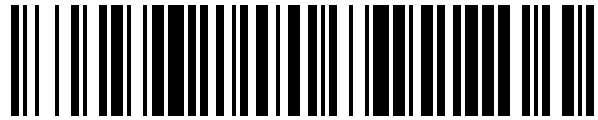


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 217 360**

21 Número de solicitud: 201830993

51 Int. Cl.:

A01N 47/46 (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

27.06.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

17.09.2018

71 Solicitantes:

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (100.0%)
AVDA. BLASCO IBAÑEZ, 13
46010 VALENCIA ES**

72 Inventor/es:

**MECA, Giuseppe;
MAÑES VINUESA, Jordi y
QUILES BESES, Juan Manuel**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

54 Título: **DISPOSITIVO ANTIFÚNGICO**

ES 1 217 360 U

DISPOSITIVO ANTIFÚNGICO

Campo de la invención

La presente invención se encuadra en el campo general del control de contaminación del grano por parte de hongos, y más en particular, se refiere a un dispositivo para reducir el crecimiento de hongos productores de micotoxinas en granos de cereales durante su almacenamiento y/o transporte.

Estado de la técnica

Los cereales cuando provienen del campo son almacenados en silos de diferentes tamaños. En función de la humedad y de la temperatura presente en el interior del lugar de almacenamiento, estos productos se pueden contaminar en mayor o menor grado, con hongos micotoxigénicos, principalmente del género *Aspergillus* y *Penicillium*, que utilizan los cereales como substrato para producir las micotoxinas aflatoxinas (AFs) y la ochratoxinas A, consideradas como unos de los compuestos naturales más potentes desde el punto de vista toxicológico y con mayores repercusiones para la salud del consumidor, sobre todo, a nivel hepático y renal.

La contaminación de los cereales por hongos micotoxigénicos, además de la repercusión toxicológica en los consumidores, tiene una gran repercusión económica. En este sentido, la FAO puso de manifiesto ya en el año 1993 que, en los países en desarrollo, se perdían alrededor del 25% de los cereales en fase post cosecha, principalmente a causa de manipulación inadecuada, deterioro y las plagas.

Entre las causas principales de deterioro y pérdida del grano almacenado se encuentran las aves y roedores, insectos y hongos.

Los insectos causan mayoritariamente la contaminación del grano por parte de hongos toxigénicos con partes de sus cuerpos y excrementos, y niveles mayores a 9 insectos por kilogramo de cereal, hace que la matriz alimentaria se clasifique como infestada. Entre los principales insectos contaminantes podemos mencionar el gorgojo (*Sitophilus* spp), el barrenador del grano (*Rhyzopertha dominica*), el escarabajo serrado (*Oryzaephilus* spp), el escarabajo de la harina (*Tribolium* spp) o el escarabajo chato (*Cryptolestes* spp). La mayoría de ellos, producen calor y agua metabólica durante su desarrollo, incrementado de esta manera, la carga fúngica presente en el grano y su posterior deterioro.

Durante el almacenamiento, los hongos causan la mayoría de los problemas por calentamiento, compactación y deterioro de los granos. Es muy importante en esta fase controlar distintos factores tales como la humedad, y temperatura del grano para evitar el desarrollo de los hongos microscópicos productores de micotoxinas, y otros factores como:

- 5 – la limpieza y desinfección del silo antes de entrar el nuevo forraje para evitar posibles re contaminaciones con hongos.
- el tamaño y orientación del silo adecuado al consumo de ensilado previsto.
- la densidad en el ensilado, hay que garantizar la mayor densidad posible (>750 kg/m³).
- 10 – la humedad de cosecha, el tamaño de picado del forraje y, sobre todo, el pisado deben contribuir a eliminar el oxígeno y evitar así el desarrollo fúngico.
- el uso de inoculantes que mejoren significativamente el control fúngico. Esta solución se basa en cultivos de bacterias lácticas hetero fermentativas que garantizan una acidificación. Un pH bajo es una barrera que limita el desarrollo de los hongos. En el
- 15 proceso fermentativo generan ácido acético y ácido propiónico que impiden también el crecimiento de ciertos hongos ácido-tolerantes. Con esto se mejora la estabilidad aeróbica del silo, sin embargo, la fermentación de la matriz alimentaria por las bacterias ácido lácticas, altera enormemente las características nutricionales de los
- productos tratados incidiendo negativamente muchas veces en la alimentación del
- 20 ganado a la cual va destinada.

Actualmente se han proporcionado distintas tecnologías para resolver estos problemas, la mayoría de las cuales se basan en la liberación de una sustancia químicas como pueden ser los isotiocianatos, u otros aceites esenciales antimicrobianos mediante distintos dispositivos, por ejemplo, la solicitud de patente WO9512981A1 describe una bolsita de plástico que se

25 introduce en el envase del alimento a tratar, y en cuyo interior, se encuentra alil isocianato encapsulado en esferas de celulosa

Las solicitudes de patente WO9011686A y WO9107093A se basan en un aceite esencial que contiene alil isotiocianato (AITC) que puede estar incluido dentro de un soporte permeable al gas para que ejerza su actividad antimicrobiana en el espacio de cabeza del

30 envase.

La solicitud de patente JP2011063544A, describe un dispositivo antimicrobiano basado en gel de sílice impregnado de un isotiocianato que es 2-isotiocianatopropanoato de metilo,

contenido en una bolsita de plástico que libera en el medio el gas antimicrobiano.

La solicitud de patente CN101743990A describe un dispositivo basado en gránulos de liberación controlada, que contienen alil isotiocianato, glutaraldehído y un estabilizante. Siendo el dispositivo un film de contacto directo que va aplicado a la superficie del alimento a tratar.

La solicitud de patente WO2006066308A1 describe una mezcla de AITC y formato de alquilo, para combatir, entre otros, hongos y sus esporas y otros contaminantes para el tratamiento de diferentes tipos de cultivos incluido los en fase de almacenamiento.

El artículo "Assessment of allyl isothiocyanate as a fumigant to avoid mycotoxin production during corn storage" se basa en el estudio del empleo del AITC como agente fumigante para reducir el crecimiento de hongos productores de micotoxinas en maíz.

La solicitud de patente WO2017193221A1 describe un producto compuesto por un material fibroso, que contiene diferentes sustancias antimicrobianas entre ellas el AITC, que tiene un espectro muy amplio de actividades como antibacteriana, antifúngica, o insecticida.

La solicitud de patente WO2014165969A1 describe una mezcla con efecto antimicrobiano y antifúngico para el tratamiento de productos perecederos como el tomate y otros productos vegetales entre los que se citan semillas o granos. El preparado es un producto líquido, que contiene diferentes compuestos antimicrobianos que se introduce dentro del lugar de almacenamiento y que expuesto al aire contenido dentro del espacio de cabeza del mismo lugar se volatiliza dando lugar a la actividad antimicrobiana descrita.

La solicitud de patente WO2015131072A1 describe un producto para su utilización en agricultura, para poderlo utilizar como un plaguicida compuesto por diferentes sustancias antifúngicas en las cuales se encuentran sales del AITC.

Existe pues la necesidad de proporcionar un dispositivo antifúngico capaz de reducir el crecimiento de hongos productores de micotoxinas en granos de cereales durante su almacenamiento y/o transporte, basado en el uso de compuestos bioactivos de origen natural de tal forma que las características organolépticas del alimento no se vean alteradas y de fácil aplicación.

Breve descripción de la invención

La presente invención soluciona los problemas descritos en el estado de la técnica mediante

un dispositivo que comprende un antifúngico natural y que es de fácil aplicación en los sitios de almacenamiento y/o transporte de cereales.

Así pues, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a un dispositivo antifúngico (de aquí en adelante, dispositivo antifúngico de la presente invención) que comprende un recipiente con un extremo abierto y una tapa acoplable de forma desmontable para el cierre de dicho recipiente, donde el recipiente contiene en su interior un gel con partículas de un compuesto volátil encapsuladas en dicho gel, presentando la tapa una pluralidad de orificios pasantes, tal que permiten la difusión de vapores procedentes del compuesto químico volátil desde el interior del recipiente al exterior.

10 En una realización particular, el gel del dispositivo antifúngico de la presente invención es un gel de hidroxietilcelulosa.

En otra realización particular, el compuesto volátil del dispositivo antifúngico de la presente invención, tiene actividad antifúngica. Más en particular, el compuesto volátil del dispositivo antifúngico de la presente invención es alil isotiocianato. Más en particular, el alil isotiocianato se encuentra en una proporción de al menos 50 ppm.

Descripción de las figuras

Figura 1: muestra el dispositivo de la presente invención

Figura 2: mini silo diseñado en escala de laboratorio.

20 Figura 3: muestra la evolución de la volatilización del AITC en el espacio de cabeza del silo modelo en escala de laboratorio, a) hasta 7 días de incubación, b) hasta 28 días de incubación.

Figura 4: muestra la evolución de la carga microbiana de *A. flavus* presente en el maíz tratado con el gel bioactivo compuesto por 50 ppm de AITC. Comparación entre las muestras tratadas y el control a) a día 1 de exposición al AITC y b) día 30 días de exposición al AITC.

Figura 5: muestra el AITC presente en el maíz tratado después de un tiempo de exposición a la molécula antifúngica de 1 y 30 días respectivamente

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona un dispositivo antifúngico (1) que comprende un recipiente (2) con un extremo abierto y una tapa (3) acoplable de forma desmontable para el cierre de dicho recipiente (2), caracterizado por que el recipiente (2) contiene en su interior un gel (4) con partículas de un compuesto volátil (5) encapsuladas en dicho gel (4),
5 presentando la tapa (3) una pluralidad de orificios pasantes (6), tal que permiten la difusión de vapores procedentes del compuesto químico volátil desde el interior del recipiente (1) al exterior.

En una realización preferente, se preparó el dispositivo antifúngico (1) de la presente invención en cuyo interior del recipiente (2) contenía un gel (4) de hidroxietilcelulosa con alil
10 isotiocianato como compuesto volátil (5) encapsulado en dicho gel (4).

Para ello, se preparó una disolución de 10 ml de agua con un 10% de hidroxietilcelulosa y justo en el instante previo a la formación del gel, se añadieron 50 ppm de AITC y se añadió al recipiente (2), que se cerró con la tapa (3) con los orificios pasantes (6) y se esperó a la gelificación.

15 A continuación, se probó la eficacia del dispositivo antifúngico (1) a escala de laboratorio en un mini silo según la figura 2.

El mini silo (8) a escala laboratorio estaba compuesto por un bote de vidrio (9) de 1L en el que se introdujeron 300 g de maíz contaminado con *A. parasiticus* productor de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. En el interior del bote (9) se introdujo el dispositivo antifúngico
20 de la presente invención (1) en el espacio de cabeza del envase y el sistema se cerró mediante una tapa (10) en la cual se ubicaron un septum (11) para el muestreo del AITC durante el almacenamiento, una válvula de salida del aire (12) del interior del envase y otra válvula de entrada de aire (13) que puede ser conectada a un sistema con bomba de aire y secar la matriz alimentaria en el caso de una subida repentina de humedad.

25 Se hicieron pruebas de almacenamiento del maíz durante un mes a lo largo del cual se analizó la microflora fúngica del producto tratado en comparación con un control sin tratamiento, se estudió la volatilización del AITC en el espacio de cabeza y también la cantidad del AITC adsorbida por el producto almacenado.

Mediante el ensayo en micro placa de 96 pocillos se determinó la Concentración Inhibitoria
30 Mínima (MIC) y la Concentración Fungicida Mínima (MFC) del dispositivo antifúngico (1) de la invención sobre los hongos micotoxigénicos *A. flavus* y *P. verrucosum* productores de las micotoxinas Afs y OTA. La MIC y la MFC evidenciadas sobre ambos hongos fueron de 1 y 2

ppm respectivamente demostrando que pequeñas concentraciones del compuesto antimicrobiano AITC fueron capaces de inhibir el crecimiento del 50 (MIC) y 99% (MFC) del hongo respectivamente manifestando un elevado potencial de este compuesto como antimicrobiano natural de uso alimentario.

- 5 En la figura 3 se muestran los datos relativos a la volatilización del AITC en el mini silo (8) descrito creado para realizar estos ensayos. Como se puede observar, en los primeros 7 días la concentración del AITC varió desde concentraciones próximas a 1 ppm hasta 0.4 ppm para luego disminuir hasta 0.25 ppm a 28 días de incubación.

10 Estos resultados son particularmente interesantes si se tiene en cuenta que durante los primeros cuatro días los valores de AITC evidenciados en el espacio de cabeza fueron muy próximos a la MIC, mientras que al final del periodo de incubación disminuyeron hasta alcanzar 4 veces la MIC.

15 Los datos descritos en la figura 3 fueron particularmente interesantes al relacionarlos con los datos del crecimiento fúngico de la figura 4. El maíz contaminado con *A. flavus* se expuso a los vapores del AITC a través del dispositivo de la presente invención y el sistema se incubó durante 30 días. Los datos de las muestras tratadas se compararon con un control donde el maíz tenía la misma carga fúngica que el tratado, pero sin incluir el dispositivo antifúngico (1) de la presente invención. Como se puede observar en la figura 4a), a un día de exposición con el AITC, el maíz control presentaba una carga fúngica de 5.49 Log UFC/g, 20 mientras que en el maíz tratado con el AITC la reducción logarítmica evidenciada fue del 1.5 Log. Estos datos fueron aun más interesantes cuando se observó el crecimiento fúngico en las muestras tratadas a 30 días de exposición con el AITC. Al final del tratamiento el control presentaba una carga fúngica de 5.62 Log UFC/g, mientras que en la muestra tratadas apenas se detectaron 1.22 Log UFC/g, demostrando que el tratamiento del maíz 25 contaminado con *A. flavus* después de 30 días de exposición al AITC había producido una reducción logarítmica del hongo de 4.4 Log. Este valor fue extremadamente importante al comprobar que después de los 30 días de incubación, la microflora fúngica fue casi completamente anulada por el AITC. Demostrando que el dispositivo de la presente invención (1) soluciona un problema grave en los cereales de almacenamiento como es la 30 Aspergilosis por hongos toxigénicos.

Por otra parte, se estudió el grado de absorción por parte del maíz del AITC después del tratamiento. Considerando que los cereales tienen un máximo permitido por la legislación

europea de AITC de 500 ppm, nuestros datos evidencian que los productos tratados con el dispositivo antifúngico (1) de la presente invención respetan perfectamente la normativa, ya que las concentraciones evidenciadas del AITC en el maíz a 1 y 30 días de exposición fueron de 10.01 y 5.93 ppm respectivamente.

- 5 Estos datos demostraron que, por un lado, que el dispositivo antifúngico (1) de la presente invención presenta características antifúngicas sobre los hongos productores de micotoxinas, y que, además, reduce enormemente el crecimiento de *A. flavus* en maíz en un modelo en escala de laboratorio que simula el almacenamiento de este cereal en silo.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo antifúngico (1) que comprende un recipiente (2) con un extremo abierto y una tapa (3) acoplable de forma desmontable para el cierre de dicho recipiente (2), caracterizado por que el recipiente (2) contiene en su interior un gel (4) con partículas de un compuesto volátil (5) encapsuladas en dicho gel (4), presentando la tapa (3) una pluralidad de orificios pasantes (6), tal que permiten la difusión de vapores procedentes del compuesto químico volátil desde el interior del recipiente (1) al exterior.
2. Dispositivo antifúngico (1) según la reivindicación 1, donde el gel (4) es de hidroxietilcelulosa.
- 10 3. Dispositivo antifúngico (1) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el compuesto volátil (5) tiene actividad antifúngica.
4. Dispositivo antifúngico (1) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el compuesto volátil (5) es alil isotiocianato.
- 15 5. Dispositivo antifúngico (1) según la reivindicación 4, donde el compuesto alil isotiocianato se encuentra en una proporción de al menos 50 ppm.

FIG. 1

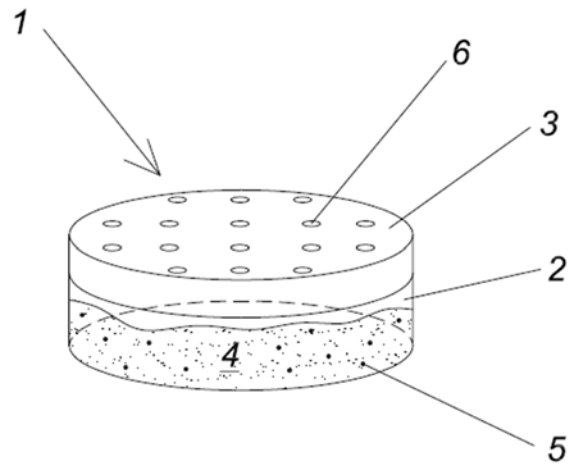


FIG. 2

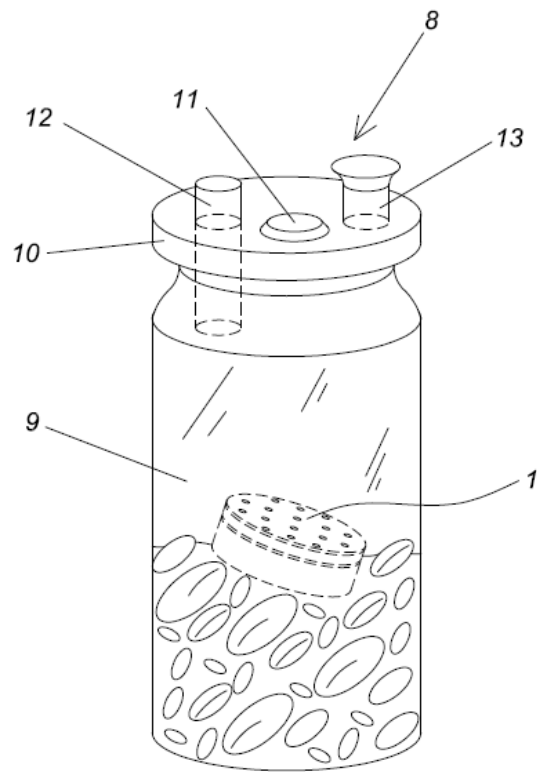


FIG. 3

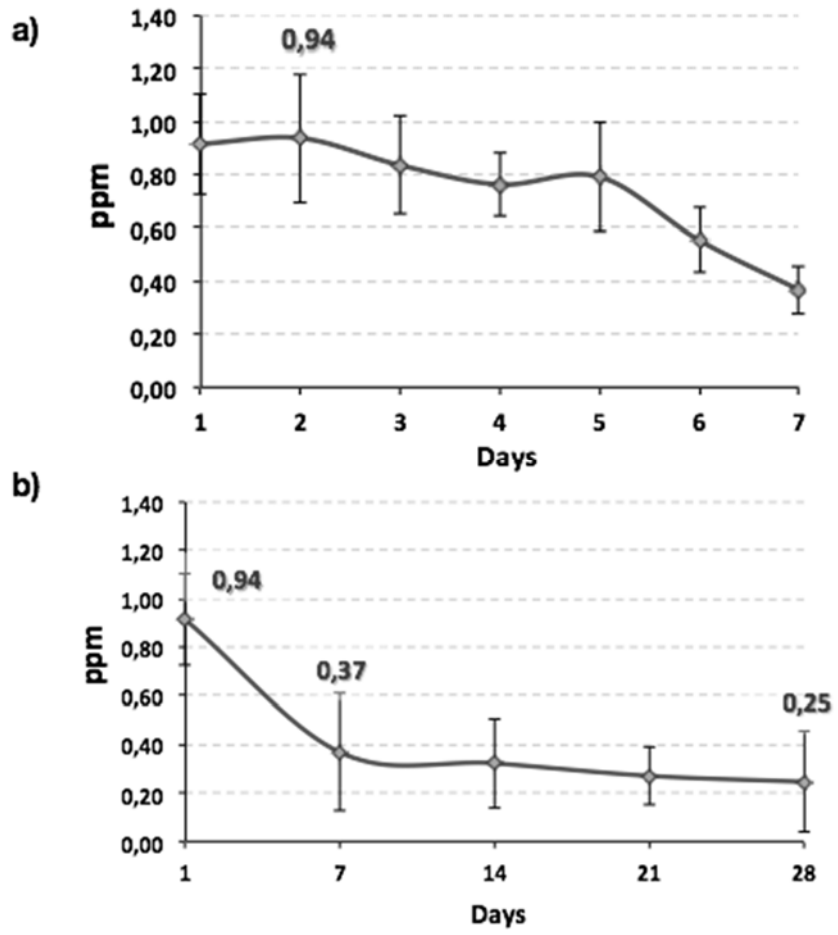


FIG.4

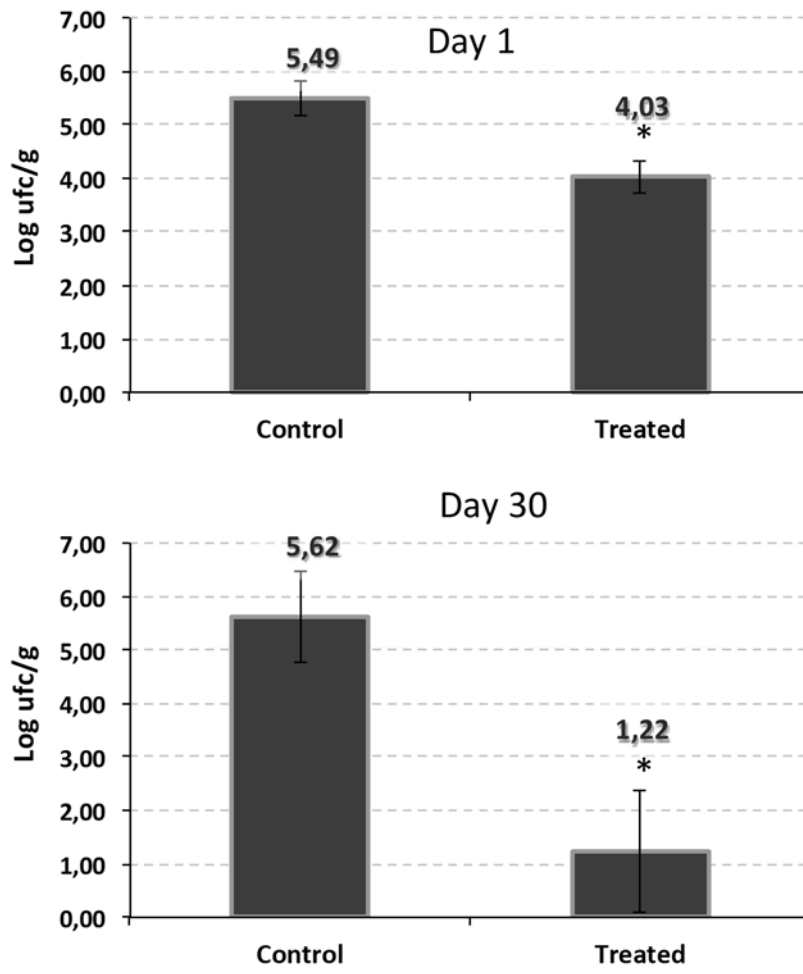


FIG.5

