



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0900285-5 B1



(22) Data do Depósito: 13/02/2009

(45) Data de Concessão: 04/02/2020

(54) Título: MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE CISTOS DE ARTÊMIA

(51) Int.Cl.: A01K 61/00.

(30) Prioridade Unionista: 13/02/2008 EP 08 151381.4.

(73) Titular(es): INVE TECHNOLOGIES NV.

(72) Inventor(es): GEERT ROMBAUT; LUCIAAN ALEX JOHAN VAN NIEUWENHOVE; EDDY MARIE JULES NAESSENS-FOUCQUAERT.

(57) Resumo: MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE CISTOS DE ARTEMIA. A presente invenção refere-se a cistos, especificamente cistos de artêmia, que são incubados em um meio de incubação de tal forma que uma parte dos cistos é incubada e liberam organismos vivos de alimento de nado livre. Os organismos vivos de alimento de nado livre em seguida têm que ser separados dos cistos que não foram incubados. Antes da incubação dos cistos, partículas magnéticas são aplicadas sobre os cistos de tal forma que esses cistos possam ser atraídos magneticamente, especificamente no meio de incubação líquido. Isso permite a separação dos cistos não-incubados e as cascas vazias dos cistos, revestidos com as partículas magnéticas, efetivamente dos organismos vivos de alimento de nado livre os quais não têm partículas magnéticas aplicadas sobre as suas superfícies externas. A invenção também se refere aos cistos revestidos.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE CISTOS DE ARTÊMIA"**.

[1] A presente invenção refere-se a um método para o tratamento de cistos, de modo específico de cistos de artêmia, que são destinados a serem incubados em um meio líquido de incubação para produzir organismos de alimentos vivos, especificamente náuplios de artêmia.

[2] A produção de náuplios de artêmia como um alimento vivo para larvas de peixes e de crustáceos é considerada uma operação essencial nas incubadoras marinhas. As etapas de produção dos náuplios de artêmia incluem comumente a incubação, separação, enriquecimento, enxágue e colheita, enquanto uma peneira ou um concentrador/enxaguador é usualmente necessário para a colheita e o enxágue dos náuplios de artêmia. Um concentrador é na realidade um filtro, que é usado para a separação da água servida dos náuplios, para a remoção do excesso de água a partir dos náuplios depois da incubação até um volume final adequado para a distribuição ou armazenamento e para remover através de lavagem o revestimento de óleo sobre os náuplios depois do enriquecimento.

[3] Depois da incubação os náuplios da artêmia necessitam ser separados dos cistos não-incubados e das cascas vazias dos cistos, na medida em que esses cristais e cascas podem causar grandes problemas nos tanques de larvas. Por certo, quando elas são ingeridas pelo predador, elas podem não ser digeridas e podem obstruir o intestino do qual as larvas de peixe ou de outro predador podem morrer. A separação é conseguida na maioria das instalações incubadoras através da remoção do tubo de aeração do tanque de incubação, permitindo que objetos diferentes (náuplios de artêmia, cistos inteiros e cascas vazias de cistos) no tanque de incubação se separem. Os náuplios de artêmia nadam livremente no tanque de incubação e podem ser

recolhidos no fundo, na ponta do cone de incubação, com a utilização de luz (os náuplios de artêmia são atraídos pela fonte de luz). Por outro lado, as cascas vazias dos cistos tendem a flutuar, enquanto que os cistos da artêmia não-incubados totalmente tendem a afundar. Esses últimos objetos podem interferir com a qualidade dos náuplios da artêmia depois da colheita dos náuplios incubados. Quando uma quantidade de cistos (cheios ou vazios) é encontrada entre os náuplios incubados é necessária uma etapa extra de separação para a remoção desses cistos dos náuplios da artêmia. Usualmente, é usada uma peneira para a remoção dos cistos a partir dos náuplios da artêmia, através do recolhimento dos cistos na peneira. A peneira é escolhida de tal forma que os náuplios possam passar na peneira e que os objetos tais como os cistos sejam recolhidos pela peneira. No total o tamanho da malha da peneira é de aproximadamente 212 μm . Os próprios náuplios são em seguida recolhidos em uma peneira mais fina. Usualmente o método de duas peneiras é usado, uma primeira peneira retendo os cistos não-incubados, e a segunda peneira os náuplios. O processo de separação no método de duas peneiras é um processo delicado e que consome tempo.

[4] Dependendo da proporção de cistos para náuplios de artêmia nas artêmias concentradas na ponta do tanque de incubação, esta etapa de filtragem pode ser feita de forma eficaz ou de forma não-eficaz. Quanto mais cistos estiverem presentes, mais rapidamente a peneira ficará entupida. O entupimento não irá reduzir somente a velocidade do fluxo, mas também irá aumentar o risco de danificação dos náuplios, e tem, por esse motivo sido reconhecido como um problema principal nos processos de incubação/ separação. Para impedir o entupimento, as partículas na peneira de filtragem têm que ser removidas de forma eficiente durante a filtragem. Na prática, é usado um jato de água para fazer passar os náuplios através do filtro. A etapa de filtra-

gem deve por certo ser executada de uma forma bastante rápida uma vez que a aeração do tanque de incubação é usualmente parada para permitir que as cascas vazias dos cistos possam flutuar no tanque de incubação e que os náuplios se concentrem na parte do fundo. Os náuplios não podem ser deixados assentar durante muito tempo na ponta do container cônico para impedir que os mesmos morram devido à redução do oxigênio.

[5] Uma das soluções usadas nas instalações de incubação para superar o problema de ter que separar os cistos não-incubados dos náuplios é a de remover as cápsulas dos cistos de artêmia. A remoção das cápsulas dos cistos (= remoção da camada externa da casca do cisto a partir do embrião da artêmia) é um processo químico bem-conhecido desenvolvido nos anos 70. O procedimento clássico de remoção das cápsulas consiste em dissolver as cápsulas dos cistos (córon) com NaOCl (hipoclorito de sódio) com uma adição de NaOH (para a manutenção de um pH elevado) durante um período de tempo limitado. A camada exterior do cisto se dissolve através de oxidação. Logo que a reação exotérmica termina, os cistos sem as cápsulas necessitam ser imediatamente neutralizados com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ para a proteção dos embriões contra a oxidação. Quando o processo de remoção das cápsulas é executado de forma apropriada, a viabilidade dos embriões não é afetada e eles podem ser incubados em náuplios ou desidratados para o armazenamento. A remoção das cápsulas dos cistos elimina a necessidade de separação das cascas vazias dos cistos e dos cistos não-incubados. No entanto os cistos sem as cápsulas não-incubados se afundam com facilidade nos tanques de larvas, de peixes ou camarões e podem decompor ou deteriorar o meio de cultura, ocasionando possivelmente infecções e doenças bacterianas.

[6] Embora a maioria das instalações de incubação aplique esse processo, uma desvantagem principal de tal processo de remoção

das cápsulas é que a matéria descartada pode conter níveis elevados de produtos tóxicos e por essa razão é muito difícil de ser purificada, como por exemplo, a água de despejo pode conter níveis elevados de COD, CI e AOX. Atualmente, é impossível a execução de tal processo em uma grande escala devido a problemas de meio ambiente que aparecem com relação ao descarte de tais produtos químicos. Outra desvantagem é que o processo de remoção de cápsulas requer uma grande quantidade de mão de obra e necessita além disso de ser executado de forma precisa uma vez que de outra forma a viabilidade dos cistos pode ser afetada. Devido à reação exotérmica, o meio de remoção das cápsulas tem que ser resfriado e o processo de remoção de cápsulas deve ser parado exatamente no momento certo para impedir a oxidação dos próprios embriões (vide, por exemplo, a Publicação SRAC No. 702 de Outubro de 2000 "*Artemia* Production for Marine Larval Fish Culture" by Granvil D. Treece).

[7] Um objetivo da presente invenção é por esse motivo o de prover um novo método para permitir a separação de cistos não-incubados, e opcionalmente também das cascas vazias dos cistos, de forma efetiva a partir dos organismos de alimento vivos que nadam de modo livre, especificamente a partir dos náuplios de artêmia, com menos risco de danificar ou de matar os organismos de alimentos vivos que nadam de modo livre.

[8] Para essa finalidade, o método de acordo com a invenção é caracterizado por compreender a etapa da aplicação de partículas magnéticas sobre os cistos permitindo atrair de forma magnética os referidos cistos, especificamente no referido meio líquido de incubação.

[9] Através da presença de partículas magnéticas sobre os cistos porém não sobre os organismos de alimentos vivos que nadam de modo livre que são incubados fora dos cistos, os cistos podem ser

atraídos de forma magnética e podem assim ser separados efetivamente, sem danificar os organismos vivos de alimentação, a partir desses organismos. É possível, por exemplo, a aplicação de um magneto no meio de incubação para atrair os cistos não-incubados e as cascas vazias dos cistos para a remoção dos mesmos a partir do meio de incubação, tanto através da remoção do magneto com os cistos e as cascas dos cistos que estão aderidas ao mesmo a partir do tanque de incubação ou através da remoção do meio de incubação com os organismos de alimento vivos que nadam enquanto o magneto é mantido no tanque. Neste último caso, o magneto pode também ser aplicado em ou na parede do tanque de tal forma que os cistos não-incubados e as cascas vazias de cistos possam aderir à parede do tanque. Alternativamente ou além disso, o meio de incubação também pode ser encaminhado depois da etapa de incubação através de um dispositivo de separação, especificamente um fluxo através do dispositivo, que contém um magneto que prende os cistos não-incubados e quaisquer cascas vazias dos cistos.

[10] Pelo termo "partículas magnéticas" entende-se partículas que são capazes de ser atraídas através de um magneto. As partículas podem desse modo ser feitas de um material ferromagnético, ferrimagnético ou mesmo um material (forte) paramagnético. As partículas feitas a partir de um material ferro- ou ferrimagnético podem ser magnetizadas, isto é, convertidas em pequenos magnetos. Nesse caso, embora ainda seja de preferência o uso de magnetos para a atração dos cistos e das cascas de cistos, os magnetos podem ser substituídos por materiais magnéticos não-magnetizados.

[11] Em uma modalidade de preferência do método de acordo com a invenção, as partículas magnéticas são aplicadas na forma de uma suspensão líquida, de mofo específico na forma de uma suspensão aquosa, por cima dos cistos, de preferência quando os cistos tive-

rem uma superfície seca de tal forma que eles possam fluir de forma livre. Em outra modalidade, as partículas magnéticas são aplicadas na forma de um pó sobre os cistos. A expressão "de fluxo livre" é destinada a significar na presente especificação que os cistos não se colam em conjunto em pequenos grumos, porém existem como indivíduos que podem ser despejados com facilidade a partir de um pedaço de papel.

[12] Foi descoberto que, mesmo sem qualquer adesivo ou revestimento adesivo sobre as partículas magnéticas, as partículas magnéticas se aderem de modo suficiente aos cistos e permanecem aderidas aos mesmos no meio de incubação, de tal forma que depois da incubação os cistos e as cascas vazias dos cistos possam ser separadas através da atração magnética a dos organismos de alimentos vivos que nadam de forma livre. É muito mais fácil impedir que os cistos se grudem em conjunto. No entanto, isso não exclui a possibilidade da utilização de um adesivo no método de acordo com a invenção. Por exemplo, pode ser usado um adesivo como o CMC (carboximetil celulose), que é dissolvido quando os cistos são introduzidos no meio de incubação.

[13] Em uma modalidade preferencial adicional do método de acordo com a invenção, antes de ser aplicado sobre os cistos, pelo menos 90% em peso das partículas magnéticas têm um tamanho menor do que 10 μm , de preferência menor do que 5 μm , de mais preferência menor do que 1 μm , e de maior preferência menor do que 0,5 μm .

[14] Uma vantagem dessa modalidade é que essas partículas pequenas se aderem melhor aos cistos do que às partículas maiores. Uma vez revestidas sobre os cistos, as partículas magnéticas podem formar depósitos maiores (cristais) sobre os cistos o que pode de forma específica e parcial ser devido às forças de atração magnéticas

entre as partículas magnéticas.

[15] A invenção também refere-se a cistos, de modo específico aos cistos de artêmia, que podem ser obtidos através do método de acordo com a invenção. Esses cistos são caracterizados por ter partículas magnéticas aplicadas sobre a superfície exterior dos mesmos.

[16] A invenção finalmente também refere-se a um método para a produção de cistos de partida para os organismos de alimentos vivos que nadam livre forma livre de acordo com a invenção nos quais os cistos são incubados em um meio de incubação de tal forma que uma parte dos cistos se incubam e liberam organismos de alimentos vivos que nadam de forma livre e em que os organismos de alimento vivo de natação livre são separados a partir dos cistos que não incubaram e a partir das cascas vazias dos cistos. De acordo com a invenção, os cistos não-incubados, que tem partículas magnéticas aplicadas sobre a superfície externa dos mesmos são separados depois da etapa de incubação através da atração magnética, a partir dos organismos de alimentos vivos de nadam de forma livre que não têm partículas magnéticas aplicadas sobre as superfícies externas dos mesmos.

[17] Outras particularidades e vantagens da invenção se tornarão aparentes a partir da descrição que se segue de algumas modalidades específicas dos métodos e dos cistos de acordo com a presente invenção. Os números de referência usados nesta descrição estão relacionados aos desenhos em anexo, nos quais:

[18] a figura 1 mostra de forma esquemática um tanque de incubação no qual um dispositivo de remoção de cistos com magnetos está disposto para a separação, depois da incubação dos cistos, dos cistos não-incubados a partir dos náuplios produzidos; e

[19] a figura 2 mostra, em uma escala maior, uma modalidade de um dispositivo através do qual o material flui permitindo separar de forma magnética os cistos não-incubados dos náuplios, através das

passagens do meio de incubação, depois da etapa de incubação, através do mesmo dispositivo.

[20] A presente invenção é destinada a prover um método novo e vantajoso para a separação de cistos não-incubados, e opcionalmente também das cascas vazias de cistos, a partir dos organismos de alimentos vivos que nadam de forma livre que tenham sido incubados para fora dos cistos. Os cistos são especificamente cistos de artêmia, porém a invenção também pode ser aplicada a outros tipos de cistos. O termo cisto é além disso destinado a englobar não somente os embriões que estão fechados dentro de uma casca exterior e que podem ser incubados de forma relativamente rápida (dentro de um ou dois dias), porém também para englobar os óvulos nos quais o embrião ainda tem que se desenvolver antes que ele possa ser incubado. A presente invenção, por esse motivo, também pode ser aplicável a cistos (óvulos) de outros animais aquáticos tais como as rotíferas, artêmia de água doce, etc. A aplicação principal da presente invenção é, no entanto, com relação aos cistos da artêmia de tal forma que a descrição adicional será feita somente com referência a esses cistos de artêmia e aos náuplios de nado livre que se incubaram a partir dos cistos da artêmia.

[21] Os cistos da artêmia estão disponíveis em grandes quantidades ao longo das linhas de costas de lagos hipersalinos, lagoas costeiras e salinas espalhadas sobre os cinco continentes. Depois de serem colhidos, os cistos são lavados e armazenados em uma solução de salmoura durante vários meses. Em seguida, depois de processamento (lavagem e enxágue com água doce) eles são secos até um conteúdo de água abaixo de 15% em peso. Na ocasião da incubação em água marinha, esses cistos liberam os náuplios de nado livre que podem ser alimentados diretamente como uma fonte de alimento nutritivo vivo as larvas de uma variedade de organismos marinhos e tam-

bém de água doce, o que torna aos mesmos a alimentação viva mais conveniente, com menos necessidade de mão de obra disponível na aquicultura.

[22] Um exemplo de um recipiente 1 que pode ser usado para a incubação de cistos de artêmia é ilustrado na figura 1. Os melhores resultados de incubação são alcançados na prática em um recipiente 1 que tem uma parede 2 formando um fundo cônico 3 e que é aerado a partir do fundo. Os tanques cilíndricos ou de fundo quadrado terão pontos mortos nos quais os cistos da artêmia e os náuplios se acumulam e sofrem da falta de oxigênio; Os recipientes transparentes ou translúcidos irão facilitar a inspeção da suspensão de incubação, especialmente quando da ocasião da colheita. Além disso, o recipiente 1 pode ser equipado com pelo menos uma fonte de luz 8, que é posicionada na parte do fundo cônico para atrair os náuplios na direção do fundo antes da colheita dos mesmos.

[23] Depois da colheita dos cistos no recipiente 1, a aeração é parada para que a maioria dos cistos não-incubados se assentem sobre o fundo 3 e a maioria das cascas vazias dos cistos possam flutuar por cima da superfície do meio de incubação. O recipiente 1 é provido no fundo com uma saída 5 de tal forma que o meio de incubação que contenha os náuplios que estejam nadando de forma livre, possa ser retido sobre uma peneira. Com a finalidade de evitar ter que recolher com a peneira os cistos não-incubados a partir do meio de incubação, ou com a finalidade da redução da quantidade de cistos não-incubados que tenham que ser retirados com a peneira do meio de incubação, um método de separação magnética é agora usado.

[24] De acordo com a presente invenção, os cistos introduzidos no meio de incubação são providos com partículas magnéticas por cima de sua superfície externa. Desse modo, os cistos não-incubados e as cascas vazias dos cistos podem ser separados dos náuplios que

estão nadando de forma livre através de atração magnética que foram incubados para fora dos cistos e que não contêm partículas magnéticas. Essa separação pode ser realizada de formas diferentes.

[25] Depois da etapa de incubação, um dispositivo 6 de remoção de cistos que compreende um ou mais magnetos 7 pode ser baixado para dentro do meio de incubação de tal forma que os cistos não-incubados e as cascas vazias dos cistos sejam atraídos por esse dispositivo 6 e se coleem aos magnetos 7. Com a finalidade de ser capaz de também remover os cistos não-incubados que ficam situados na parte do fundo do recipiente, o meio de incubação pode ser circulado a partir do fundo do recipiente na direção do topo do mesmo. Dessa forma, menos cistos não-incubados chegarão à peneira de cistos de tal forma que, quando a separação magnética for suficientemente eficaz, não seja mais necessário peneirar quaisquer cistos não-incubados para fora do meio de incubação.

[26] Ao invés de baixar um dispositivo de remoção de cistos 6 para dentro do recipiente de incubação, ou além disso, também é possível prover a parede do recipiente de incubação 2, especificamente o fundo cônico 3 do mesmo, com um ou mais magnetos 8. Dessa forma, quando o recipiente 1 é esvaziado através da saída 5, os cistos não-incubados e as cascas vazias dos cistos irão se prender à parede do recipiente 1 no local dos magnetos 8.

[27] Durante a incubação dos cistos no meio de incubação, os magnetos 8 devem de preferência ser removidos de tal forma que os cistos fiquem distribuídos de modo uniforme no meio de incubação através do ar insuflado no mesmo meio de incubação. Quando os magnetos 8 não forem magnetos permanentes, porém ao invés forem eletromagnetos 8, a corrente elétrica também poderá ser interrompida ao invés da remoção dos magnetos. Os magnetos 7 do dispositivo de remoção de cistos 6 que são baixados para dentro do meio de incuba-

ção também podem ser eletromagnetos, porém são de preferência magnetos permanentes com a finalidade de reduzir os riscos da eletricidade.

[28] No lugar de, ou além da separação magnética dos cistos não-incubados no próprio recipiente de incubação, os cistos não-incubados e as cascas vazias dos cistos podem ser separados a partir dos náuplios em um dispositivo através do qual passa o fluxo, no qual o meio de incubação é guiado ao longo de pelo menos um magneto de tal forma que os cistos não-incubados e quaisquer cascas vazias de cistos se fixem ao magneto enquanto que os náuplios não são atraídos e passam pelo magneto. Um exemplo de tal dispositivo através do qual o fluxo passa está ilustrado de forma esquemática na figura 2. Ele compreende uma câmara alongada 9 que tem uma entrada 10 e uma saída 11. A câmara alongada 9 é enchida com lã de aço 12 de aço inoxidável de tipo magnético (ou de outra lã ferromagnética resistente à corrosão) e é envolvido por uma resistência elétrica 13 de tal forma que possa gerar um campo magnético na câmara alongada 9. A lã de aço 12 pode ser assim magnetizada de tal forma que ela forme magnetos que atraem os cistos não-incubados ou as cascas vazias de cistos carregadas com as partículas magnéticas. Devido à grande área de superfície da lã de aço 12, uma grande superfície fica disponível para a retenção dos cistos não-incubados ou as cascas vazias de cistos que fluem através do dispositivo. Outros detalhes cerca de tal dispositivo de separação magnética podem ser encontrados na US 3 676 337, que é incorporada aqui, neste pedido de patente por referência.

[29] Como descrito aqui, neste pedido de patente mais acima, uma característica essencial da presente invenção é que os cistos são providos com partículas magnéticas sobre a sua superfície externa. Os presentes inventores descobriram que através da aplicação de partículas magnéticas sobre os cistos, os cistos não-incubados ou as cascas

vazias de cistos não podem somente ser separados de forma efetiva a partir dos náuplios produzidos, mas também de forma importante, os cistos podem ser revestidos de uma maneira de cisto eficaz com a quantidade exigida de partículas magnéticas.

[30] As partículas magnéticas podem ser aplicadas na forma de um pó sobre os cistos. Neste caso, os cistos tem de preferência uma superfície molhada (não são de fluxo livre) quando o pó é aplicado sobre os mesmos de tal forma que as partículas magnéticas possam se aderir melhor aos cistos. O pó pode especificamente ser aplicado sobre os cistos depois de haver removido os cistos para fora da solução de salmoura, porém antes de secar os mesmos, de tal forma que eles ainda tenham uma superfície molhada. Nesse modo, os cistos têm que ser secos somente uma vez, especificamente até um conteúdo de água de menos do que 25% em peso, de preferência até um conteúdo de água de menos do que 20% em peso e de mais preferência até um conteúdo de água de menos do que 15% em peso.

[31] Uma vez que uma suspensão líquida pode ser aplicada mais facilmente, as partículas magnéticas são aplicadas de preferência sobre os cistos na forma de uma suspensão líquida. As partículas magnéticas podem estar em suspensão em um solvente orgânico, por exemplo, um óleo vegetal dentro de etanol, porém elas são de preferência suspensas dentro de um meio aquoso para formar uma suspensão aquosa. Essa suspensão pode ser aplicada, de forma específica pulverizada, como descrito acima sobre os cistos molhados antes da secagem dos mesmos até os conteúdos de água acima descritos, ou ela pode ser pulverizada sobre os cistos secos de fluxo livre. Quando é usada uma suspensão aquosa, a superfície dos cistos secos se torna molhada porém a água é quase que rapidamente absorvida pelos cistos secos de tal forma que quando os cistos forem agitados eles se tornem de novo em fluxo livre. Quando os cistos estão suficiente-

mente secos, e quando é usada uma quantidade suficientemente pequena de suspensão aquosa, o conteúdo (interno) de água dos cistos tratados pode permanecer abaixo de 25% em peso, de preferência abaixo de 20% em peso, ou mesmo abaixo de 15% em peso. No entanto, depois de ter aplicado a suspensão aquosa, os cistos podem ser secados de novo para chegar a esses conteúdos de água baixos. Uma vantagem de tais conteúdos baixos de água é que, depois de terem sido aplicadas às partículas magnéticas, os cistos podem ser embalados e armazenados da forma usual durante vários meses antes de serem usados. Uma outra vantagem de secar de novo os cistos é que as partículas magnéticas aderem aparentemente de modo mais forte aos cistos na medida em que a separação magnética foi mais eficaz quando os cistos foram secados primeiro antes da introdução dos mesmos dentro do meio de incubação.

[32] No lugar da aplicação de partículas magnéticas pré formadas sobre os cistos, as partículas magnéticas também podem ser formadas *in situ* sobre os cistos, por exemplo, na forma de um revestimento. Um revestimento de material magnético também pode ser considerado na presente especificação e reivindicações como sendo as partículas magnéticas que são aplicadas sobre os cistos, uma vez que o revestimento, mesmo quando é contínuo, tem de ser, não obstante, quebradiço e ser capaz de se quebrar com facilidade em partículas magnéticas para permitir a incubação dos cistos. Como descrito na WO 04/057952 as cascas dos cistos podem reagir com permanganato (especificamente com permanganato de potássio) para a produção de uma camada de dióxido de manganês sobre os cistos, Na WO 04/057952 esta camada de dióxido de manganês foi em seguida removida para a produção de cistos não encapsulados, porém de acordo com a presente invenção a camada de dióxido de manganês não tem que ser removida mas pode ser usada para a separação magnética

dos cistos e das cascas dos cistos dos náuplios produzidos.

[33] As partículas magnéticas podem ser feitas de materiais ferromagnéticos, ferrimagnéticos ou mesmo para magnéticos. Os materiais ferromagnéticos e os materiais ferrimagnéticos são, no entanto de preferência uma vez que eles necessitam de campos magnéticos menores para alcançar as forças magnéticas exigidas para a separação dos cistos de das cascas dos cistos dos náuplios. As partículas magnéticas compreendem de preferência um óxido de um ou mais metais de transição, especificamente um ou mais óxidos selecionados a partir do grupo que consiste de CrO_2 (óxido (IV) de cromo), CoFe_2O_4 (ferrita de cobalto), CuFe_2O_4 (ferrita de cobre), $\text{Dy}_3\text{Fe}_5\text{O}_{12}$ (disprósio ferro granada), DyFeO_3 (ortoferrita de disprósio), ErFeO_3 (ortoferrita de érbio), $\text{Fe}_5\text{Gd}_3\text{O}_{12}$ (gadolinio ferro granada), $\text{Fe}_5\text{Ho}_3\text{O}_{12}$ (granada de hólmio ferro), FeMnNiO_4 (óxido de ferro níquel manganês), Fe_2O_3 (maghemita), Fe_3O_4 (magnetita), Fe_2O_3 (hematita), FeLaO_3 (ferrita de lântano), MgFe_2O_4 (ferrita de magnésio), Fe_2MnO_4 (ferrita de manganês), MnO_2 (dióxido de manganês), $\text{Nd}_2\text{O}_7\text{Ti}_2$ (dititanato de neodímio), $\text{Al}_{0.2}\text{Fe}_{1.8}\text{NiO}_4$ (ferrita de alumínio níquel), $\text{Fe}_2\text{Ni}_{0.5}\text{O}_4\text{Zn}_{0.5}$ (ferrita de níquel-zinco), $\text{Fe}_2\text{Ni}_{0.4}\text{O}_4\text{Zn}_{0.6}$ (ferrita de níquel zinco), $\text{Fe}_2\text{Ni}_{0.8}\text{O}_4\text{Zn}_{0.2}$ (ferrita de níquel zinco), NiO (óxido (II) de níquel), Fe_2NiO_4 (ferrita de níquel), $\text{Fe}_5\text{O}_{12}\text{Sm}_3$ (ferro granada de sarnáario), $\text{Ag}_{0.5}\text{Fe}_{12}\text{La}_{0.5}\text{O}_{19}$ (ferrita de lantânio de prata), $\text{Fe}_5\text{O}_{12}\text{Y}_3$ (granada de ferro ítrio), e FeO_3Y (ortoferrita de ítrio). As partículas magnéticas compreendem de preferência Fe_2O_3 (hematita ou magnemita), MnO_2 (dióxido de manganês) ou um ferrita, de preferência Fe_3O_4 (magnetita). A magnetita é a de maior preferência em vista das fortes propriedades magnéticas da mesma.

[34] Antes de serem aplicadas aos cistos, as partículas magnéticas usadas para o revestimento dos cistos são de preferência tão pequenas que pelo menos 90% em peso das mesmas têm um tamanho

menor que 10 μm , de preferência menor que 5 μm , de mais preferência menor que 1 μm e de maior preferência menos RO que 0,5 μm . Quanto menores forem as partículas, melhor elas aderem aos cistos sem que tenha que ser usado um adesivo. Além do mais, as partículas menores resultam em uma suspensão mais estável, especialmente quando não é usado nenhum estabilizador (surfatante) para a preparação da suspensão. Depois que as partículas magnéticas são aplicadas sobre os cistos, elas podem ter um tamanho maior. Em visadas microscópicas dos cistos revestidos, pode por certo ser observado que as partículas magnéticas se agruparam em conjunto sobre a superfície dos cistos para a formação de grumos/cristais maiores. Isso pode ser explicado possivelmente pelo fato de que a água é retirada a partir da suspensão de tal forma que são formados cristais maiores, porém especialmente também pelo fato de que as partículas magnéticas podem se atrair umas às outras magneticamente para a formação de agrupamentos/grumos.

[35] O pó do material magnético pode ser feito através da trituração do material magnético. Este pó pode em seguida ser misturado com água para fazer uma suspensão aquosa. Uma desvantagem desse método de trituração é que ele leva bastante tempo para chegar a um pó fino e que o tamanho das partículas não é muito uniforme. Além disso, é difícil de serem conseguidos tamanhos de partículas bem pequenos.

[36] Na prática existem os denominados ferrofluidos que podem ser definidos como sendo suspensões coloidais estáveis de partículas ferromagnéticas ou ferrimagnéticas. Como descrito na US 4 329 241 esses ferrofluidos podem ser feitos através da trituração, por exemplo, da ferrita durante várias semanas na presença de querosene ou ácido oléico até que as partículas sejam pequenas o bastante (na ordem de magnitude de 10 nm) para permitir a estabilização da suspensão atra-

vés de movimento Browniano. Esse processo no entanto é bastante dispendioso. Um método mais barato consiste na precipitação da magnetita coloidal através da reação de soluções de sais ferrosos e férricos com substâncias alcalinas tais como o hidróxido de sódio ou uma solução de amônio. O tamanho das partículas pode ser controlado através de agitação. Quando a agitação é suficientemente vigorosa, os tamanhos das partículas podem ainda ser menores que 10 nm. Para conseguir um ferrofluido estável, um revestimento de um agente de suspensão pode ser aplicado sobre as partículas magnéticas. Os métodos para a produção desses ferrofluidos são descritos, por exemplo, nas Patentes US 4 329 241, US 4 906 382, US 5 240 626, US 6 120 856, US 6 277 298, US 6 068 785 e na WO 91/02083.

[37] No método de acordo com a presente invenção, é possível serem utilizados esses ferrofluidos estáveis para a aplicação das partículas magnéticas sobre os cistos. No entanto, foi descoberto que também suspensões mais baratas podem ser usadas, a saber, suspensões que são feitas sem o uso de nenhum agente de dispersão e que não são estáveis podem se assentar dentro de alguns minutos. Uma suspensão de partículas de magnetita pode ser feita com facilidade como descrito acima aqui, neste pedido de patente, através de permitir que sais ferrosos e férricos reajam sob condições alcalinas em um meio aquoso de tal forma que as partículas da magnetita sejam formadas, o tamanho das quais pode ser controlado através da agitação do meio aquoso. Esta suspensão pode ser pulverizada sobre os cistos, especificamente sobre os cistos secos. Foi descoberto que, não obstante o fato de que as partículas magnéticas não são revestidas com um surfatante, ou com substâncias de ligação específicas como descrito na WO 91/02083, elas aderiram suficientemente bem aos cistos. O método de acordo com a invenção pode dessa forma ser executado com materiais baratos e de uma maneira relativamente simples, de tal

forma que ele permite tornar em cistos específicos de baixa qualidade (alta percentagem de separação como determinada através do método geral de separação descrito aqui, neste pedido de patente mais abaixo, porém sem o uso de um magneto) em um produto valioso. O tratamento de acordo com a presente invenção permite por certo a remoção dos cistos não-incubados com facilidade dos náuplios que são usados como organismos de alimento vivo.

[38] As partículas magnéticas são aplicadas de preferência sobre os cistos em uma quantidade de pelo menos 0,75, de preferência de pelo menos 1,0, de mais preferência de pelo menos 1,5 e de maior preferência de pelo menos 2,0 mg/g de matéria seca de cisto. Os testes mostraram que com essas quantidades os cistos não-incubados podem ser efetivamente atraídos e dessa forma separados dos náuplios por meio de um magneto. A quantidade de partículas magnéticas aplicadas sobre os cistos é de preferência mais baixa do que 200, de mais preferência mais baixa que 100 e de maior preferência mais baixa que 50 mg/g de matéria seca de cistos. Na prática, os cistos podem ainda ser atraídos efetivamente quando essa quantidade de partículas magnéticas foi mais baixa que 20 e especificamente ainda mais baixa que 15 mg/g de matéria seca de cistos.

[39] Uma suspensão aquosa de partículas de magnetita preparada por permitir a reação de cloreto ferroso ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e cloreto férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) um com o outro na presença de hidróxido de sódio (NaOH) pode resultar, quando são usadas soluções saturadas, em uma suspensão que contém cerca de 100 g/l de partículas de magnetita. Quando essa solução é pulverizada e/ou misturada sobre os cistos secos, ela é imediatamente absorvida pelos cistos. O conteúdo de água dos cistos se eleva, porém somente em um grau limitado, por exemplo, a partir de 10% até 20%, de tal forma que os cistos permanecem dormentes e podem por esse motivo serem armazenados. A

suspensão produzida pode ser concentrada com facilidade por permitir que as partículas magnéticas se assentem e pela remoção de uma parte do líquido sobrenadante. A concentração das partículas magnéticas, no entanto, é mantida de preferência abaixo de 200 g/l, de mais preferência abaixo de 150 g/l para permitir a pulverização da suspensão com facilidade sobre os cristais. A concentração das partículas magnéticas na suspensão aplicada sobre os cistos é de preferência mais alta que 5 g/l, de mais preferência mais alta que 10 g/l e de maior preferência mais alta que 20 g/l, para limitar o aumento do conteúdo de água dos cistos tratados.

Exemplos

[40] Todos os reagentes e produtos químicos usados nesses experimentos foram de qualidade analítica e obtidos a partir de Sigma Aldrich (Bélgica). A suspensão de magnetita (MS) foi preparada pela mistura do tetraidrato de cloreto ferroso ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), hexaídrito de cloreto férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), hidróxido de sódio (NaOH) e água em uma proporção de 1:2:2:10 enquanto/com agitação. A mistura resultou na formação de nano partículas suspensas de Fe_2O_4 . A preparação feita dessa forma continha aproximadamente 0,1 g de Fe_2O_4 /ml.

[41] O pó de magnetita (óxido (II, III) de ferro, Sigma Aldrich, pó $<5\mu\text{m}$) (MP) foi suspenso em água antes que ele fosse revestido sobre os cistos.

[42] Para o revestimento das partículas de magnetita através do método desta invenção, alíquotas de 5 ml de diversas concentrações de diversos materiais de revestimento (MS e MP) foram misturados com 50 g de tipos de cistos diferentes (conteúdo de umidade dos cistos foi de $\pm 10\%$). Um resultado positivo de revestimento ficou aparente a partir da inspeção visual dos cistos.

[43] Foram usados cones de um litro nos quais 2 g de cistos de artêmia foram incubadas em água do mar artificial (25 g/l) durante de

preferência (porém não-limitado) 24 horas. A temperatura da água nos cones foi mantida constante em torno de 30°C, a água foi constantemente aerada e iluminada. Os critérios usados para a determinação de se os cistos estavam convenientemente revestidos foi o de determinar a quantidade de cistos e das cascas de cistos com relação a quantidade total de cistos, cascas de cistos, náuplios "humbrella" e incubados. Mais abaixo neste texto, este número é apresentado como a "percentagem de separação".

[44] Para a determinação da percentagem de separação, os magnetos foram suspensos no meio de incubação, em um cone de 1 l à aproximadamente 5 cm a partir do fundo do cone (= na marca de 20 a 30 ml). A aeração foi parada e o tubo de aeração foi removido. Depois de 30 segundos, 30 ml do meio de incubação, contendo os náuplios da artêmia, cistos "humbrella" e não-incubados e cascas vazias de cistos foram coletadas e transferidos de volta para o cone de incubação com a utilização de um sifão que foi colocado no fundo do cone de incubação. Depois de 2 minutos, tempo no qual o material magnético tinha se coletado sobre os magnetos, outros 200 ml de meio de incubação foram removidos através da utilização do sifão e transferidos para um novo recipiente. Em seguida, 800 ml de água do mar artificial foram adicionados ao novo cone para aumentar o volume até 1 litro. Foram tomadas amostras para a determinação da percentagem de separação.

[45] O efeito de dose do MS e de MP sobre a percentagem de separação está ilustrado nas Tabelas 1 e 2. Doses de magnitude diferentes foram revestidas sobre os cistos da batelada 1 (Tabela 1) e da batelada 2 (Tabela 2) de acordo com o método da invenção como uma solução de MS ou de MP. Cada tratamento foi avaliado em triplicata com os resultados do tratamento sendo a média das triplicatas. A partir da Tabela 1 parece que, neste exemplo, o revestimento dos cistos da

batelada 1 com 4,5 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{g}$ em peso seco de cistos de MS deu a percentagem mais baixa de separação de 4%, a percentagem de separação dos cistos não-tratados foi de 22%.

[46] Mais importante em uma concentração de 1,5 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{g}$ de cistos, a percentagem de separação já diminui consideravelmente para 14%. Em concentrações de 3 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{g}$ de cistos, a percentagem de separação aparece como sendo mais baixa que 7% e essa fica sob 7% quando quantidades maiores de MS são introduzidas. Mais importante, em uma concentração mais alta que 4,5 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{g}$ em peso seco de cistos, usando MS para o revestimento dos cistos, a percentagem de separação não diminuiu mais.

[47] No caso de MP, houve um claro melhoramento da percentagem de separação, se iniciando a partir de 22% até um mínimo de 8%. Com relação à batelada 1, uma percentagem mínima de separação de 8% foi alcançada quando os cistos foram revestidos com 7,8 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{g}$ em peso seco de cistos. Mais importante, em uma concentração de 4,4 de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{g}$ de cistos, a percentagem de separação já diminuiu de forma considerável para 15%. Para a batelada 2 a percentagem inicial de separação foi de 8% até 10%. Essa percentagem de separação é aumentada para um mínimo de 1% até 0% com a adição de MS e de MP. No entanto, com a adição de MP uma grande quantidade de partículas de magnetita não foi completamente fixada aos cistos e foram liberadas dentro do meio de incubação durante a incubação.

[48] A Tabela 3 ilustra o efeito da secagem dos cistos revestidos sobre a percentagem de separação dos cistos revestidos com MS. Os cistos da batelada 1, revestidos de acordo com a metodologia da invenção, foram secados até o seu conteúdo original de umidade de 10%. A percentagem de separação de ambas as amostras, isto é, antes da secagem (20% de conteúdo de umidade) e depois da secagem

(10% de conteúdo de umidade) foi medida. Aparentemente, foi possível melhorar a percentagem de separação dos cistos revestidos com Fe_3O_4 através da secagem dos cistos. Foi observado que os cistos revestidos com Fe_3O_4 e em seguida secados foram atraídos de forma muito mais rápida pelos magnetos pendurados no meio de incubação que os cistos revestidos que não foram secados.

Tabela 1: Efeito da dose de MS e MP depois do revestimento sobre os cistos da batelada 1 sobre a percentagem de separação.

Cistos	Suspensão de Magnetita	mg Fe_3O_4 /g peso seco de cistos	Percentagem de separação
Batelada 1	MS	0,00 mg	22%
Batelada 1	MS	0,75 mg	19%
Batelada 1	MS	1,50 mg	14%
Batelada 1	MS	3,00 mg	6%
Batelada 1	MS	4,00 mg	7%
Batelada 1	MS	4,50 mg	4%
Batelada 1	MS	6,00 mg	4%
Batelada 1	MS	7,50 mg	5%
Batelada 1	MS	10,00 mg	6%
Batelada 1	MS	12,50 mg	6%
Batelada 1	MP	0,00 mg	22%
Batelada 1	MP	4,40 mg	15%
Batelada 1	MP	6,00 mg	10%
Batelada 1	MP	7,80 mg	8%

Tabela 2: Efeito da dose de MS e MP depois do revestimento sobre os cistos da batelada 1 sobre a percentagem de separação.

Cistos	Suspensão de Magnetita	mg Fe ₃ O ₄ /g peso seco de cistos	Percentagem de separação
Batelada 2	MS	0,00 mg	8%
Batelada 2	MS	7,50 mg	1%
Batelada 2	MS	10,00 mg	1%
Batelada 2	MS	12,50 mg	1%
Batelada 2	MP	0,00 mg	10%
Batelada 2	MP	5,80 mg	1%
Batelada 2	MP	6,10 mg	1%
Batelada 2	MP	7,30 mg	0%
Batelada 2	MP	7,60 mg	1%
Batelada 2	MS	0,00 mg	8%

Tabela 3: Efeito da secagem sobre a percentagem de separação dos cistos da batelada 1 revestidos com MS

Cistos	Suspensão de magnetita	mg Fe ₃ O ₄ /g cistos	Separação	Teor de água
Batelada 1	MS	0 mg	22%	10%
Batelada 1	MS	10 mg	6%	20%
Batelada 1	MS	10 mg	0.4%	10%

REIVINDICAÇÕES

1. Método para o tratamento de cistos, especificamente cistos de artêmia, que são destinados a serem incubados em um meio de incubação líquido para a produção de organismos vivos para alimento, caracterizado em que o método compreende a etapa de aplicar partículas magnéticas por cima dos cistos permitindo atrair de forma magnética os referidos cistos, especificamente no referido meio líquido de incubação.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que as referidas partículas magnéticas são aplicadas na forma de uma suspensão líquida, especificamente na forma de uma suspensão aquosa, sobre os cistos, de preferência quando os cistos têm uma superfície seca de tal forma que eles sejam de fluxo livre.

3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que as referidas partículas magnéticas são aplicadas na forma de um pó sobre os cistos.

4. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, caracterizado em que, depois de terem sido aplicadas às referidas partículas magnéticas sobre os cistos, os cistos têm um teor de água de menos do que 25% em peso, de preferência de menos do que 20% em peso, ou eles são secos até um conteúdo de água de menos do que 25% em peso, de preferência de menos do que 20% em peso e de mais preferência de menos do que 15% em peso.

5. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, caracterizado em que, antes de ser aplicado sobre os cistos pelo menos 90% em peso das referidas partículas magnéticas têm um tamanho menor do que 10 μm , de preferência menor do que 5 μm , de mais preferência menor do que 1 μm , e de maior preferência menor do que 0,5 μm .

6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações

de 1 a 4, caracterizado em que, as referidas partículas magnéticas compreendem um material ferromagnético, um ferrimagnético ou um para magnético, as partículas magnéticas compreendendo de preferência um óxido de um ou mais metais de transição, especificamente Fe_2O_3 (hematita ou magnemita), MnO_2 (dióxido de manganês) ou uma ferrita, de preferência Fe_3O_4 (magnetita).

7. Método para a produção de organismos vivos de alimento de nado livre a partir de cistos obtidos a partir do método como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, cujo método compreende a etapa de incubar os cistos em um meio de incubação de tal forma que uma parte dos cistos sejam incubada e libere organismos vivos de alimento de nado livre e a etapa de separação dos organismos de alimentos vivos de nado livre dos cistos que não foram incubados, caracterizado pelo fato de que depois da etapa de incubação os cistos não-incubados que têm partículas magnéticas aplicadas sobre as suas superfícies externas, são separados através de atração magnética a partir dos organismos de alimentos vivos de nado livre que não têm partículas magnéticas aplicadas sobre as sua superfície externa.

8. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que os cistos são incubados em um recipiente de incubação no qual pelo menos um magneto é disposto para separar os cistos não-incubados dos organismos de alimentos vivos de nado livre.

9. Método de acordo com a reivindicação 7 ou 8, caracterizado pelo fato de que os cistos são incubados em um recipiente de incubação que tem uma parede que é provida com pelo menos um magneto para atrair magneticamente os cistos não-incubados na direção da parede do recipiente.

10. Método de acordo com as reivindicações de 7 a 9, caracterizado em que depois da etapa de incubação, pelo menos uma

parte do meio de incubação que contém os organismos vivos de alimento de nado livre e os cistos não-incubados, é removida a partir do recipiente de incubação é guiada ao longo de pelo menos um magneto de tal forma que os cistos não-incubados se colam ao referido magneto enquanto que os organismos vivos de alimento de nado livre passam o referido magneto.

1/1

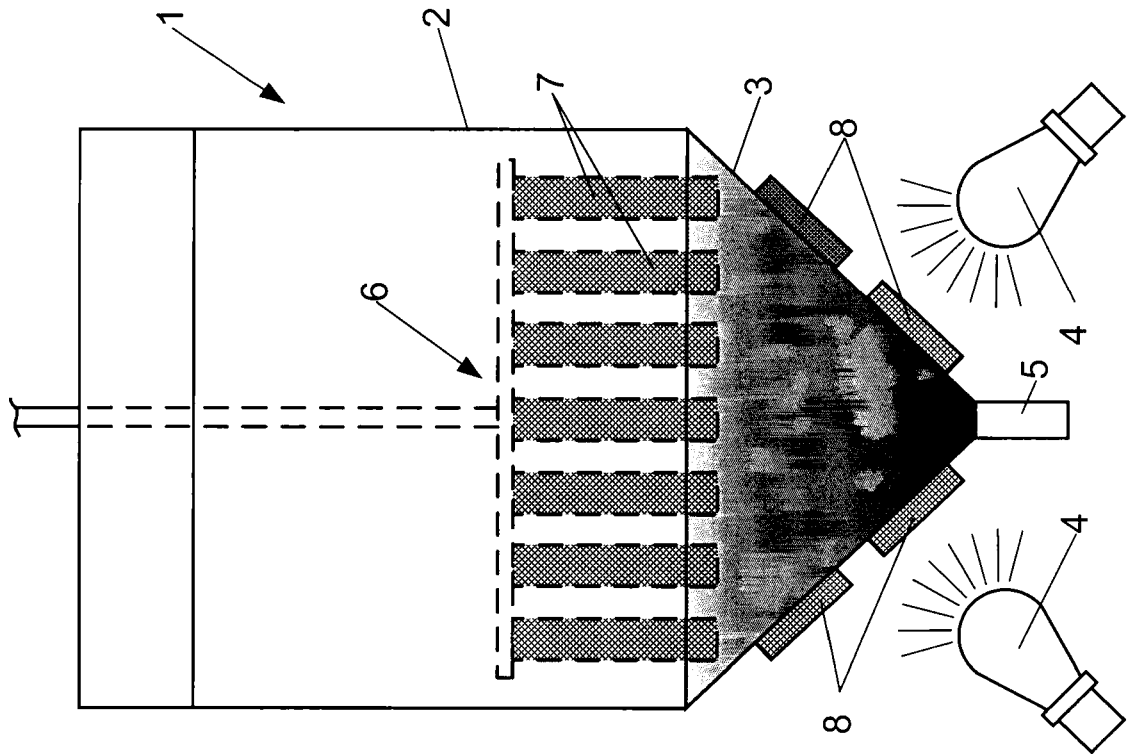


Fig. 1

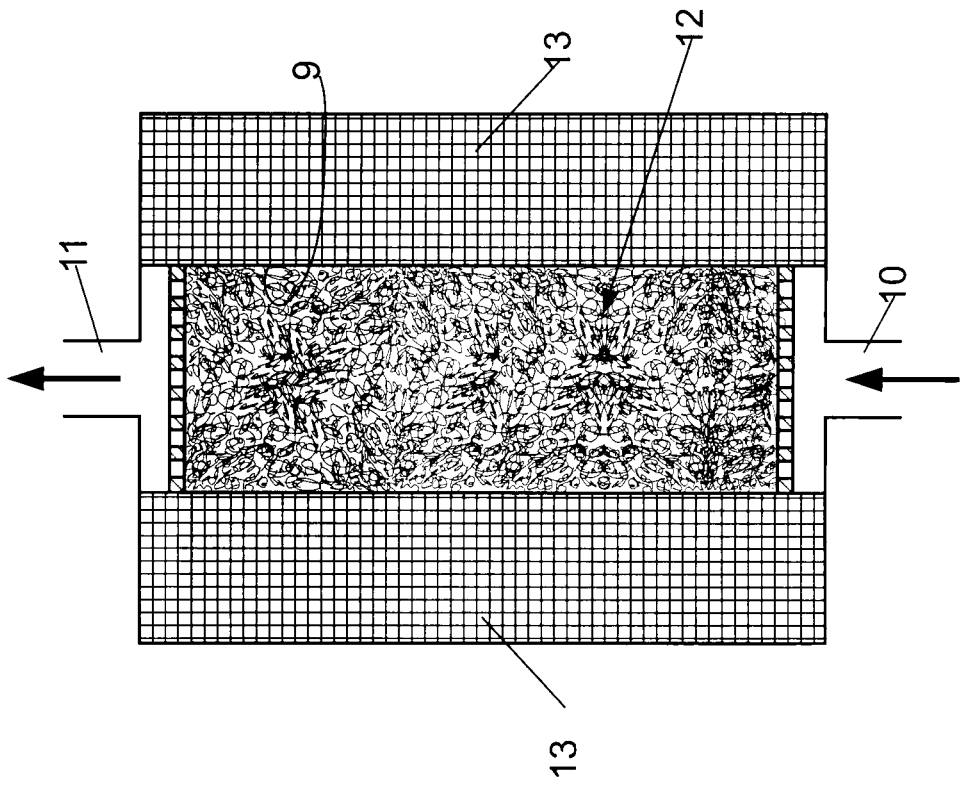


Fig. 2