WIPO
WORLD
INTELLECTUAL PROPERTY
ORGANIZATION

DOCUMENT MADE AVAILABLE UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

International application number:		**PCT/BR2013/000130**
International filing date:		**19 April 2013 (19.04.2013)**
Document type:		**Certified copy of priority document**
Document details:	Country/Office:	**BR**
	Number:	**BR102012009761-3**
	Filing date:	**26 April 2012 (26.04.2012)**
Date of receipt at the International Bureau:		**28 February 2014 (28.02.2014)**

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a),(b) or (b-*bis*)

34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland
www.wipo.int

PCT/BR2013/000130

REPUBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
Ministério do Desenvolvimento, da Indústria e Comércio Exterior.
Instituto Nacional da Propriedade Industrial
Diretoria de Patentes

CÓPIA OFICIAL

PARA EFEITO DE REIVINDICAÇÃO DE PRIORIDADE

O documento anexo é a cópia fiel de um Pedido de Patente de Invenção Regularmente depositado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial, sob. Número BR 102012009761 3 de 26/04/2012.

Rio de Janeiro, 19 de Fevereiro de 2014.

Oscar Paulo Bueno
Chefe do SECOD
Mat. 0449117

PCT/BR2013/000130

< Uso exclusivo do INPI >

INPI INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL PROTOCOLO GERAL

Inservio 012120000204
26/04/2012 15:39 DEDF

BR 10 2012 009761 3

Espaço reservado ao protocolo

Espaço para etiqueta

DEPÓSITO DE PEDIDO DE PATENTE OU DE CERTIFICADO DE ADIÇÃO

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:
O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas

1. Depositante (71):

1.1 Nome: EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA

1.2 Qualificação EMPRESA PÚBLICA

1.3 CNPJ/CPF: 00348003000110

1.4 Endereço Completo EMBRAPA ED.SEDE-PQEB-W3 NORTE FINAL-ASA NORTE-BRASÍLIA-DF

1.5 CEP: 70770-901 1.6 Telefone: 61-3448-4545 1.7 Fax: 61-3448-4158

1.8 E-mail: chefia.sne@embrapa.br

☒ continua em folha anexa

2. Natureza: ⦿ Invenção ○ Modelo de Utilidade ○ Certificado de Adição

Escreva, obrigatoriamente, e por extenso, a Natureza desejada: Pedido de Patente de Invenção

3. Título da Invenção ou Modelo de Utilidade ou Certificado de Adição(54):

PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE EXTRATO OBTIDO A PARTIR DE RESÍDUOS DE PSEUDOFRUTO DE CAJU E PRODUTO DE ELEVADO TEOR DE CAROTENOIDES

☐ continua em folha anexa

4. Pedido de Divisão: do pedido Nº Data de Depósito:

5. Prioridade: ☐ interna ☐ unionista

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

País ou organização de origem	Número de depósito	Data do depósito

6. Inventor (72):

☐ Assinale aqui se o(s) mesmo(s) requer(em) a não divulgação de seu(s) nome(s)

6.1 Nome: FERNANDO ANTÔNIO PINTO DE ABREU

6.2 Qualificação ENG. DE ALIMENTOS, PESQUISADOR 6.3 CPF: 218.579.033-15

6.4 Endereço completo AV.GOV PARSIFAL BARROSO,300,APT901,BAIRRO PRESIDENTE KENNEDY

6.5 CEP: 60355-639 6.6 Telefone: 85-3478-1758 6.7 Fax: -

6.8 E-Mail: abreu@cnpat.embrapa.br

☒ continua em folha anexa

7. Declaração na forma do item 3.2 do Ato Normativo nº 127/97:

☐ 7.1 Declaro que os dados fornecidos no presente formulário são idênticos ao da certidão de depósito ou documento equivalente do pedido cuja prioridade está sendo reivindicada.

☐ em anexo

8. Declaração de divulgação anterior não prejudicial: (Período de Graça):
(art. 12 da LPI e item 2 do AN nº 127/97) ☐ em anexo

9. Procurador (74)

9.1 Nome: SIBELLE DE ANDRADE SILVA

9.2 CNPJ/CPF: 068.805.616-40 9.3 API/OAB: -

9.4 Endereço completo EMBRAPA ED.SEDE-PQEB-W3 NORTE FINAL-ASA NORTE-BRASÍLIA-DF

9.5 CEP: 70770-901 9.6 Telefone: 61-3448-4545 9.7 Fax: 61-3448-4158

9.8 E-Mail: sibelle.silva@embrapa.br

10. Listagem de sequências Biológicas (documentos anexados) (se houver):

☐ Listagem de sequências em arquivo eletrônico: nº de CDs ou DVDs (original e cópia).

☐ Código de controle alfanumérico no formato de código de barras: fl.

☐ Listagem de sequências em formato impresso: fls.

☐ Declaração de acordo com o artigo da Resolução INPI nº 228/09: fls.

11. Documentos anexados (assinale e indique também o número de folhas):
(Deverá ser indicado o nº total de somente uma das vias de cada documento)

☒	11.1 Guia de Recolhimento	1 fls.	☒	11.5 Relatório descritivo	23 fls.
☒	11.2 Procuração	2 fls.	☒	11.6 Reivindicações	2 fls.
☐	11.3 Documentos de Prioridade	fls.	☒	11.7 Desenhos	8 fls.
☐	11.4 Doc. de contrato de trabalho	fls.	☒	11.8 Resumo	1 fls.
☒	11.9 Outros que não aqueles definidos no campo 11 (especificar) (i)GRU 2012GR800048;e Cópias não-autenticadas das procurações dos titulares: (ii)CIRAD e (iii)MONTPELLIER SUPAGRO.				3 fls.

12. Total de folhas anexadas (referentes aos campos 10 e 11): 40 fls.

13. Declaro, sob penas da Lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

BRASÍLIA-DF, 26 DE ABRIL DE 2012.
Local e Data

Sibelle de Andrade Silva
Assinatura e Carimbo

Sibelle de Andrade Silva
Matrícula: 355088
Secretaria de Negócios

ANEXO _ DEPOSITANTE 2/4:

1) NOME: **CENTRE DE COOPÉRATION INTERNATIONALE EN RECHERCHE AGRONOMIQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT (CIRAD).**
2) QUALIFICAÇÃO: instituição francesa de ensino e pesquisa.
3) CNPJ: N/A. (SIRET 331 596 270 00016).
4) ENDEREÇO: 42, rue Scheffer, F-75016, Paris, France.
5) TELEFONE: +33 (0) 153 70 20 45.
6) FAX:+33 (0) 153 70 20 34.
7) E-MAIL: gerard.matheron@cirad.fr

ANEXO _ DEPOSITANTE 3/4:

1) NOME: **CENTRE INTERNATIONAL D'ÉTUDES SUPERIEURES EN SCIENCES AGRONOMIQUES (MONTPELLIER SUPAGRO).**
2) QUALIFICAÇÃO: instituição francesa de ensino e pesquisa.
3) CNPJ: N/A.
4) ENDEREÇO: 2, place Pierre Viala, 34060, Montpellier, France.
5) TELEFONE:+33 (0) 4 99 61 22 00.
6) FAX: +33 (0) 4 99 61 29 00.
7) E-MAIL: contact@supagro.inra.fr

ANEXO _ DEPOSITANTE 4/4:

1) NOME: **TORRES COMÉRCIO E PROCESSAMENTO DE PRODUTOS NATURAIS LTDA ME.**
2) QUALIFICAÇÃO: microempresa nacional.
3) CNPJ: 06.539.246/0001-24.
4) ENDEREÇO: Fazenda Córrego do Cipó, s/nº, Zona Rural, CEP 62.670-000, São Gonçalo do Amarante-CE, Brasil.
5) TELEFONE: (85) 3476-9545.
6) FAX: -.
7) E-MAIL: cajuinasabortropical@fortalnet.com.br.

ANEXO _ INVENTOR 2/6:

1. Nome: **Manuel Dornier**.
2. Qualificação: Engenheiro de Alimentos, professor e pesquisador do CIRAD.
3. CPF: N/A. Passaporte: 12AI37200.
4. Endereço: 85 allée du Bois du Prieur, F-34830, Clapiers, France.
5. CEP: 34830.
6. Telefone: +33 (0) 153 70 20 45.

ANEXO _ INVENTOR 3/6:

1. Nome: **Dominique Pallet**.
2. Qualificação: Engenheiro de alimentos, pesquisador do CIRAD.
3. CPF: N/A. Passaporte: 05AE58486.
4. Endereço: UMR QUALISUD 73 rue Jean-François Breton – TAB-95/16, F-34398, Montpellier, France.
5. CEP: 34398.
6. Telefone: +33 (0) 153 70 20 45.

ANEXO _ INVENTOR 4/6:

1. Nome: **Max Reynes.**
2. Qualificação: Tecnólogo agroalimentar, pesquisador do CIRAD.
3. CPF: N/A. Passaporte: 06PH54602.
4. Endereço: 1 plan Jean-Jean, F-30830, Clapiers, France.
5. CEP: 30830.
6. Telefone: +33 (0) 153 70 20 45.

ANEXO _ INVENTOR 5/6:

1. Nome: **Fabrice Vaillant.**
2. Qualificação: pesquisador do CIRAD.
3. CPF: N/A. Passaporte: 09PR29977.
4. Endereço: Condominio Monteran F-33-2, 3 km este casa Figuerez. Curridabat, 2060. Costa Rica.
5. CEP: 2060.
6. Telefone: (506) 25 11 35 96.

ANEXO _ INVENTOR 6/6:

1. Nome: **Fernando Cezar Torres Furlani.**
2. Qualificação: Engenheiro Mecânico, sócio da empresa Torres Comércio e Processamento de Produtos Naturais LTDA-ME.
3. CPF: 724.394.753-00.
4. Endereço: rua Santa, 105, casa 08, Bairro Lagoa Redonda, CEP 60831-265, FORTALEZA-CE, Brasil.
5. CEP: 60831-265.
6. Telefone: (85) 3476-9545.

Brasília-DF, 26 de abril de 2012.

Sibelle de Andrade Silva

Sibelle de Andrade Silva
Matricula: 355038
Secretaria de Negócios

Relatório Descritivo de Patente de Invenção: **"PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE EXTRATO OBTIDO A PARTIR DE RESÍDUOS DE PSEUDOFRUTO DE CAJU E PRODUTO DE ELEVADO TEOR DE CAROTENOIDES".**

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção se situa no campo de processos industriais para a extração e purificação de moléculas de interesse comercial, versando sobre a produção de extratos contendo carotenoides e outras substâncias de interesse a partir de resíduos do processamento de caju por meio de técnicas que envolvem prensagem, opcionalmente maceração enzimática e filtração (micro ou ultrafiltração), bem como diafiltração. O processo proposto pela tecnologia desenvolvida permite a produção de um extrato corante amarelo, produto que pode ser obtido a partir do resíduo industrial da produção de suco de caju em larga escala. Desta forma, este extrato concentrado e purificado de carotenoides do caju representa uma agregação de valor a um subproduto que todo o setor de alimentos necessita para suprir as demandas mundiais de corantes naturais. Geralmente, os corante amarelos usados no Brasil são de origem sintética e os amarelos naturais disponíveis apresentam uma coloração alaranjada, diferentemente do obtido por meio da presente tecnologia, que é amarelo brilhante claro, devido a sua composição de xantofilas, de coloração amarelo-claro predominantes.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Processos industriais para a extração e purificação de moléculas de interesse comercial, seja como corante, antioxidante ou como uma molécula de propriedades especificas para aplicação na alimentação e dieta humana têm sido alvo de inúmeros trabalhos em nível científico-acadêmico bem como de solicitações de pedidos de patentes em todo o mundo.

O documento de patente PI 0002359-0 aborda um processo de evaporação em alto vácuo e destilação para a extração e concentração de vitaminas e provitaminas lipossolúveis, dentre estas os carotenoides, a partir de materiais originados como subprodutos da industrialização de produtos vegetais e animais. Este documento do estado da técnica descreve um processo para a concentração de substâncias insaponificáveis, contendo vitaminas lipossolúveis e provitaminas, fatores de crescimento e hormônios vegetais e animais, denominados "produtos de valor", obtidos

a partir de produtos de origem animal ou vegetal, ou de resíduos da industrialização destes mesmos produtos, sem a necessidade de solventes. O processo compreende a extração e concentração dos denominados produtos por meio de evaporação/destilação, e, também a produção de ácidos graxos e outros ácidos orgânicos de alta qualidade, por meio da hidrólise dos resíduos obtidos da destilação/evaporação.

O documento de patente PI 0507797-4 descreve um processo e equipamento para diafiltração de sucos de fruta espessados. O produto a ser filtrado é submetido a um processo de filtração. É adicionado um primeiro fluxo de um fluido de lavagem (água) e um segundo fluxo de um permeato próprio do produto (fluxo conduzido de volta pelos meios de filtração utilizados), assim o fluxo de produto, antes da entrada no sistema de membranas é diluído pelo primeiro e segundo fluxos.

O documento de patente WO 2004094350 também descreve um método para extrair carotenoides de materiais vegetais utilizando extração com fluido supercrítico. Neste documento a extração com fluido supercrítico se processa em duas etapas. O primeiro extrato inclui a obtenção de β-caroteno; o segundo extrato pode ter uma concentração controlada de β-caroteno e inclui ainda quantidades substanciais de luteína.

Este processo (WO 2004094350) possui diferenças significativas do processo apresentado pela presente invenção, o qual não inclui nenhuma etapa com aquecimento nem criogenia, bem como se trata de uma massa de resíduo industrial fibroso oriundo da prensagem de pedúnculos de caju, não sofrendo, no entanto, nenhuma trituração e/ou inativação enzimática. O processo apresentado aborda de uma sequência de operações e processos unitários que, em conjunto visam à concentração e purificação de um extrato enriquecido em carotenoides sob condições brandas e que maximizem o rendimento e pureza do produto final. Por outro lado, o pedido de patente em análise trata da obtenção de um extrato purificado de carotenoides a partir da cenoura e outros legumes e frutas triturados e termicamente tratados para branqueamento. Neste caso é reivindicado um conjunto de operações e processos para a obtenção de uma massa enriquecida em carotenoides, principalmente o betacaroteno, fazendo-se inicialmente um aquecimento para a inativação enzimática (branqueamento), seguido de trituações sucessivas em diferentes malhas para se obter uma massa de fina granulometria para ser em seguida tratada por liquefação enzimática e liberação dos carotenoides em meio

aquoso. Na fase seguinte essa massa é tratada em membranas para uma pré-concentração e então filtrada com um ou dois volumes e água para eliminação de compostos hidrossolúveis. Ao final desta etapa de diafiltração a massa resultante é congelada e imediatamente descongelada para a concentração final dos carotenoides e a massa final é tratada por pasteurização flash para adquirir estabilidade microbiológica e bioquímica.

Assim, diferentemente da presente invenção, é descrito no documento em referência um sistema de trituração do material vegetal, tratando-o de forma agressiva ao conteúdo de interesse, salientando-se que os carotenoides são altamente sensíveis a temperaturas acima de 65 ^{0}C, mesmo em pH baixo como é indicado na descrição do mesmo. Além disso, diferentemente do mesmo documento, o presente pedido de patente não inclui aquecimento acima desta temperatura em nenhuma das etapas do processo em geral, visto que este procedimento degrada significativamente as moléculas de carotenoides e promove uma perda de qualidade do produto. Ademais, não há a necessidade no processo da presente invenção de uma crio-concentração, pois, o processo proposto pela presente invenção, que envolve a etapa de filtração em membranas microporosas, promove uma redução do volume em ate 30 vezes, sendo, portanto, mais eficiente.

Similarmente, o documento de patente PI 0605425-0 descreve um processo de extração e purificação em serie de substancias ativas e com capacidade corante a partir de matrizes solidas utilizando extração supercrítica com CO_2 para a produção de corantes a partir da bixina do urucum. O referido processo usa etapas de extração e purificação com uso de colunas de eluição e adsorção com extrator e fracionador montados em serie e podendo ser utilizado em serie ou em bateladas. Este processo usa solução aquosa como solvente, que ao final do processo é evaporado a temperaturas entre 30 e 700°C visando não degradar a bixina.

A recuperação de carotenoides mistos a partir de microalgas (*Dunaliella salina*) é descrito no documento de patente WO 98/28082. Neste documento é apresentado um processo onde as células colhidas são rompidas, circulando a suspensão de algas em altas pressões através de bombeamento vigoroso. As células podem ser desidratadas por meio de técnicas de absorção de bolha de separação, incluindo um circuito de flotação, que tem uma zona de desbaste e uma zona de concentração. Se uma maior concentração

de carotenoides é requerida, o concentrado de algas pode ser filtrado em uma unidade de microfiltração em fluxo tangencial, na ausência de agentes floculantes sem perdas de carotenoides no permeado.

O documento de patente PI 0006126-3 apresenta um processo de extração de carotenoides e outros antioxidantes a partir de tecidos vegetais previamente esmagados e incubados. As moléculas de interesse são recuperadas através de operações de precipitação e de tratamentos térmicos, principalmente aquecimento seguido de resfriamento rápido; dessa forma um extrato contendo carotenoides é recuperado na forma de um precipitado.

O documento de patente PI 0416795-3 tem como objeto um processo integrado para a extração e purificação de tocoferois, carotenoides e esteróis a partir de óleos vegetais através do uso de processos de esterificação alcoólica. O relatório da referida patente relata como uma das vantagens de uso deste processo a obtenção de um produto enriquecido e purificado, com ausência de fatores de decomposição substancial destes componentes de interesse, como são os açúcares que são eliminados na diálise.

Além dos documentos citados, o documento de patente PI 0103885-0 tem como objeto a produção de um extrato de bagaço de caju rico em pigmento, obtido por um processo compreendendo a umidificação do bagaço de caju residual da extração do suco, a prensagem da mistura resultante, a separação do extrato dos sólidos e concentração do mesmo por meio de operações de centrifugação e filtração.

O presente pedido de proteção representa um desenvolvimento da técnica apresentada no PI 0103885-0, de titularidade e autoria comuns ao presente, agregando-o com etapas essenciais à obtenção de um produto com mais qualidade e empregando tecnologias que permitem uma otimização contínua em seu processamento.

Dessa forma, ao contrário dos documentos do estado da técnica o presente desenvolvimento procura complementar a produção de um extrato bruto obtido a partir de resíduos de caju com novas tecnologias de processamento que envolvem a junção das etapas de prensagem, maceração enzimática e técnicas de filtração empregando membranas em etapas sequenciais específicas, para a produção de um extrato final concentrado e purificado apto ao emprego industrial e a partir do qual são isoladas diversas substâncias de interesse comercial, desde corantes a suplementos alimentares. Além disso, o estado da técnica não apresenta uma solução equivalente para o

processamento de extratos brutos de resíduos de caju e falha em descrever um processo sinérgico, tal como o apresentado pela presente invenção, em que o extrato de fruta ou resíduo passa por pré-tratamentos integrados, tal com a prensagem e maceração enzimática visando otimizar a obtenção de compostos de interesse ao final do processo associados aos processos de filtração e diafiltração finais, que geram um produto de pureza elevada.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção descreve um processo para concentração e purificação de extratos de carotenoides a partir das fibras de pedúnculos de caju para uso como corante natural amarelo com uso de membranas de microfiltração e diafiltração. O processo proposto ocorre sob condições controladas sem uso de qualquer solvente orgânico, envolvendo, opcionalmente, a pré-maceração das fibras de caju com uso de enzimas desagregadoras de estruturas celulares (pectinases, amilases, celulases e hemicelulases), que atuam sobre os tecidos fibrosos em combinação com prensagens controladas em ciclos sucessivos de extração aquosa. A concentração do extrato bruto obtido por maceração/prensagem é realizada à temperatura ambiente com uso de membranas cerâmicas de micro e/ou ultrafiltração em fluxo tangencial. O produto concentrado é então tratado por técnicas de diafiltração em membranas, eliminando-se grande parte dos componentes indesejáveis e que favorecem sua deterioração. O produto concentrado final possui potencial de aplicação como corante para alimentos de consumo humano e ração animal, sendo aplicável nas áreas de sucos e bebidas prontas para o consumo devido à considerável solubilidade em água. Estima-se, baseando-se nas propriedades de alguns carotenoides presentes no extrato final concentrado e purificado, que este material possui um potencial de aplicabilidade na área de suplementos alimentares como provitamina A e antioxidantes para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Figura 1: apresenta esquematicamente as etapas gerais do processo em um fluxograma. Os símbolos alfanuméricos nela dispostos possuem a seguinte correspondência:

E0: fibras residuais do processamento de pedúnculos de caju;

A: prensagem;

M1: adição de enzimas para maceração do extrato a ser prensado (opcional);

E1: extrato aquoso bruto intermediário;

B: peneiramento;

E2: extrato aquoso bruto;

C: filtração em membranas porosas de micro e/ou ultrafiltração e diafiltração; e

E3: extrato final concentrado e purificado.

Figura 2: apresenta esquematicamente as etapas gerais do processo em um fluxograma com ênfase na etapa otimizada de prensagem. Os símbolos alfanuméricos nela dispostos possuem a seguinte correspondência:

M0: massa de fibras de caju para a produção de suco;

A0: prensagem para produção de suco;

S0: suco integral produzido;

E0: fibras residuais do processamento de pedúnculos de caju;

M: Maceração enzimática (opcional);

M1: adição de enzimas para maceração do extrato a ser prensado (opcional);

A: etapa de prensagem do extrato E0;

A1; A2; A3; A4; A5 e A6: ciclos de prensagem do extrato E0;

F1; F2; F3; F4; F5 e F6: fibras residuais de cada ciclo de prensagem;

S1; S2; S3; S4; S5 e S6: extrato aquoso de cada ciclo de prensagem;

E1: extrato aquoso bruto intermediário;

B: peneiramento;

E2: extrato aquoso bruto;

C: filtração em membranas porosas de micro e/ou ultrafiltração e diafiltração; e

E3: extrato final concentrado e purificado.

Figura 3: representação esquemática de uma prensa helicoidal. Os símbolos alfanuméricos nela dispostos possuem a seguinte correspondência:

E0: fibras residuais do processamento de pedúnculos de caju;

R: saídas de fibras residuais de cada ciclo de prensagem;

E1: extrato aquoso bruto intermediário;

V: controle da velocidade de rotação; e

F: controle da força aplicada.

Figura 4: apresenta um esquema da unidade piloto de operação da diafiltração por membranas. Os símbolos alfanuméricos nela dispostos possuem a seguinte correspondência:

1: água;

2: retido;

4A: tanque de alimentação;

5A; 5B; 5C e 5D: unidades do sistema de membranas;

3A; 3B; 3C e 3D: saídas de permeado; e

4B: tanque de recolhimento do permeado.

Figura 5: apresenta um esquema da unidade piloto de operação da diafiltração por membrana com detalhes para os equipamentos que a compõe. Os símbolos alfanuméricos nela dispostos possuem a seguinte correspondência:

3A; 3B; 3C e 3D: saídas de permeado;

4A: tanque de alimentação;

5A; 5B; 5C e 5D: unidades do sistema de membranas;

6A: entrada de fluido do trocador de calor;

6B: saída de fluido do trocador de calor;

7A; 7B e 7C: manômetros;

8: termômetro;

9A: válvula de purga;

9B: válvula de controle da pressão transmembranar;

10: trocador de calor; e

11: bomba.

Figura 6: gráfico do fluxo de permeado ($L.h^{-1}.m^{-2}$) em função do fator de redução volumétrica para diferente pressões transmembranares (Ptm).

Figura 7: gráfico do fluxo de permeado ($L.h^{-1}.m^{-2}$) em função do fator de concentração para duas diferente situações – com e sem a adição de pectinases – durante toda a etapa de concentração (filtração em membranas porosas de micro e/ou ultrafiltração e diálise).

Figura 8: apresenta quatro gráficos, sendo (8-I) a evolução do fator de redução volumétrica (FRV), (8-II) o diavolume reduzido (DR), (8-III) a densidade do fluxo de permeado (FP) e (8-IV) o teor de sólidos solúveis (TSS), respectivamente, em função do tempo, no processo de concentração do extrato E2 para duas diferentes situações – com e sem a adição de pectinases.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

O presente pedido de patente de invenção se distingue do estado da técnica por meio da proposição de um processo que acopla procedimentos de concentração e purificação por diafiltração às técnicas usuais de obtenção de extrato purificado a partir de extratos brutos de fibras de caju.

O presente processo permite a produção em escala industrial de um liquido viscoso de coloração amarelo-intenso para usos diversos, tais como corante e antioxidante natural nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica.

O processo objeto deste pedido de patente consta de um conjunto de operações que visam à obtenção de um concentrado de carotenos e xantofilas, destacando-se a auroxantina na forma *cis* e *trans*, a β-criptoxantina, mutatoxantina e a zeaxantina. O β-caroteno e luteína vêem em seguida como de maior importância, possuindo, no entanto uma composição rica em diversos outros carotenoides.

O processo proposto compreende as seguintes etapas, correspondentes às indicações presentes na Figura 1:

A) Obtenção de um extrato aquoso bruto de carotenoides, E1, a partir das fibras residuais do processamento de pedúnculos de caju, E0, por meio de prensagem. Nessa etapa, o tratamento enzimático é opcional, pode ocorrer por meio da adição de enzimas desagregadoras de estruturas celulares (pectinases, amilases, celulases e hemicelulases) (M1);

B) Peneiramento do extrato bruto intermediário obtido (E1) visando uma padronização inicial para se evitar problemas de aumento excessivo de viscosidade nas fases finais do processamento com membranas, assim é obtido o extrato bruto E2;

C) Concentração do extrato bruto então obtido, E2, por meio de técnicas de microfiltração em membranas porosas, atingindo-se valores de fator de

concentração entre 2 e 30 vezes; e subsequente eliminação do extrato seco solúvel (açúcares, minerais e vitaminas hidrossolúveis) contido no extrato concentrado através de um processo de diafiltração em membranas porosas de micro ou ultrafiltração, aumentando-se dessa forma a pureza dos carotenoides presentes promovendo estabilidade microbiológica e bioquímica. O produto resultante de (C) é o extrato final concentrado E3.

Considerando-se que o pH do extrato bruto (E2) já se encontra em uma faixa entre 3,5 e 5,0 não ha necessidade de uma correção deste valor para se proporcionar uma maior estabilidade dos carotenoides presentes no extrato final concentrado e purificado.

A primeira etapa do processo (A) de obtenção do extrato bruto se baseia na otimização do processo proposto pelo documento de patente brasileiro PI 0103885-0. Dessa forma o desenvolvimento tecnológico descrito envolve o uso deste extrato para a operação/processo de concentração e purificação visando à obtenção de um produto com altas concentrações de carotenoides.

Antes do início do processo, os cajus são colhidos e levados para uma área de recepção da unidade processadora, sendo de imediato retiradas as castanhas, separando-se os pedúnculos que são selecionados e lavados para a retirada de sujidades e componentes indesejáveis ao processamento de suco.

Em seguida os pedúnculos são diretamente prensados em prensas do tipo expeller, ou helicoidal, típicas do processamento de suco de caju e cajuína em unidades processadoras do Nordeste brasileiro. Nesta etapa são gerados cerca de 80% de suco integral e 20% de fibras residuais, conforme descrito em PI 0103885-0. Estas fibras (E0) são então umidificadas na proporção de uma a duas partes de fibras para cada parte de água para serem prensadas.

Posteriormente, inicia-se o processo proposto pela presente tecnologia, tem-se a etapa (A), que se refere à série de prensagens sob E0 para obtenção do extrato intermediário (E2). Nessa etapa podem ou não ser adicionadas enzimas comerciais com atividades pectinolíticas, amiloliticas e celulolíticas para aumentar o rendimento da prensagem, se necessário. A adição de enzimas pode ser de até 0,5% sobre a massa de fibras, usualmente o valor empregado é de 0,2%.

Após obtido um extrato bruto E2, esse é levado à etapa (B), onde é tratado em

peneiras com abertura de furos entre 0,1 e 1,0 mm, visando uma padronização inicial para se evitar problemas de aumento excessivo de viscosidade nas fases finais do processamento com membranas.

O processamento do extrato bruto por filtração em membranas microporosas é então efetuado em (C) visando-se inicialmente à redução da água que foi adicionada para a extração assistida por enzimas na fase anterior, caso esta tenha ocorrido. Posteriormente, a etapa (C) se processa em fases distintas: uma primeira fase (C1) em que o volume do tanque de alimentação (1A) é mantido constante até que a concentração do extrato bruto atinja valores de FRV (fator de redução volumétrica) entre 2 e 30 ou até o esgotamento do volume de extrato bruto a ser adicionado, iniciando-se neste momento uma fase (C2) de concentração com redução máxima do volume de extrato concentrado no interior do sistema de recirculação, aqui denominado retido, até o limite mínimo de recirculação no conjunto de membranas. Nesta situação deve-se evitar a aeração do retido mantendo-se um volume que não permita a aeração pela bomba de recirculação. Assim, é promovida uma pré-concentração a frio, usando a tecnologia de filtração em membranas microporosas em oxido de alumínio, ou simplesmente alumina, podendo eventualmente ser empregados outros materiais. Estas membranas possuem a capacidade de retenção total dos carotenoides e outras moléculas hidrofóbicas e devido a esta característica são empregadas como meio de retenção dos carotenoides contidos no extrato.

Assim, nesta última etapa (C), posteriormente à C1 e C2, onde ocorre uma fase inicial de pré-concentração, aumentando o fator de concentração até uma recirculação no sistema no limite mínimo do tanque de alimentação da unidade de microfiltração, é então processada uma fase C3, na qual ocorre a purificação do extrato concentrado obtido após C1 e C2 com a execução do processo de diafiltração em membranas de microfiltração.

Assim, o retido ao final de (C2) é submetido à diafiltração (C3) com o volume de água pura (diavolume) adicionado até se atingir um teor de sólidos solúveis (°Brix) desejado.

Toda a operação é efetuada sob condições de temperatura entre 10 e 50^{0}C visando à manutenção das propriedades funcionais dos carotenoides que serão obtidos na forma de uma solução concentrada e purificada por diafiltração o final do processo.

Devido à presença de baixa concentração de açúcares fermentescíveis o produto obtido pode ser estocado em temperaturas de refrigeração para usos posteriores.

O produto final pode adicionalmente ser tratado termicamente para proporcionar uma maior durabilidade, porém é evitado ao longo de todo o processo o uso de calor, pois, este deteriora o conteúdo em carotenoides, modificando seu perfil de moléculas e consequentemente sua atividade pro-vitamínica e antioxidante. Por outro lado, ainda que seja tratado termicamente, o produto final possui alto poder de coloração para usos na área alimentícia e farmacêutica.

O concentrado de carotenoides obtido (E3) possui as características de ser um extrato aquoso, na forma de uma emulsão de coloração amarelo brilhante e que possui capacidade de coloração de sucos de tonalidade amarela e amarelo-alaranjado para uso em alimentos e bebidas. Dessa forma o produto pode ser empregado como corante alimentar natural amarelo; antioxidante natural na forma de cápsulas (nutracêutica); provitamina A e é possível ainda o fracionamento para isolar grupos de carotenoides com funções especificas.

Em relação à etapa (C) é importante caracterizar a unidade piloto de microfiltração tangencial, representada esquematicamente pelas Figuras 4 e 5, em que o solvente empregado é a água.

A unidade de microfiltração possui um conjunto de quatro membranas, preferencialmente de óxido de alumínio (Membralox®), podendo ser opcionalmente empregados outros tipos de membrana, não se limitando a concretização da invenção, portanto, a essa. Seu tanque de alimentação (4A) possui capacidade de 3L a 10L com quatro módulos dispostos em série, cada um contendo uma membrana cerâmica com uma área de filtração de 0,0001 a 0,0900 m^2, preferencialmente de pelo menos 0,0055 m^2 e um diâmetro de poro de 0,01 μm a 0,5 μm, idealmente de 0,2 μm. As pressões das quatro seções de microfiltração são: P1 = 2,75 bar; P2 = 2,25 bar; P3 = 1,75 bar e P4 = 1,25 bar, podendo todas, bem como a pressão do sistema, variar de 0,5 a 10,0 bar. Com base nos dados apresentados, as concretizações da invenção envolvem redimensionamentos que se baseiam nos mesmos parâmetros utilizando o conceito base para tratar os volumes desejados de resíduos de pedúnculos de caju.

Uma bomba de cavidade progressiva (Moineau) de potência igual a pelo menos 1,0 CV, podendo ser maior ou menor em função da quantidade de material a ser

processado, representada pelo item (11) da Figura 5, permite a pressurização do líquido e seu fluxo tangencial no sistema. A velocidade tangencial é fixada em um valor de 1 $m.s^{-1}$ a 10 $m.s^{-1}$ e o retido é continuamente circulado no sistema de filtração. O volume morto do sistema é calculado para 1,3 L para um tanque de alimentação com capacidade de 3 L, distribuídos nos elementos de construção (bombas, tubos, membranas e bandeja).

A unidade de microfiltração permite o controle de uma série de parâmetros, dentre eles: pressão transmembrana, temperatura geral do sistema, velocidade tangencial e, conforme exposto, a fase que envolve a diafiltração em si segue um modelo com três fases, equivalentes às etapas C1, C2 e C3 descritas anteriormente: (1) pré-concentração, a volume constante (C1); (2) concentração a volume variável (C2); e (3) diafiltração/purificação a volume constante (C3).

As condições gerais de processamento para a purificação de carotenoides a partir das fibras residuais do processamento do pedúnculo de caju envolveram controles de diversos parâmetros operacionais. A temperatura foi controlada através de um trocador de calor (10), conforme indicado na Figura 5, instalado no circuito de recirculação do retido com uso de alimentação em uma camisa externa aos tubos inox com água fria ou quente visando à obtenção de uma estabilização da temperatura na faixa requerida, que é de 38 a 42°C. Para o caso de trabalhos com carotenoides, essa temperatura pode ser ainda ampliada para uma faixa que vai de 10 a 85°C, dependendo da finalidade que será dada ao produto final desejado. Baseando-se em rotas metabólicas de degradação de carotenoides, pode haver ainda o interesse em certas moléculas que são produtos de degradação e possuem atividade corante mais acentuada que em seu estado natural e, em outros casos, a necessidade de se manter integra a molécula. Dessa forma, de acordo com o produto alvo trabalha-se com temperaturas mais brandas ou mais elevadas. A Velocidade tangencial foi fixada por meio do controle da rotação do motor da bomba utilizada (11), também ilustrada na Figura 5, podendo ser controlada através do uso de inversores de frequência para um aumento ou diminuição desta velocidade em função da natureza do material trabalhado (mais viscoso ou menos viscoso). E a pressão transmembrana tem seu controle por meio de uma válvula de controle final da pressão de entrada (9A) e de saída do sistema piloto (9B), indicadas na Figura 5. Dependendo da resistência mecânica da membrana

utilizada, pode-se usar maior ou menor velocidade do fluxo de retido, aumentando assim o arraste e consequentemente o processo de autolimpeza das superfícies de filtração, favorecendo um aumento do fluxo médio de permeado. No caso, é recomendada uma pressão transmembrana média no sistema de 1 a 5 bar, preferencialmente 2,7 bar devido as características do sistema e da bomba utilizada como promotora da força motriz, porém, essa pressão pode ser ajustada para outros valores conforme necessidade/capacidade do sistema de produção.

A opção pelo sistema diafiltração a volume constante foi estabelecida visando-se a otimização do uso da água como insumo de diafiltração (solvente). Como este recurso natural é escasso nas regiões produtoras de caju e o sistema apresentado promove um menor uso de água, tem-se um ganho de processo relevante. No entanto não se descarta o uso de sistemas de diafiltração a volume variável para o extrato de fibras de caju.

Dessa forma, é importante frisar que a tecnologia é viável em uma grande gama de aplicações e equipamentos passíveis de utilização, bem como parâmetros de operação, não sendo estes, portanto, restritos aos apresentados nos exemplos e/ou descrições da presente invenção.

EXEMPLOS

A presente invenção é adicionalmente explorada por meio dos exemplos a seguir.

Exemplo 1 – Obtenção do extrato purificado de carotenoides.

Foi obtido de um extrato aquoso bruto de carotenoides, representado na Figura 1 como E1, a partir das fibras residuais do processamento de pedúnculos de caju (E0) por meio de seis ciclos consecutivos de prensagem, conforme indicado nas Figuras 1 e 2 pela operação (A), que inclui a adição de pectinases, conforme explicitado na Figura 2 pela operação (M). A massa de fibras de caju (M0) foi adicionada de água (1:1 massa/massa) e submetida à prensagem em uma prensa modelo INCOMAP-300 (capacidade nominal de 300 $kg.h^{-1}$) para produção de suco, resultando no extrato bruto residual (E0) e no suco integral (S0). Posteriormente, as fibras residuais (E0) foram adicionadas de água e pectinases (500 $mg.kg^{-1}$ de pectinase Pectinex SP-L - Ultrazymes®) e o material homogeneizado. A temperatura foi mantida em valores de 50 a 55°C e a mesma prensa foi empregada (força de 2500 N) para submeter o material a seis ciclos consecutivos de prensagem, com a reincorporação dos extratos (S1 a S5) e as

massa de fibras (F1 a F6) obtidas em cada etapa (A1 a A6) da prensagem (A), conforme ilustrado pela Figura 2. A Figura 3 apresenta uma representação esquemática da prensa empregada.

Após a prensagem, uma emulsão de coloração amarela, devido à presença dos carotenoides, foi obtida. Essa emulsão foi filtrada em peneira de aço inoxidável de malha de 0,30 mm para a remoção de partículas suspensas. O extrato então obtido após o peneiramento, E2, é denominado extrato aquoso bruto, que foi armazenado sob refrigeração (-20°C) em embalagens de polietileno de baixa densidade para estocagem anteriormente ao processo de concentração (C).

A etapa posterior de concentração (C) empregar técnicas de microfiltração tangencial. Foi usado um sistema de quatro membranas MEMBRALOX (PALL-EXEKIA), com área de filtração de 0,022 m² e diâmetro de poro de 0,2 μm, feitas de óxido de alumínio, sendo do tipo monotubular. A pressão do sistema foi de 2,75 bar, sendo a temperatura controlada a 40°C (±2°C). O processo foi conduzido sob um fator de concentração igual a 13. A concentração por meio de técnicas de microfiltração em membranas microporosas foi realizada em três fases: uma primeira fase em que o volume do tanque de alimentação é mantido constante até o esgotamento do volume de extrato bruto, iniciando-se neste momento uma fase de concentração com redução máxima do volume de extrato concentrado no interior do sistema de recirculação, aqui denominado retido ou retido, até o limite mínimo de recirculação no conjunto de membranas; e a terceira fase em que ocorre a diafiltração em membranas microporosas de microfiltração com o volume de água pura adicionado até se atingir um teor de sólidos solúveis entre 20 e 30 °Brix.

O rendimento da operação partindo-se de 1000 kg pedúnculos de caju é de cerca de 30 a 40 kg de concentrado diafiltrado (E3).

Foram analisados, por meio de cromatografia líquida, os teores dos carotenoides totais do extrato intermediário bruto (E1) e do extrato concentrado final (E3), conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Conteúdo em carotenoides ($mg.kg^{-1}$) no extrato bruto de fibras de caju (E1) obtido em seis ciclos consecutivos de prensagem e no extrato final concentrado (E3).

Carotenoides	Extrato Bruto (E1)	Extrato Concentrado (E3)
Auroxantina (*cis* e *trans*)	3,08	16,10
Mutatoxantina *trans*	0,62	2,50
Luteína	1,04	4,70
Mutatoxantina *cis*	1,25	6,30
Zeaxantina	1,10	5,60
Cis antheraxantina	0,20	0,80
β-Cryptoxantina	1,52	8,00
13-cis-β-caroteno	0,13	0,70
α-Caroteno	0,09	0,60
β-caroteno	0,52	2,50
Outros	0,85	6,40
Carotenoides Totais	10,40	54,20

Exemplo 2 – Comparação entre a extração com e sem o uso de enzimas.

Foram empregados lotes de 100 kg de fibra bruta (E0), que foram prensadas usando-se a prensa INCOMAP 300 em seis ciclos de prensagem. Os extratos foram submetidos a dois processos: o primeiro (I) com o uso de 500 $mg.kg^{-1}$ de pectinase comercial (Pectinex SP-L - Ultrazymes®) e o segundo (II) sem a adição de pectinase, mantendo as outras condições de funcionamento estabelecidas como as condições otimizadas proporcionadas pelo processo proposto pela presente invenção.

Em ambos os processos desse exemplo (I e II) foram empregados 20 L de extrato bruto resultante da prensagem descrita, submentendo-os a três fases em (C): a pré-concentração com uma concentração decrescente de volume do tanque de alimentação e; uma etapa de diafiltração final. A diafiltração é iniciada quando o sistema atinge um volume mínimo de circulação do retido, a partir desse ponto o volume circulante é mantido constante até o final do processo. O sistema empregado possui um tanque de alimentação com capacidade total de 3,0 L.

Dessa forma, foi realizada inicialmente a pré-concentração com o volume do tanque de alimentação constante, onde o fator de concentração atingiu valores de cerca de 5 e procedida uma segunda fase de concentração com uma diminuição do volume do tanque para um volume mínimo possível, quando o fator de concentração atinge o seu valor máximo, mas sem danificar o conteúdo carotenoide. Depois de alcançar o fator de concentração máximo no sistema de microfiltração, é realizada uma fase final de

purificação por diafiltração do retido na condição limite do volume circulante, que é de cerca de 1,3 a 1,5 L na unidade piloto de microfiltração.

Em todas as fases do processo as condições de funcionamento adotadas foram: temperatura de alimentação do extrato em bruto de 40°C (± 2), pressão transmembranar média de 2,75 bar (± 0,3) e velocidade de 6,0 $m.s^{-1}$.

Neste exemplo é explicitado o parâmetro do tratamento da etapa (C). A metodologia utilizada consistiu de uma fase inicial de pré-concentração, aumentando o fator de concentração até uma recirculação no sistema no limite mínimo do tanque de alimentação da unidade piloto de microfiltração seguida da fase de purificação do extrato concentrado com a execução de diafiltração em membranas de microfiltração, conforme apresentado anteriormente. Além disso, a cada 10 minutos foram coletadas amostras para análise do desempenho do processo global, recolhendo-se alíquotas de permeado e medindo os volumes em provetas graduadas de precisão submetendo-as a análises físico-químicas. Durante a fase de diafiltração, em cada amostragem de permeado foi realimentado um volume equivalente de água destilada para manter o teor de sólidos solúveis totais próximo de zero ao final do processo, de forma que possa ser promovido um aumento na pureza dos carotenóides presentes no concentrado final.

Tanto para (I) como em (II), o processo global para a concentração e diálise dos 20 litros usados em cada um dos experimentos foi de cerca de 10 horas para cada ensaio. Este procedimento levou à obtenção de um extrato concentrado que pode atingir fatores de concentração da ordem de 20 a 30 vezes quando comparada ao volume inicial usado na fase de concentração, mantendo boas performances de fluxos de permeados mesmo quando se atingem altos valores de fator de redução volumétrica (FRV).

Além dos ensaios (I) e (II) foram realizados trabalhos intermediários nas fases experimentais envolvendo tratamentos com enzimas pectinolíticas, celulolíticas e amilolíticas com o intuito de se verificar o comportamento do processo quando o extrato passa ou não por um pré-tratamento para depois se realizar a operação de concentração. Os fluxos de permeados foram elevados em todos os tratamentos, no entanto, para os tratamentos com pectinase e amilase os valores foram mais significativos. Dessa forma, é recomendada a continuação dos trabalhos com a etapa de diafiltração realizada com os tratamentos com uso de enzimas. Os fluxos de permeados nesta etapa mantiveram-se ainda nos mesmos patamares elevados, visto que a diafiltração consiste em se adicionar

um solvente (no caso, foi adicionado água, embora outros solventes possam ser empregados) para se eliminar os componentes hidrossolúveis que possam vir a ocasionar problemas posteriores, tais como fermentações e interações químicas e bioquímicas com os componentes de interesse. Nesta etapa os fluxos de permeados ficaram na faixa de 130 $L.h^{-1}.m^{-2}$ para os tratamentos com enzima e de 80 $L.h^{-1}.m^{-2}$ para os tratamentos sem enzima.

A Tabela 2 apresenta uma média global de todos os parâmetros observados no processo de concentração e purificação por diafiltração do extrato aquoso rico em carotenoides obtidos a partir das fibras residuais de pedúnculos de caju do processamento do suco integral para (I) e (II).

Tabela 2 – Média global de todos os parâmetros observados no processo de concentração e purificação por diafiltração.

Parâmetros do Processo e Principais Resultados	**Contendo 500 $mg.kg^{-1}$ de pectinase (I)**	**Sem pectinase (II)**
Volume de alimentação (mL)	20.000,00	20.000,00
Volume do tanque de alimentação (mL)	3.000,00	3.000,00
Volume em diafiltração (mL)	1.320,00	1.170,00
Volume de água utilizada em diafiltração (mL)	5.889,20	5.552,60
Fluxo médio de permeado ($L.h^{-1}.m^{-2}$)	130,80	80,40
Fator de Redução Volumétrica - FRV	19,06	17,80
Extrato Seco Solúvel inicial ($g.L^{-1}$)	52,00	52,00
Extrato seco Solúvel final ($g.100\ mL^{-1}$)	2,00	5,00
Matéria seca total inicial ($g.L^{-1}$)	64,80	64,70
Matéria seca total final ($g.L^{-1}$)	256,80	237,80
Matéria seca insolúvel inicial ($g.L^{-1}$)	12,80	12,50
Matéria seca insolúvel final ($g.L^{-1}$)	244,00	223,00
Carotenoides totais – inicial ($g.L^{-1}$) *	$0,38 \times 10^{-2}$	$0,33 \times 10^{-2}$
Carotenoides totais – final ($g.L^{-1}$) *	$0,73 \times 10^{-1}$	$0,53 \times 10^{-1}$

* *Analises em triplicata*

Adicionalmente, as variações das características físico-químicas observadas no produto final da diafiltração (extrato concentrado final) empregando-se (I) são apresentadas resumidamente na Tabela 3. A partir dos resultados foi possível se atingir no extrato final (E3) concentrações de seus constituintes até 10 vezes maiores do que aquelas presentes no extrato bruto (E1). É possível observar ainda que a sinergia entre

os processos otimizados de prensagem em conjunto com o emprego de enzimas mais o uso das técnicas de microfiltração foi positiva, pois, possibilitou um aumento de até 75% na concentração de carotenoides totais.

Tabela 3 – Características físico-químicas do extrato final obtido após a diafiltração (E3).

Parâmetros físico-químicos	Valores
Sólidos solúveis totais (g.100 mL^{-1})	0,5 a 1,5
Extrato seco total (g.L^{-1})	237,8 a 250,5
Extrato sexo insolúvel (g.L^{-1})	223 a 260
Carotenoides totais (mg.L^{-1})	0,053 a 0,53
pH	4,5 a 4,7
Ácido ascórbico (g.100 mL^{-1})	Abaixo do limite detectável
Total de açúcares (g.100 mL^{-1})	0,2 a 1,3
Acidez titulável em % de ácido cítrico (g.100 mL^{-1})	1,26 a 1,78
Polifenóis totais em ácido tânico (mg.100 mL^{-1})	250 a 500

Exemplo 3 – Aplicação do extrato purificado como corante.

Em termos de aplicação do extrato concentrado e purificado obtido ao final do processo descrito no **Exemplo 1**, é verificado que uma adição entre 0,5 a 3,0% do extrato concentrado a sucos e bebidas é suficiente para se atingir uma coloração amarela típica.

Exemplo 4 – Estudos comparativos na etapa de concentração (C).

Durante a etapa final do processo de filtração (C) empregando membranas microporosas foram realizadas coletas do permeado no sistema sem a substituição da fonte de alimentação até o limite de operação do equipamento piloto, com cerca de 1,5 litros de volume mínimo possível. A partir deste ponto, foi iniciada a etapa de diafiltração (C3), foram então adicionados volumes de água (diavolumes), usando como parâmetro de controle o teor de sólidos solúveis (°Brix) a cada 10 minutos.

A conclusão do processo é indicada pelo controle de sólidos solúveis quando atinge um valor compreendido na faixa de 0 a 10,0 g.kg^{-1}, indicando que os materiais solúveis em água (açúcares, sais minerais e vitaminas) foram eliminados pela operação

de diafiltração. As amostras para análise foram coletadas em três etapas: o extrato bruto de alimentação, o permeado e o retido final.

As Figuras 4 e 5 apresentam um detalhamento da operação de diafiltração – etapa (C), em que o solvente é a água. A diafiltração, conforme exposta na Figura 2 foi realizada em três fases:

- Primeira fase: pré-concentração com o volume do tanque constante de 3,0 litros e retroalimentação de extrato bruto até a exaustão do volume total a ser purificado por diafiltração.
- Segunda fase: ocorre a interrupção na re-alimentação de extrato bruto. O volume do tanque cai até atingir o ponto máximo de concentração.
- Terceira fase: esta é a fase de diafiltração em si, quando o volume de cada filtrado (permeado) é coletado, sendo posteriormente o tanque reabastecido com o mesmo volume de água desmineralizada para alcançar um mínimo teor de sólidos solúveis (perto de zero) no retido final.

A amostragem do permeado foi realizada somente com a medição da densidade do fluxo de permeado. Desde o início da fase de diafiltração, foi utilizado um refratômetro ATAGO digital para medir o teor de sólidos solúveis totais (°Brix), monitorando-o para mantê-lo em um valor próximo de zero. Todos os materiais solúveis presentes no permeado foram eliminados, deixando apenas dentro do sistema de recirculação a porção insolúvel do extrato com água, e enriquecido com carotenoides.

A decisão de realizar a diafiltração apenas na fase final de concentração, é devido ao fato de que o consumo de água nessas condições pode ser importante para o projeto de uma fábrica em escala industrial. Nota-se que, nas condições de volume mínimo de retenção do tanque de alimentação, a diafiltração é processada mais rapidamente e muita atenção deve ser tomada quanto à aeração do produto que é manipulado em tais condições.

Durante esta fase, a extração do permeado foi compensada pela adição de água destilada a cada 10 minutos no tanque de alimentação. O teor de sólidos é o indicador de lavagem que é medido no permeado a cada extração. A diafiltração é interrompida quando este parâmetro atinge valores de 0 e 10 $g.kg^{-1}$ no permeado. Durante diafiltração, o volume de retido permanece constante e o FRV não se altera.

A etapa de concentração em si (anterior à promoção da diafiltração) é dividida em duas fases: a pré-concentração a volume constante do tanque, com realimentação do mesmo com o extrato bruto e uma segunda etapa, com o contínuo declínio no volume do extrato até o limite mínimo do tanque de alimentação da unidade piloto. O sistema normalmente opera a diafiltração considerando o insumo de fibras de caju no extrato obtendo-se um volume de cerca de 1.500 mL no final da etapa de concentração. Foi empregado um volume de pouco mais do que o limite mínimo de 1.000 mL na unidade piloto para evitar contatos indesejados com o ar. Para cada uma das etapas é importante estabelecer o fator de redução volumétrica, conforme exposto a seguir.

Etapa de pré-concentração: para calcular o fator de redução volumétrica correspondente foi utilizada a razão entre o volume do extrato alimentado no circuito e o volume do retido. Durante esta fase, o volume da alimentação com o extrato bruto (V_A) é igual ao volume de permeado (V_P) em todo o processo. O volume de retido (V_R) corresponde ao volume do tanque (V_B). O FRV é, portanto, calculado da seguinte forma nesta fase:

$$FRV = 1 + V_P / V_B \text{, onde}$$

V_P: volume de permeiado extraído a cada coleta de amostra (ml).

V_B: volume do tanque de alimentação (ml).

No caso, o volume do tanque é fixado em 3.000 ml durante toda a fase de pré-concentração.

Etapa de concentração: durante este fase, o volume do tanque varia e o volume de permeado é continuamente extraído a cada 10 minutos, mas esta extração não é compensada pela adição de extrato no tanque de alimentação. Assim, o volume de produto circulante diminui mais rapidamente e se concentra de um modo não-linear. Neste ponto, o cálculo das mudanças no FRV muda com relação à etapa de pré-concentração e é calculado considerando-se que o volume circulante diminui na mesma proporção em que o volume de permeado é coletado. Isso quer dizer que o volume circulante representa o volume inicial menos o volume colhido acumulado a cada coleta

de permeado durante esta fase. A fórmula do cálculo para cada coleta de permeado nesta etapa é:

$$FRV = 1 + [\ V_{PC} / (V_B - V_P)\ ]\text{, onde}$$

V_{PC}: volume acumulado de permeado durante todo o processo (mL).

V_B: volume do tanque de alimentação (mL).

V_P: volume acumulado de permeado acumulado na fase de concentração (mL).

Etapa de purificação (diafiltração): durante esta fase, não há concentração e o volume do tanque permanece constante até o final de diafiltração, com um teor de sólidos solúveis de 0 a 10,0 $g.kg^{-1}$, medido por um refratômetro em cada amostragem de diavolumes durante a diafiltração. No final desta etapa, a manipulação deve ser finalisada e as amostras de retido final coletadas para análise de controle e modelamento.

Como resultado das diversas análises realizadas durantes os ensaios, a evolução do fluxo de permeado como uma função do fator de redução volumétrica durante a etapa de micro e diafiltração é apresentado no gráfico da Figura 6, sob diferentes pressões transmembranares.

Adicionalmente, conforme indicado no exemplo anterior e apresentado no gráfico da Figura 7, a amostra submetida ao pré-tratamento com enzima teve uma estabilização média em 130 $L.h^{-1}.m^{-2}$ e sem o pré-tratamento indica um valor abaixo de 80 $L.h^{-1}.m^{-2}$ e indicando um bom desempenho e aplicabilidade a nível industrial do processo proposto, mesmo para a amostra sem pectinase.

A análise do gráfico na Figura 7 indica ainda que o tratamento com pectinase tem um fator de concentração mais elevado, atingindo valores de cerca de 19, enquanto que a amostra sem pectinase tem um valor ligeiramente inferior, com um fator de concentração de cerca de 17,8. Mesmo se se considerar que os valores de fator de concentração estão muito próximos, é importante observar que o tempo necessário para atingir este nível de concentração foi muito diferente para cada caso. O tratamento com pectinase mostrou um bom desempenho de fluxo de permeado que estabiliza na fase de pré-concentração (C1), enquanto que aqueles que não têm pectinase mostrou um fluxo estabilizado apenas no início da fase com concentração (C2) com redução do volume

circulante sem realimentação.

Para melhor ilustrar esse fato, os gráficos da Figura 8 ilustram o comportamento geral da concentração e diafiltração do extrato em função da duração do processo. Dessa forma, a Figura 8 apresenta quatro gráficos, sendo (8-I) a evolução do fator de redução volumétrica, (8-II) o diavolume reduzido, (8-III) a densidade do fluxo de permeado e (8-IV) o teor de sólidos solúveis, respectivamente, em função do tempo, no processo de concentração do extrato E2. Ao se fazer uma análise do comportamento do fator de concentração em função do tempo (Figura 8-I), a curva referente ao processo de pré-tratamento com enzimas apresenta uma taxa de concentração crescente devido ao maior fluxo de permeado durante todas as fases do processo, comparado com os ensaios sem pré-tratamento enzimático. Esse fato pode ser atribuído à ação de pectinase como um fator de redução da viscosidade e de diminuição do tamanho médio de partícula no produto.

O comportamento do teor de sólidos solúveis totais (Figura 8-IV) mostra um pequeno aumento no início do processo para ambos os casos. Observa-se que o teor de sólidos solúveis em ambas as amostras iniciais estavam em torno de 5,2 °Brix. A leitura de 5,1 a 5,2 °Brix em ambos os casos pode ser atribuída à presença de água dentro da unidade piloto de microfiltração, que é estabilizada após as primeiras realimentações com o extrato bruto. A diminuição do teor total de sólidos solúveis mostrou um comportamento típico dos processos de diafiltração, onde o ponto final do processo adotado é quando o teor atingir valores próximos de zero. Em ambos os casos, o final do processo se deu quanto este parâmetro foi suficientemente baixo para evitar fermentações subsequentes e não haver nenhum prejuízo do teor de carotenóides total.

O diavolume reduzido (DR) é um valor que corresponde a uma razão entre o volume de água adicionado e o volume em recirculação no sistema. Este valor é normalmente utlizado para o redimensionamento do sistema, para o escalonamento de unidades industriais. Deve notar-se, portanto, na Figura 8-II que há um comportamento de crescimento linear deste parâmetro ao longo do tempo, indicando bom desempenho da diafiltração.

Como a fase de diafiltração foi realizada após a concentração máxima do extrato bruto, observa-se que o volume de água necessário para reduzir o teor de sólidos solúveis é muito baixa em comparação com o volume inicial de 20 litros de extrato

bruta. A diafiltração neste exemplo foi realizada com um volume circulante de 1,45 L (calculado através da soma dos permeados extraídos) e com a adição de 5,9 L de água destilada para o tratamento com pectinase. O volume circulante calculado para a diafiltração quando não houve adição de pectinase na etapa anteiror de prensagem, foi de 1,2 L e de 5,6 L de água destilada adicionada para atingir o teor de sólidos solúveis próximo de zero.

Os resultados obtidos demonstraram que a tecnologia proposta permite a obtenção de fatores de concentração volumétrica próximos de 20 e que o emprego sinérgico de enzimas pectinolíticas como pré-tratamento durante a fase de prensagem tem um efeito positivo sobre o desempenho global do processo.

REINVIDICAÇÕES

1. Processo de concentração e purificação de extrato obtido a partir de resíduos de pseudofruto de caju e produto de elevado teor de carotenoides compreendendo as etapas de lavagem dos resíduos de processamento de caju; sucessivas prensagens do material de fibras residuais de caju; e filtração da fase líquida total; caracterizado por compreender as etapas de:
   A) opcionalmente, tratamento enzimático do extrato aquoso bruto durante a prensagem (A);
   B) peneiramento do extrato aquoso bruto (B); e
   C) concentração e purificação do extrato aquoso em membranas microporosas de micro e/ou ultrafiltração (C).
2. Processo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pela etapa de prensagem (A) ocorrer com 5 a 10 ciclos de prensagem, preferencialmente 6.
3. Processo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pela adição opcional de enzimas comerciais com atividades pectinolíticas, amilolíticas, celulolíticas e hemicelulolíticas na etapa de prensagem (A).
4. Processo de acordo com a reivindicação 3 caracterizado pela adição de enzimas compreender valores entre 0,01 e 0,5% sobre a massa de fibras (E0), preferencialmente 0,2%.
5. Processo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo peneiramento (B) ocorrer em peneiras com abertura de furos entre 0,1 e 1,0 mm.
6. Processo de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pela concentração (C) ocorrer por meio de filtração em membranas porosas de micro e/ou ultrafiltração, compreendendo as etapas de:
   C1) adição do extrato (E2) ao tanque de alimentação (4A) sob condições de volume constante;
   C2) concentração com redução máxima do volume de extrato concentrado no interior do sistema de recirculação até o limite de recirculação do conjunto de membranas; e
   C3) diafiltração em membranas com adição de solvente até se atingir um teor de sólidos solúveis de 0 a 10,0 $g.kg^{-1}$.

7. Processo de acordo com a reivindicação 6 caracterizado pelo tanque de alimentação ser mantido sob volume constante em (C1) até que a concentração do extrato bruto atinja valores de fator de concentração volumétrica entre 2 e 30 e/ou até o esgotamento do volume de extrato bruto adicionado.
8. Processo de acordo com a reivindicação 6 caracterizado pelas membranas empregadas possuírem diâmetro de poro de 0,01 μm a 0,5 μm, preferencialmente 0,2 μm.
9. Processo de acordo com a reivindicação 6 caracterizado pelas pressões das seções de microfiltração serem de 0,5 a 10,0 bar, preferencialmente de 1,75 a 2,75 bar.
10. Processo de acordo com a reivindicação 6 caracterizado pela velocidade tangencial ser fixada em 1 a 10 $m.s^{-1}$, preferencialmente 6,0 $m.s^{-1}$.
11. Sistema de concentração e purificação de extratos aquosos caracterizado por compreender um conjunto de membranas de microfiltração, equipamento(s) de bombeamento de extrato, trocador(es) de calor, tanque(s) de alimentação e coleta, manômetro(s), termômetro(s) e válvula(s) de controle.
12. Processo de acordo com as reivindicações 1 e 11 caracterizado pela etapa de concentração e purificação do extrato ocorrer em temperaturas entre 10°C e 85°C, preferencialmente 38°C a 42°C.
13. Produto de elevado teor de carotenoides de fibras de caju caracterizado por ser obtido a partir de processo de concentração e purificação do extrato de resíduos de pseudofruto de caju e por compreender os componentes auroxantina; mutatoxantina; luteína; zeaxantina; antheraxantina; β-Cryptoxantina; 13-cis-β-caroteno; α-Caroteno e β-caroteno podendo opcionalmente ser associados a outros aditivos e/ou carotenoides de interesse.
14. Produto de acordo com a reivindicação 13 caracterizado por ser empregado como corante e/ou aditivo industrial.

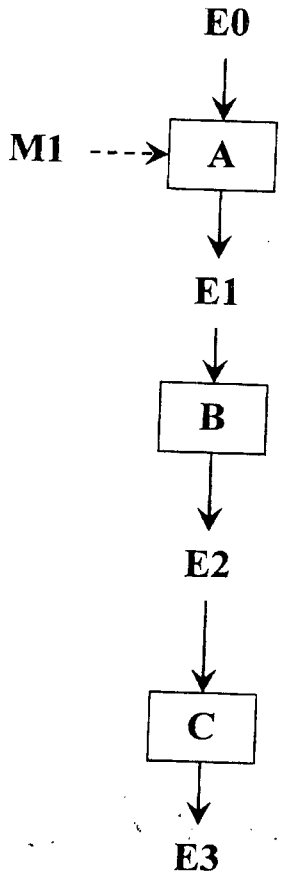

Fig. 1

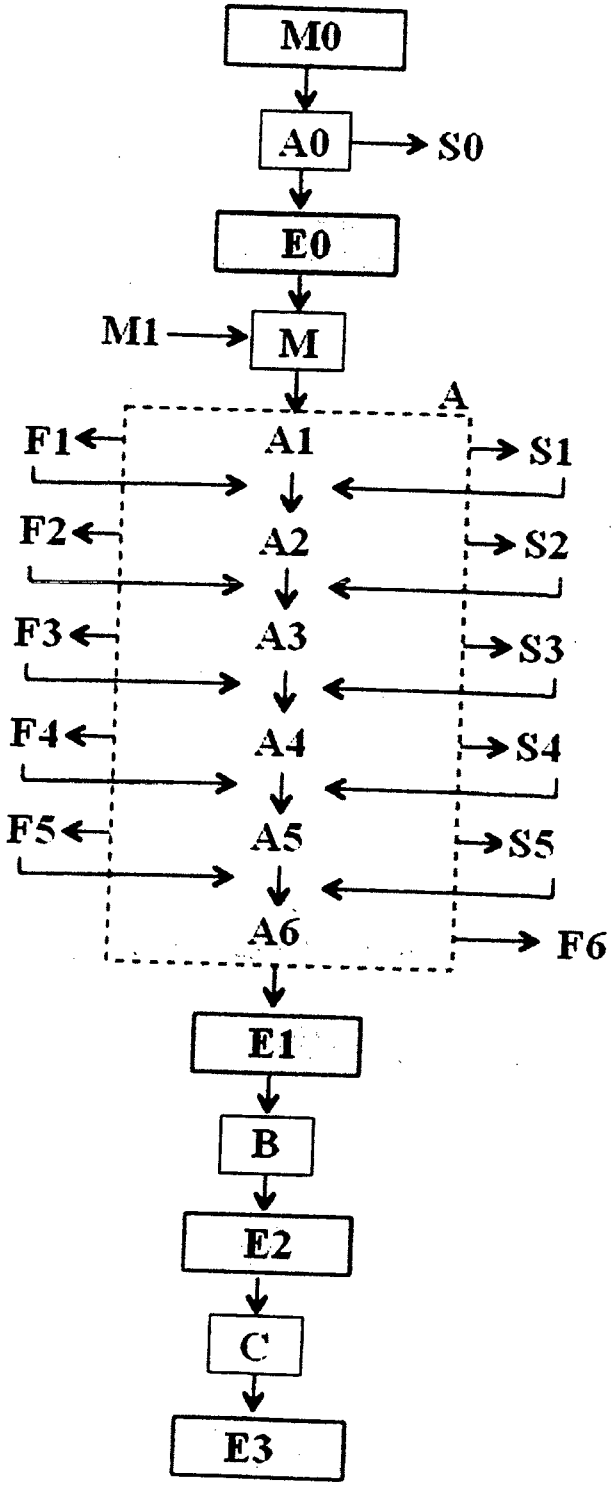
M0
A0
S0
E0
M1
M
A
F1
A1
S1
F2
A2
S2
F3
A3
S3
F4
A4
S4
F5
A5
S5
A6
F6
E1
B
E2
C
E3

Fig. 2

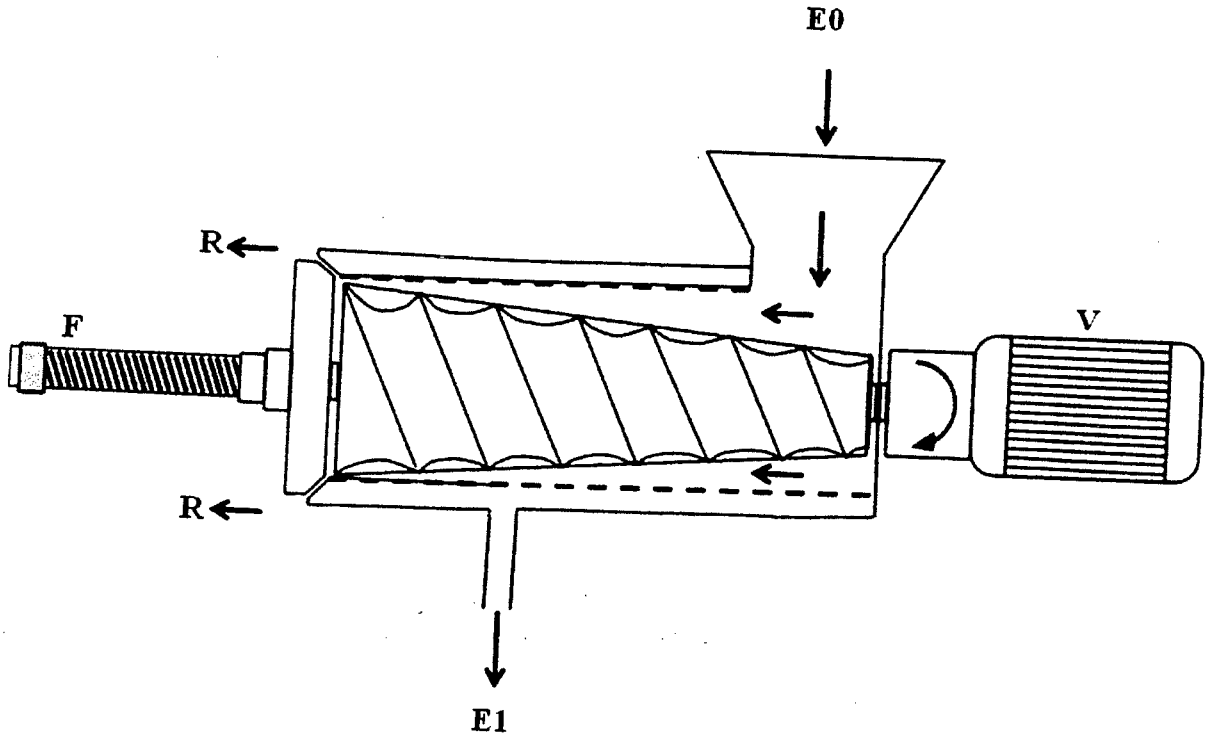

Fig. 3

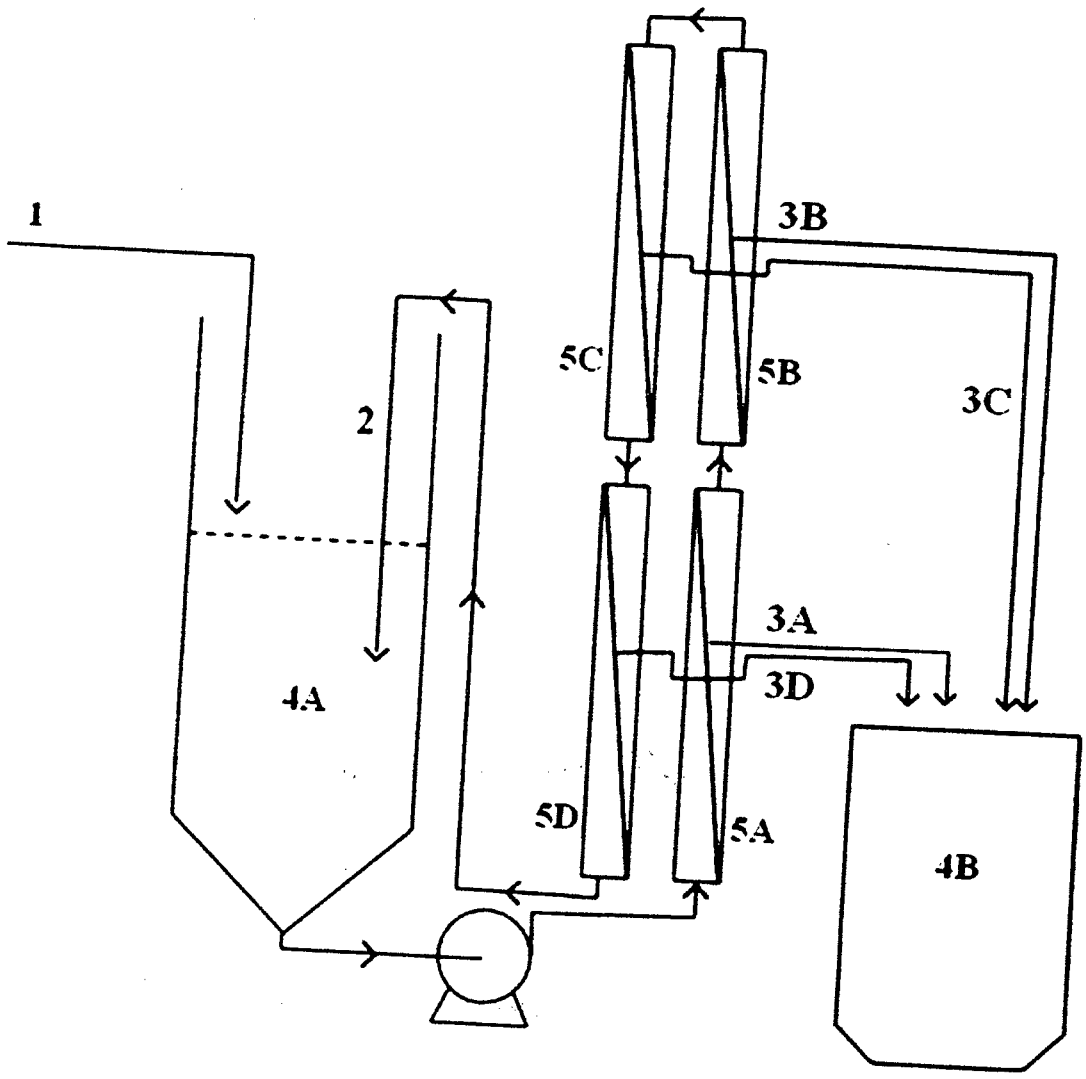

Fig. 4

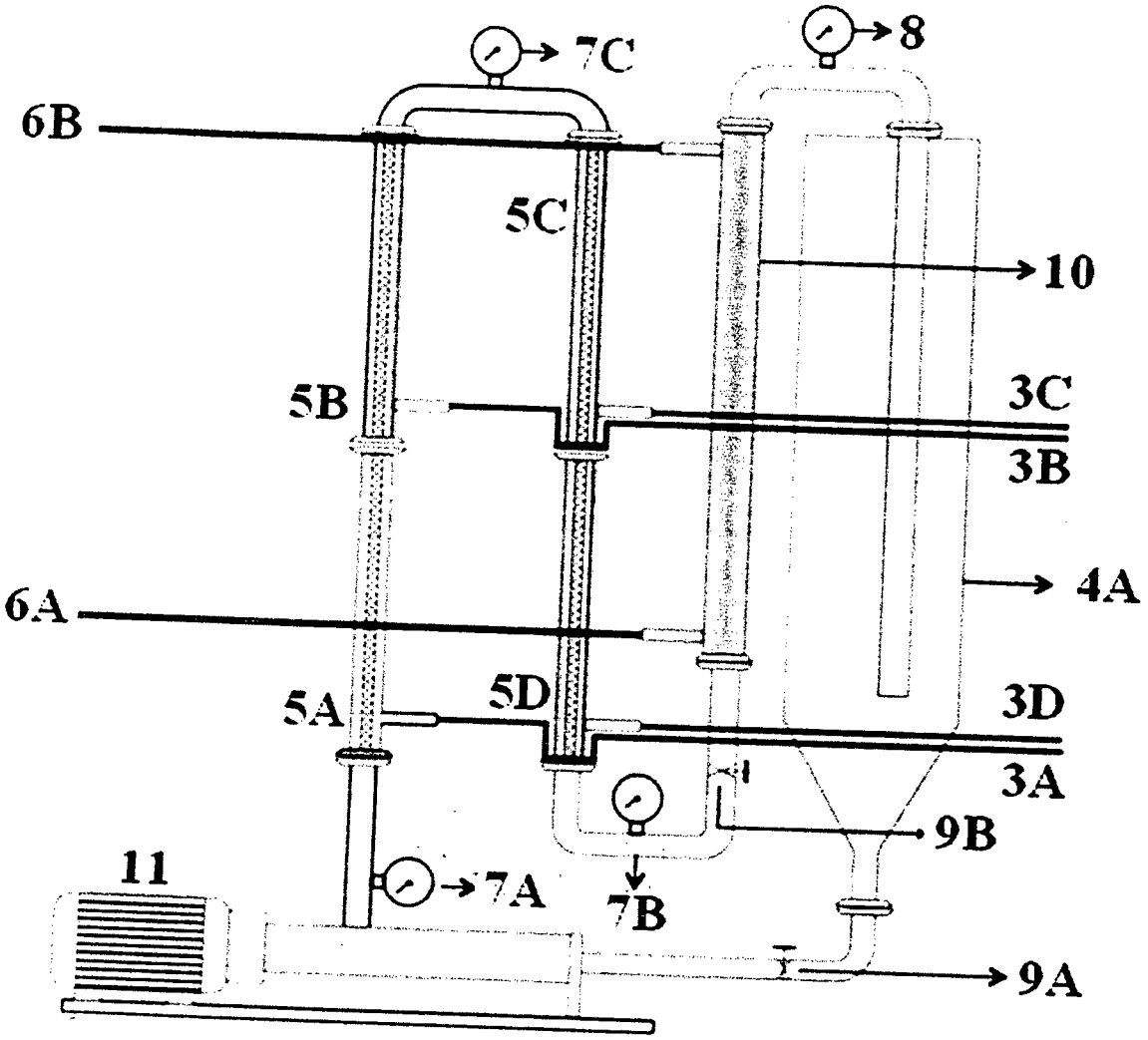

Fig. 5

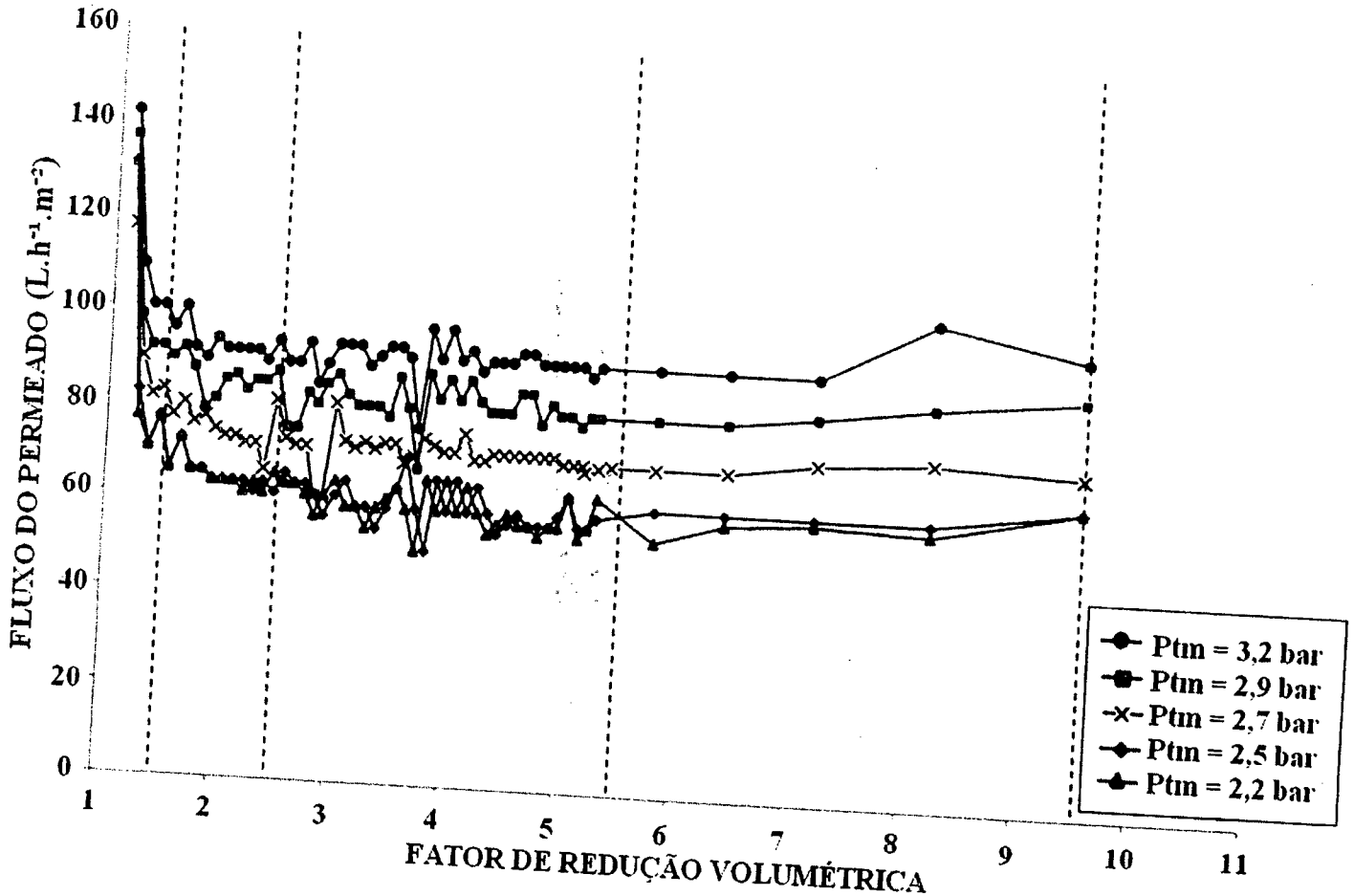
FLUXO DO PERMEADO (L.h-1.m-2)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
FATOR DE REDUÇÃO VOLUMÉTRICA
Ptm = 3,2 bar
Ptm = 2,9 bar
Ptm = 2,7 bar
Ptm = 2,5 bar
Ptm = 2,2 bar

Fig. 6

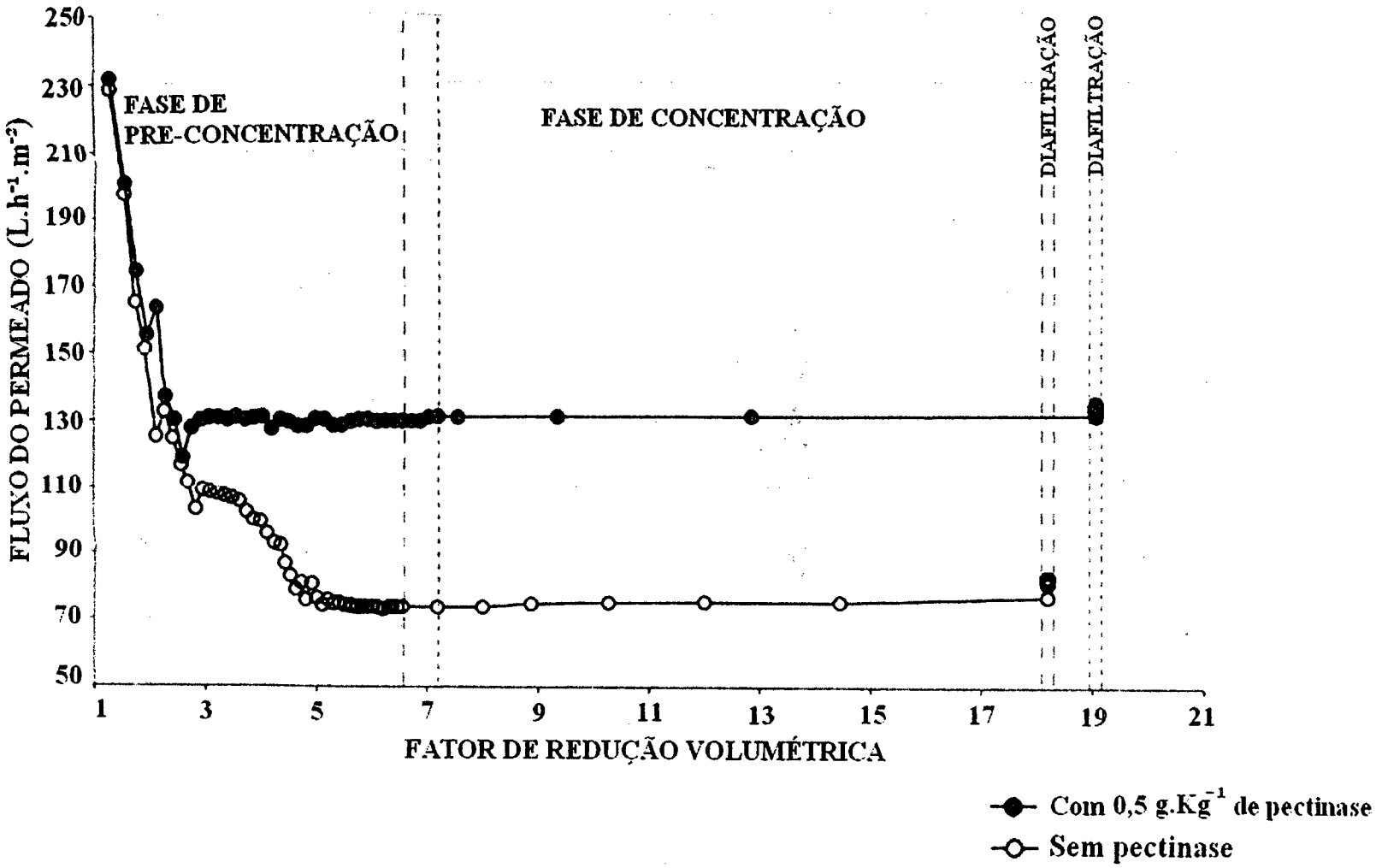
FLUXO DO PERMEADO (L.h-1.m-2)
250
230
210
190
170
150
130
110
90
70
50
FASE DE
PRE-CONCENTRAÇÃO
FASE DE CONCENTRAÇÃO
DIAFILTRAÇÃO
DIAFILTRAÇÃO
1
3
5
7
9
11
13
15
17
19
21
FATOR DE REDUÇÃO VOLUMÉTRICA
Com 0,5 g.Kg-1 de pectinase
Sem pectinase

Fig. 7

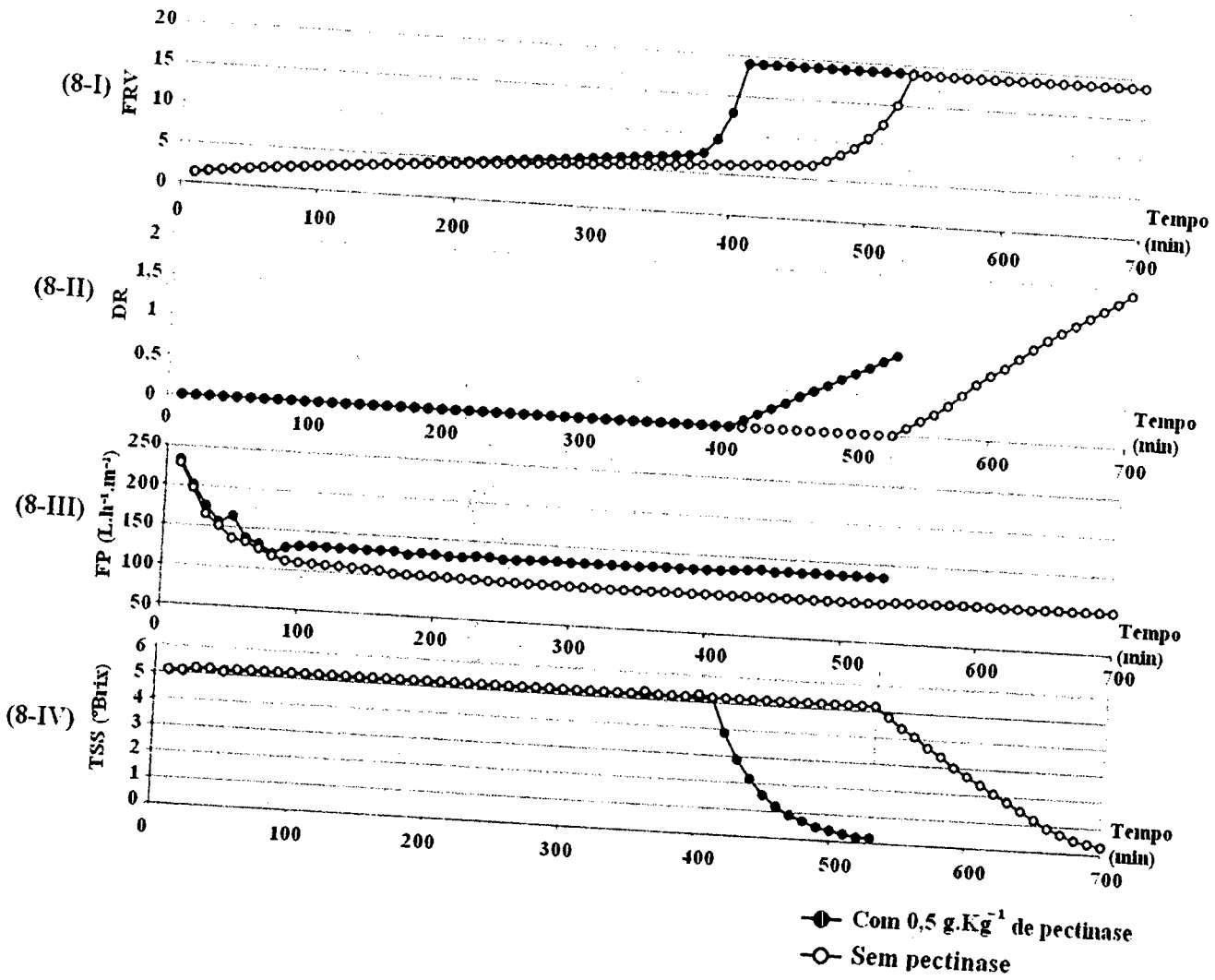
(8-I)
FRV
20
15
10
5
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Tempo (min)
(8-II)
DR
2
1,5
1
0,5
0
(8-III)
FP (L.h-1.m-1)
250
200
150
100
50
(8-IV)
TSS (°Brix)
6
5
4
3
2
1
0
Com 0,5 g.Kg-1 de pectinase
Sem pectinase

Fig. 8

RESUMO

"PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE EXTRATOS DE CAROTENOIDES"

A presente invenção apresenta um processo para concentração e purificação de carotenoides a partir de fibras residuais da produção de suco de caju integral sob condições controladas sem uso de qualquer solvente orgânico. O processo envolve uma pré-maceração das fibras de caju com uso de enzimas desagregadoras de estruturas celulares, que atuam sobre os tecidos fibrosos em combinação com prensagens controladas em ciclos sucessivos de extração aquosa. A concentração do extrato bruto obtido por maceração/prensagem é realizada à temperatura ambiente com uso de membranas de microfiltração em fluxo tangencial. O produto concentrado é então tratado por técnicas de diafiltração para ser purificado, eliminando-se grande parte dos componentes indesejáveis e que favoreçam a sua deterioração microbiana e bioquímica. O concentrado final possui potencial de aplicação como corante para alimentos de consumo humano e ração animal, sendo aplicável nas áreas de sucos e bebidas prontas para o consumo devido à considerável solubilidade em água.

Diretoria de Patentes
Publicação na Revista de Propriedade Industrial

alineaco **Despacho:** 2.5 **Pedido:** BR102012009761-3

Nº do Pedido (21) :	102012009761-3
Data do Depósito (22) :	26/04/2012
Nome do Depositante (71) :	EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria (BR/DF)
	Centre de Cooperation Internationale En Recherche Agronomique Pour Le Developpment (CIRAD) (FR)
	Centre International D'Etudes Superieures En Sciences Agronomiques (Montpellier Supagro) (FR)
	Torres Comércio e Processamento de Produtos Naturais Ltda (BR/CE)
Procurador (74) :	Sibelle de Andrade Silva
Publicação na RPI (200):	Publicado na RPI nº 2199 de 26/02/2013.

INPI INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL PROTOCOLO GERAL
08/03/2013 012130000113 15:56 DEDF
0000421301714299

Espaço para etiqueta

PETIÇÃO, relacionada com Pedido, Patente ou Certificado de Adição:

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:

1. Interessado:

1.1 Nome: **Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**

1.2 Qualificação: **Empresa Pública**

1.3 CNPJ/CPF (se houver): **00.348.003/0001-10**

1.4 Endereço completo: **PqEB Parque Estação Biológica - Edifício Sede - Final W/3 Norte - Brasília – DF**

1.5 CEP: **70770-901**

1.6 Telefone: **(61) 3448.4545** 1.7 Fax: **(61) 3348.4158** 1.8 E-Mail : **chefia.sne@embrapa.br**

☐ continua em folha anexa

2. Título da Invenção, do Modelo de Utilidade ou Certificado de Adição:

PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE EXTRATO OBTIDO A PARTIR DE RESÍDUOS DE PSEUDOFRUTO DE CAJU E PRODUTO DE ELEVADO TEOR DE CAROTENOIDES

☐ continua em folha anexa

3. Natureza ☒ 3.1 Invenção ☐ 3.2 Certificado de Adição ☐ 3.3. Modelo de Utilidade

4. Referência:

☒ 4.1 Pedido

☐ 4.2 Patente | 4.3 Nº **BR 10 2012 009761 3** | 4.4 Data: **26/04/2012**

5. Procurador (74):

5.1 Nome: **Sibelle de Andrade Silva**

5.2 CPF/CNPJ: **068.805.616-40** 5.3. API/OAB

5.4 Endereço: **PqEB Parque Estação Biológica - Edifício Sede - Final W/3 Norte - Brasília – DF**

5.5 CEP **70770-901**

5.6 Telefone: (61) **3448.4545** 5.7 Fax: (61) **3348.4158** 5.8 Email: **sibelle.silva@embrapa.br**

6. Apresentação ou modificação da Listagem de Sequências Biológicas (documentos anexados) (se houver)

☐ Listagem de sequências em arquivo eletrônico: Nª de CDs ou DVDs (original e cópia)

☐ Código de controle alfanumérico no formato de código de barras: fls.

☐ Listagem de sequências em formato impresso: fls.

☐ Declaração de acordo com o artigo da Resolução INPI nº 228/09: fls.

Entrega

Espaço reservado para etiqueta

7. Apresenta/Requer:

Assinale o(s) itens que se aplica(m) ao seu caso:
(Deverá ser indicado o nº total de somente uma das vias de cada documento)

		O que se requer/apresenta	folhas
☐	7.1	Modificações no Relatório Descritivo	
☐	7.2	Modificações nas Reivindicações	
☐	7.3	Modificações nos Desenhos	
☒	7.4	Modificações no Resumo	1
☐	7.5	Caducidade da Patente/Certificado de Adição	
☐	7.6	Contestação de Caducidade/Nulidade	
☐	7.7	Cópia oficial do pedido depositado.	
☒	7.8	Cumprimento ou Contestação de Exig. **RPI 2193** de **26/01/2013**	1
☐	7.9	Desarquivamento, arquivado na RPI , de	
☐	7.10	Documentos de Prioridade	
☐	7.11	Exame do Pedido com reivindicações	
☐	7.12	Expedição de Carta Patente / Certificado de Adição	
☐	7.13	Guia(s) de Recolhimento	
☐	7.14	Manifestação s/ Parecer RPI , de	
☐	7.15	Nulidade da Patente / Certificado de Adição	
☒	7.16	Procuração	1
☐	7.17	Publicação Antecipada	
☐	7.18	Recurso contra o Indeferimento	
☐	7.19	Recurso, (outros)	
☐	7.20	Renúncia da Patente	
☐	7.21	Restauração de pedido / patente	
☐	7.22	Retirada do Pedido	
☐	7.23	Subsídios ao Exame Técnico	
☐	7.24	Oferta de Licença	
☐	7.25	Outros (especificar):	

8. **Total de folhas anexadas** (referentes aos campos 6 e 7): **3** **fls.**

9. **Declaro, sob penas da Lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras**

Brasília-DF, 7 de março de 2013
Local e Data

Assinatura e Carimbo

Sibelle de Andrade Silva
Matrícula: 355030
Secretaria de Negócios

Formulário nº 1.02 - Petição ou Requerimento, relacionado com pedido patente ou certificado de adição (fl. 1/2):-

ILMO. SR. DIRETOR DE PATENTES DO INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

DIRPA - Diretoria de Patentes
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

ASSUNTO: CUMPRIMENTO DE EXIGÊNCIA DO EXAME FORMAL PRELIMINAR PARA O PEDIDO DE PATENTE INTITULADO "PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE EXTRATO OBTIDO A PARTIR DE RESÍDUOS DE PSEUDOFRUTO DE CAJU E PRODUTO DE ELEVADO TEOR DE CAROTENOIDES"– BR 10 2012 0097613 DE 26/04/2012.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, pessoa jurídica de direito público, vem apresentar **nova página 1 do RESUMO** do pedido de patente em referência visando cumprir a exigência emitida que constatou que o título do resumo originalmente apresentado, por um lapso, diferiu do título apresentado nos demais documentos protocolados.

Nestes termos, gentileza considerar a modificação apresentada na página do resumo como parte integrante do processo protocolado em 26/04/2012.

SIBELLE DE ANDRADE SILVA
Analista A / Coordenadoria de Propriedade Intelectual – CPI
Secretaria de Negócios – SNE

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Parque Estação Biológica - PqEB Av. W3 Norte (Final)
Ed. Sede Caixa Postal 8605 - CEP 70770-901 - Brasília - DF
Tel: (61) 3448-4433 - Fax: (61) 3347-1041
www.embrapa.br

RESUMO

"PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE EXTRATO OBTIDO A PARTIR DE RESÍDUOS DE PSEUDOFRUTO DE CAJU E PRODUTO DE ELEVADO TEOR DE CAROTENOIDES"

A presente invenção apresenta um processo para concentração e purificação de carotenoides a partir de fibras residuais da produção de suco de caju integral sob condições controladas sem uso de qualquer solvente orgânico. O processo envolve uma pré-maceração das fibras de caju com uso de enzimas desagregadoras de estruturas celulares, que atuam sobre os tecidos fibrosos em combinação com prensagens controladas em ciclos sucessivos de extração aquosa. A concentração do extrato bruto obtido por maceração/prensagem é realizada à temperatura ambiente com uso de membranas de microfiltração em fluxo tangencial. O produto concentrado é então tratado por técnicas de diafiltração para ser purificado, eliminando-se grande parte dos componentes indesejáveis e que favoreçam a sua deterioração microbiana e bioquímica. O concentrado final possui potencial de aplicação como corante para alimentos de consumo humano e ração animal, sendo aplicável nas áreas de sucos e bebidas prontas para o consumo devido à considerável solubilidade em água.

Diretoria de Patentes
Publicação na Revista de Propriedade Industrial

alineaco **Despacho:** 2.1 **Pedido:** BR102012009761-3

N° do Pedido (21) :	102012009761-3
Data do Depósito (22) :	26/04/2012
Nome do Depositante (71) :	EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria (BR/DF)
	Centre de Cooperation Internationale En Recherche Agronomique Pour Le Developpment (CIRAD) (FR)
	Centre International D'Etudes Superieures En Sciences Agronomiques (Montpellier Supagro) (FR)
	Torres Comércio e Processamento de Produtos Naturais Ltda (BR/CE)
Procurador (74) :	Sibelle de Andrade Silva
Publicação na RPI (200):	Publicado na RPI n° 2220 de 23/07/2013.