65 ± 0,01%	17,35 ± 0,01%
20000 µg/mL	92,31 ± 0,01%	26,10 ± 0,01%

Legenda: Resultados apresentados em porcentagem de inibição do radical DPPH•. Dados expressos em média ± desvio padrão.

[0114] Outro método de determinação de capacidade antioxidante utilizado foi através do ensaio de oxidação do betacaroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoleico (método betacaroteno/ ácido linoleico), baseada nas metodologias de Paim e colaboradores (2018). O extrato do bagaço da oliva foi comparado com acetato de tocoferol, que é o padrão-ouro para este ensaio (figura 2). Os resultados encontrados mostraram capacidade de proteção oxidativa frente ao sistema betacaroteno/ ácido linoleico (figura 3). O extrato do bagaço de oliva obtido através do presente processo extrativo pode apresentar atividade antioxidante superior ao acetato de tocoferol, ingrediente comumente utilizado em cosméticos, podendo substituí-lo com eficácia (figura 2).

[0115] A atividade antioxidante do extrato do bagaço de oliva foi avaliada em veículo cosmético através da desativação do radical DPPH•. Neste contexto, foram preparadas uma emulsão base sem o ingrediente ativo (extrato do bagaço de oliva), para ser utilizada como controle, uma emulsão com 1% de extrato do bagaço da oliva e outra emulsão contendo 1% de acetato de tocoferol. Em análise visual macroscópica, foi verificado que a adição do extrato obtido pelo processo da presente invenção não modificou o aspecto visual da emulsão, demonstrando sua aplicabilidade em veículo cosmético (figura 4). A adição do extrato do bagaço da oliva aumentou significativamente (17%) a atividade antioxidante do veículo cosmético, apresentando um valor de inibição do radical de 84%, sendo significativamente maior quando comparada a amostra que continha acetato de tocoferol (figura 5).

[0116] Os resultados obtidos demonstram que o uso do extrato obtido a partir do processo da presente invenção tem elevada atividade antioxidante, podendo

substituir o uso do acetato de tocoferol e outros antioxidantes em produtos cosméticos, alimentícios e agropecuários.

[0117] A composição de nanocarreador natural descrita na presente invenção também apresenta atividade antioxidante podendo ser usado em produtos cosméticos, alimentícios e agropecuários.

[0118] A capacidade de desativar o radical ABTS•+ dos nanocarreadores descritos neste documento ficou na faixa entre 52,1 ± 0,3 e 31,6 ± 1,8 %.

[0119] O nanocarreador natural contendo o extrato do bagaço da oliva também foi avaliado frente ao radical DPPH• e demonstram o potencial antioxidante deste nanocarreador (tabela 5). Na referida tabela EBO1 e EBO3 referem-se a nanocarreadores preparados com diferentes concentrações de extrato de bagaço de oliva.

Tabela 5. Avaliação da capacidade de desativar o radical DPPH• de diferentes concentrações do nanocarreador vesicular vegano contendo o extrato do bagaço da oliva.

Concentrações	Nanocarreador EBO1	Nanocarreador EBO3
250 mg/mL	14,4 ± 0,01%	25,8 ± 0,03%
375 mg/mL	23,4 ± 0,00%	23,7 ±0,04%
500 mg/mL	28,9 ± 0,01%	48,8 ± 0,05%
750 mg/mL	37,2 ± 0,01%	69,0 ± 0,03%
1000 mg/mL	-	63,4 ± 0,00%

Legenda: Resultados apresentados em Porcentagem (%) de desativação do radical DPPH•. Dados expressos em média ± desvio padrão. EBO= Extrato do bagaço da oliva.

[0120] O nanocarreador natural descrito na presente invenção foi testado frente ao sistema beta-caroteno/ ácido linoleico, com o objetivo de avaliar a sua capacidade em inibir os radicais livres, gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. A concentração de nanocarreadores contendo o extrato do bagaço da oliva empregado neste ensaio foi de 1000 mg/mL. A capacidade de proteção do sistema betacaroteno/ ácido linoleico demonstrada pelos nanocarreadores naturais testados se encontra demonstrado na tabela 6, abaixo.

Tabela 6. Avaliação da capacidade antioxidante pelo sistema beta-caroteno/ ácido linoleico do nanocarreador vesicular vegano contendo o extrato do bagaço da oliva e nanocarreador vesicular branco.

Nanocarreador	Proteção ao sistema beta-caroteno/ ácido linoleico (%)
Nanocarreador EBO1	79,9 ± 0,0
Nanocarreador EBO3	59,0 ± 0,0

Legenda: Resultados apresentados em procentagem (%) de proteção ao sistema beta-caroteno/ ácido linoleico. Dados expressos em média ± desvio padrão. EBO= Extrato do bagaço da oliva.

[0121] O uso do extrato do bagaço da oliva obtido pelo processo descrito na presente invenção e do nanocarreador natural contendo este extrato pode ocorrer pela sua incorporação em diferentes tipos de formulações cosméticas, como emulsões, géis, cremes, pomadas, séruns, dentre outras.

[0122] O uso do extrato e do nanocarreador compreende sua incorporação em formulações cosméticas nas concentrações de 0,1 até 3,5%.

[0123] O potencial de estimular a proliferação e renovação celular do extrato do bagaço da oliva e do nanocarreador vesicular vegano foi avaliado através de células humanas da epiderme e da derme. Foi observado que o extrato do bagaço da oliva estimulou a proliferação de queratinócitos humanos da epiderme com aumento da viabilidade celular. O nanocarreador natural estimulou a proliferação de queratinócitos humanos da epiderme e de fibroblastos humanos da derme com aumento da viabilidade celular.

[0124] O uso do extrato e do nanocarreador compreende sua incorporação em produtos alimentícios e agropecuários nas concentrações de 0,1 até 10%.

CONCRETIZAÇÕES DA INVENÇÃO

[0125] O processo de obtenção do extrato do bagaço da oliva da presente invenção resulta em uma composição que demonstra atividades multifuncionais com potencial aplicações em setores como cosmético, alimentício e agropecuário.

[0126] Numa concretização preferencial, o processo de obtenção do extrato aqui reivindicado é preparado através de plataforma produtiva de baixo custo energético, composta por uma etapa de coleta e tratamento da amostra e sequencialmente por uma etapa extrativa. O tratamento do bagaço da oliva consiste em um protocolo de coleta com o objetivo de preservar as características dos bioativos para melhorar a eficiência de extração dos mesmos. A etapa extrativa é constituída pelo método sólido-líquido em condições controladas.

[0127] Numa concretização preferencial, o extrato do bagaço da oliva obtido pelo processo apresentado na presente invenção é um líquido viscoso, de cor dourada a marrom, odor característico e miscível em água. A densidade absoluta do extrato do bagaço da oliva obtido pelo dito processo é de cerca de 1,100 a 1,117 g/mL. O pH do extrato em questão situa-se na faixa entre 4,0 a 7,0, dependendo da matriz e do solvente utilizado no processo extrativo.

[0128] Numa concretização preferencial, a formulação do nanocarreador natural desenvolvido na presente invenção se apresenta na forma líquida, com aspecto translúcido e aparência levemente leitosa.

[0129] Numa concretização preferencial, o nanocarreador é composto por 0,20% a 2,0% de fosfolipídeos de soja com 70% de fosfatidilcolina, 0,20% a 2,0% de olivato de cetearila, olivato de sorbitano, 0,05% a 0,8% de esteróis vegetais, 1,0 a 7,0% de 1,3-propanediol, propanediol ou de glicerina vegetal, 0,1 a 10,0% de extrato do bagaço da oliva proveniente do processo de extração da presente invenção, 0,1 a 5,0% de conservante e água qsp 100%.

[0130] As características físico-químicas da formulação dos nanocarreadores se encaixam preferencialmente em uma faixa de pH de 4,5 e 6,5 mV. Já o diâmetro médio de partícula se encontra entre 100 e 400 nm. Em uma concretização preferencial, o nanocarreador desenvolvido na presente invenção possui oleuropeína e hidroxitirosol entre outros compostos fenólicos derivados do bagaço da oliva.

[0131] Numa concretização preferencial, o extrato do bagaço da oliva obtido pelo processo descrito na presente invenção e o nanocarreador natural contendo este extrato podem ser incorporados em uma emulsão cosmética na concentração de 3,5%.

[0132] As maneiras de executar esta invenção não estão restritas aos exemplos aqui descritos.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo sustentável de obtenção de extrato vegetal obtido a partir do bagaço da oliva caracterizado pelas etapas de coleta após a obtenção do bagaço, secagem, moagem e extração dos compostos fenólicos do bagaço sem o uso de solventes tóxicos.
2. Processo sustentável de obtenção de extrato vegetal obtido a partir do bagaço da oliva de acordo com a reivindicação 1 caracterizada por um protocolo de coleta que visa ao imediato recolhimento do bagaço após o processo de produção do azeite de oliva e seu acondicionamento refrigerado.
3. Processo sustentável de obtenção de extrato vegetal obtido a partir do bagaço da oliva de acordo com a reivindicação 1 ou 2 caracterizado por efetuar a secagem em liofilizador ou estufa.
4. Processo sustentável de obtenção de extrato vegetal obtido a partir do bagaço da oliva de acordo com a reivindicação 3 caracterizado por efetuar a secagem em liofilizador utilizando entre -40 a -50 °C de temperatura de condensador durante o período de 24 a 96 horas.
5. Processo sustentável de obtenção de extrato vegetal obtido a partir do bagaço da oliva de acordo com a reivindicação 3 caracterizado por efetuar a secagem em estufa, em temperatura de 30 a 55 °C, por 8 a 18 horas.
6. Processo sustentável de obtenção de extrato vegetal obtido a partir do bagaço da oliva de acordo com a reivindicação 4 ou 5 caracterizado pela etapa da moagem do bagaço para alcançar partículas entre 400 e 1000 mícrons.
7. Processo sustentável de obtenção de extrato vegetal obtido a partir do bagaço da oliva de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por apresentar razões sólido-líquido que podem variar de 1:5 até 1:30 (massa:volume).

8. Processo sustentável de obtenção de extrato vegetal obtido a partir do bagaço da oliva de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores caracterizado por utilizar solventes não tóxicos de origem natural tais como: 1,3-propanediol, glicerina vegetal, sorbitol, água ou qualquer combinação entre estes em diferentes proporções.

9. Processo sustentável de obtenção de extrato vegetal obtido a partir do bagaço da oliva de acordo com a reivindicação 8 caracterizado por utilizar agitação e temperatura constantes durante o processo de extração, entre 35 e 55 °C e período de tempo para a recuperação dos compostos de interesse entre 15 e 40 minutos.

10. Composição de um nanocarreador vesicular vegano de origem natural caracterizado por conter exclusivamente ingredientes veganos de origem natural e o extrato vegetal obtido de acordo com o processo de qualquer uma das reivindicações anteriores.

11. Composição de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que os ingredientes veganos de origem natural consistem em fosfolipídeos de origem natural, emulsionantes de origem vegetal, um composto vegetal triperpênico, esteróis vegetais, solventes de origem natural, conservante de origem natural e água.

12. Composição de acordo com a reivindicação 11, caracterizada pela combinação dos componentes: 0,40% a 1,2% em peso, de fosfatidilcolina, 0,40% a 1,2% em peso, de olivato de cetearila e olivato de sorbitano ou olivato de sorbitano, 0,1% a 0,3% em peso, de esqualano, 2 a 5% em peso, de 1,3-propanediol ou de glicerina vegetal, 0,1 a 0,5% em peso, de extrato do bagaço da oliva, 0,1 a 1% em peso, de uma mistura de álcool benzílico, benzoato de sódio e sorbato de potássio e água qsp.

13. Composição de acordo com a reivindicação 12, caracterizada por aceitar a substituição da fosfatidilcolina na sua composição por

fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina e/ou fosfatidilglicerol.

14. Composição de acordo com a reivindicação 12, caracterizada por aceitar a substituição de emulsionantes de origem natural olivato de cetearila e olivato de sorbitano pelos emulsionantes de origem natural: olivato de sorbitano, estearato de glicerila, glicosídeo de cetearila, ácido esteárico, poligliceril-3 diisostearato, álcool cetoestearílico e álcool estearílico, ácido láurico, laurato de sorbitano e monopalmitato de sorbitano.

15. Composição de acordo com a reivindicação 12, caracterizada por aceitar a substituição de esqualano por outros compostos de origem natural triterpênicos ou esteróis de origem vegetal: ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido betulínico, lupeol, ácido maslínico, ácido ciclopeptídeo, ácido alfa-amirina, ginsenosídeos, betasitosterol, sitosterol, campesterol e/ou estigmasterol.

16. Composição de acordo com a reivindicação 12, caracterizada por aceitar a substituição de solvente de origem natural 1,3-propanediol na sua composição por solventes de origem natural: glicerina vegetal, sorbitol e/ou água.

17. Composição de acordo com a reivindicação 12, caracterizada por aceitar a substituição da mistura de álcool benzílico, benzoato de sódio, sorbato de potássio e água por: ácido benzóico, ácido sórbico, ácido salicílico, caprilato de glicerila, propanediol, undecilenato de glicerila, extratos vegetais, óleos essenciais e suas misturas.

18. Uso do extrato de bagaço da oliva obtido de acordo com o processo descrito em qualquer uma das reivindicações de 1 a 9 caracterizado por sua incorporação em produtos cosméticos, alimentícios e agropecuários.

19. Uso da composição de um nanocarreador vesicular vegano de origem natural contendo o extrato do bagaço da oliva de acordo com qualquer

uma das reivindicações de 10 a 17 caracterizado por sua incorporação em produtos cosméticos, alimentícios e agropecuários.

FIGURAS

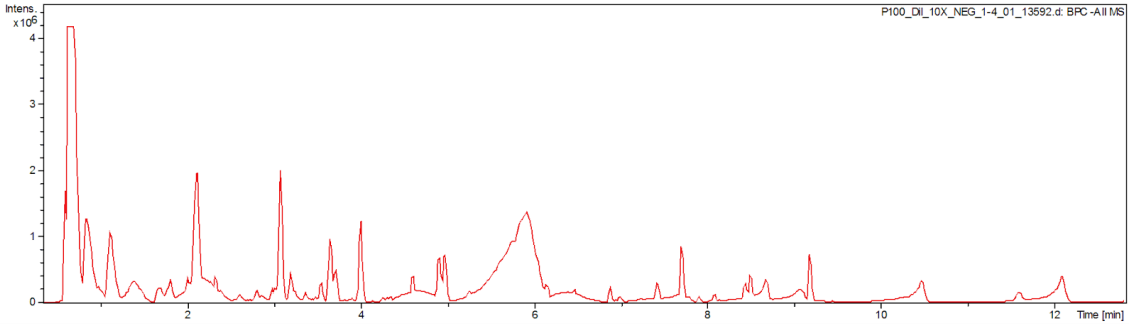


Figura 1

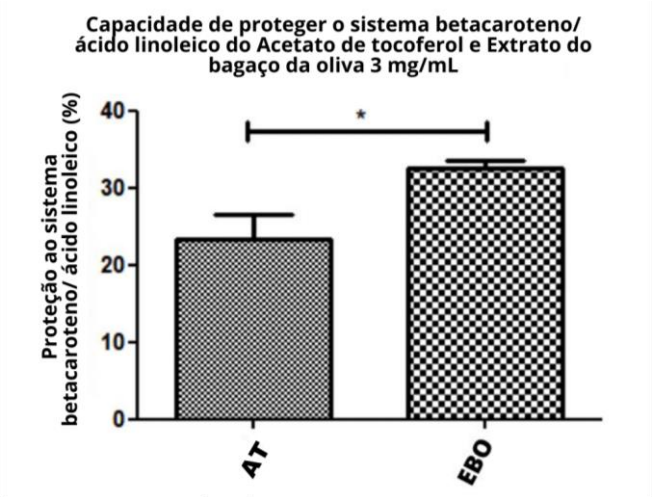


Figura 2

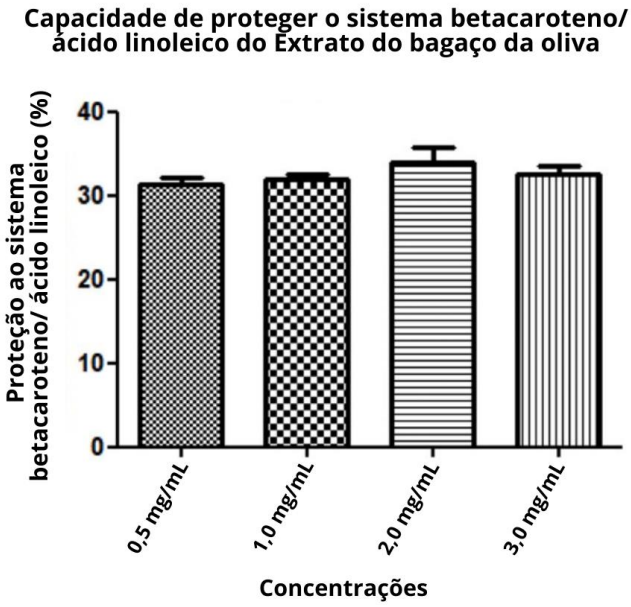


Figura 3



Figura 4

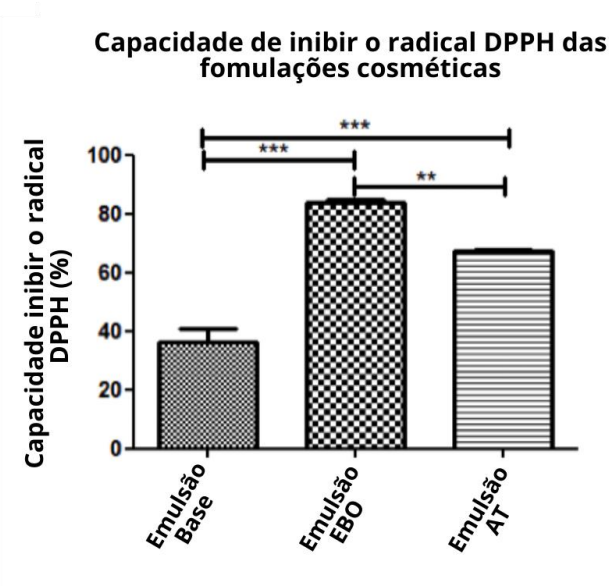


Figura 5

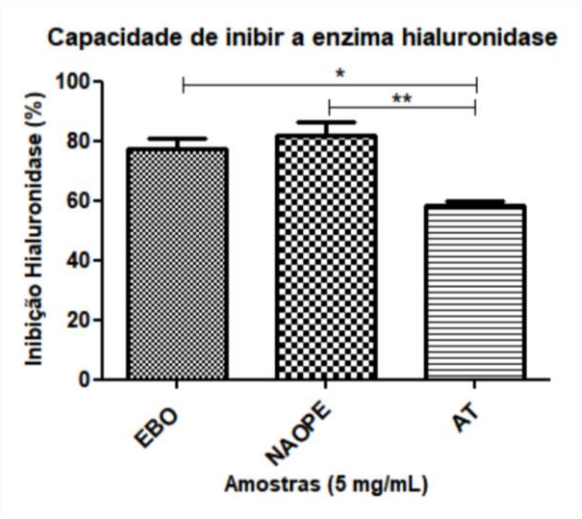


Figura 6

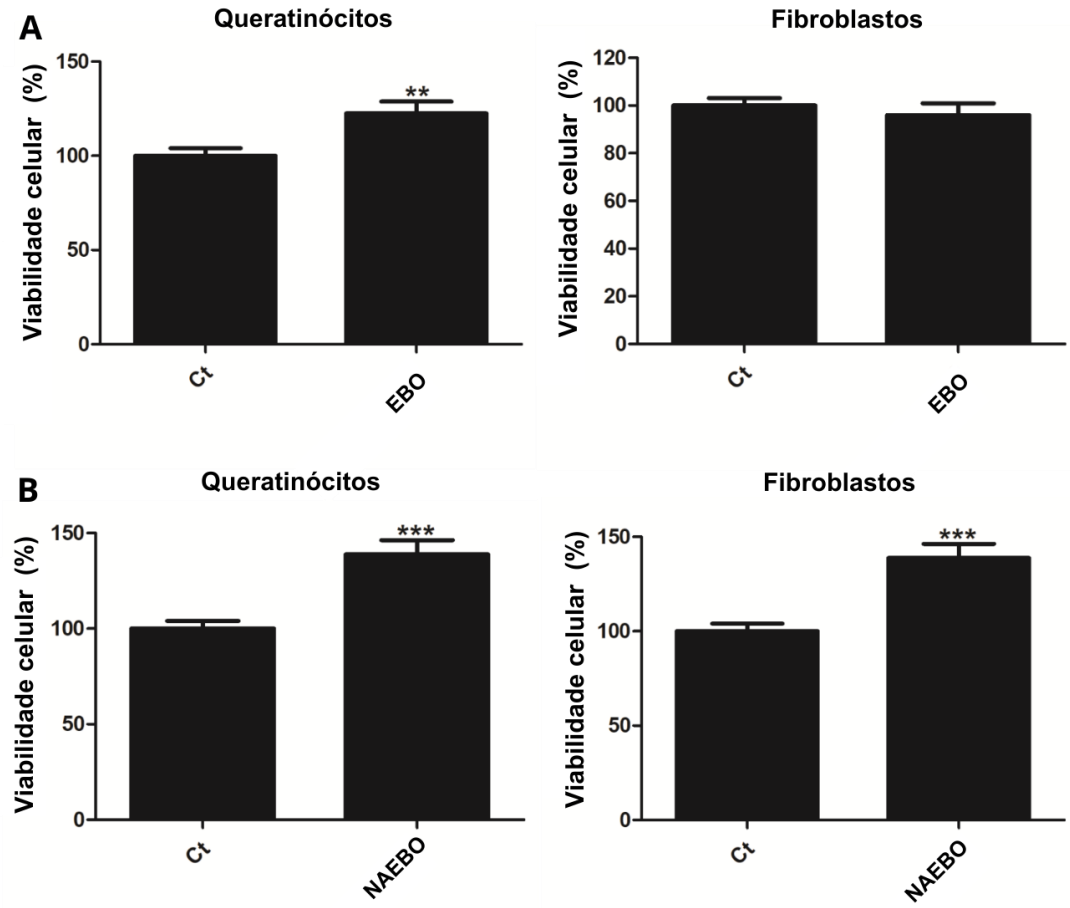

A
Queratinócitos
Viabilidade celular (%)
150
100
50
0
**
Ct
EBO
Fibroblastos
Viabilidade celular (%)
120
100
80
60
40
20
0
Ct
EBO
B
Queratinócitos
Viabilidade celular (%)
150
100
50
0
***
Ct
NAEBO
Fibroblastos
Viabilidade celular (%)
150
100
50
0
***
Ct
NAEBO

Figura 7

RESUMO

PROCESSO SUSTENTÁVEL DE OBTENÇÃO DE EXTRATO VEGETAL A PARTIR DO BAGAÇO DA OLIVA, COMPOSIÇÃO DE UM NANOCARREADOR VESICULAR VEGANO DE ORIGEM NATURAL CONTENDO ESTE EXTRATO E O USO COSMÉTICO, ALIMENTÍCIO E AGROPECUÁRIO DESTE EXTRATO E DESTA COMPOSIÇÃO

A presente invenção refere-se ao processo produtivo sustentável para a extração dos compostos fenólicos bioativos do bagaço da produção do azeite de oliva. Refere-se também à composição de um nanocarreador vesicular de origem natural contendo o extrato obtido pelo processo citado anteriormente e componentes de origem natural e os usos cosmético, alimentício e agropecuário do extrato vegetal sustentável do bagaço da oliva e do nanocarreador natural. A invenção aqui descrita tem por objetivo o desenvolvimento de processos e produtos envolvendo a obtenção de ingredientes naturais de fontes renováveis, contendo bioativos da oliva, em especial os compostos fenólicos, com atividades biológicas expressivas, alcançando bioativos estáveis e seguros para utilização em produtos cosméticos, alimentícios e agroindustriais. O processo produtivo desenvolvido é sustentável, sem o uso de solventes tóxicos, reduzindo, desta forma, os impactos ambientais negativos.