



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 357 389**

② Número de solicitud: 201130341

⑤ Int. Cl.:  
**A01N 63/04** (2006.01)  
**A01N 31/00** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

② Fecha de presentación: **11.03.2011**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **26.04.2011**

Fecha de la concesión: **14.09.2011**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:  
**01.09.2011**

④ Fecha de anuncio de la concesión: **26.09.2011**

④ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**26.09.2011**

⑦ Titular/es: **BIOFUNGITEK, SOCIEDAD LIMITADA**  
**Parque Tecnológico de Bizkaia**  
**Edificio 800, 2ª Planta**  
**48170 Zamudio, Bizkaia, ES**

⑦ Inventor/es: **Ugalde Martínez, Unai Ona;**  
**Rodríguez Urra, Ana Belén y**  
**Fundazuri Zugazaga, Olatz**

⑦ Agente: **Durán Moya, Carlos**

⑤ Título: **Composición fungicida y bactericida que comprende compuestos orgánicos volátiles de origen natural.**

⑤ Resumen:

Composición fungicida y bactericida que comprende compuestos orgánicos volátiles de origen natural.

La presente invención se refiere a una composición con actividad fungicida y bactericida que comprende compuestos orgánicos volátiles (COV) obtenidos a partir de plantas y microorganismos en la que dichos COV son alcoholes grasos entre 4 y 12 átomos de carbono, o alcoholes cíclicos o compuestos derivados de fenoles, o compuestos derivados de terpeno, así como derivados y mezclas de los mismos. Además, la presente invención también se refiere al uso de dichas composiciones en la protección de cultivos agrícolas, en tratamientos posteriores a la cosecha, en la conservación de alimentos y en la desinfección de instalaciones y equipos.

ES 2 357 389 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Composición fungicida y bactericida que comprende compuestos orgánicos volátiles de origen natural.

5 La presente invención se refiere a una composición con actividad fungicida y bactericida que comprende compuestos orgánicos volátiles (COV) obtenidos a partir de plantas y microorganismos en la que dichos COV son alcoholes grasos entre 4 y 12 átomos de carbono, tales como 2-etil-1-hexanol, 3-nonanol, 1-octen-3-ol, hexanol, 3-metil-1-butanol, isobutanol, 3-octanol, (Z)-3-hexen-1-ol, 1-penten-3-ol, etanol, isómeros, derivados y mezclas de los mismos, así como alcoholes cíclicos tales como el mentol o compuestos derivados de fenoles, tales como feniletanol, fenilmetanol, 2,4-ditertbutilfenol, isómeros, derivados y mezclas de los mismos o compuestos derivados de terpeno, tales como isoborneol, 2-metil isoborneol, 2-norborneol, cariofileno, aristoleno,  $\alpha$ -bergamoteno, naftaleno,  $\alpha$ -pachuoleno, mirceno, a- y b-felandreno, limoneno, linalool, carvacrol, timol, canfeno, geraniol, nerol, así como derivados y mezclas de los mismos. Además, la presente invención también se refiere al uso de dichas composiciones en la protección de cultivos agrícolas, en tratamientos posteriores a la cosecha, en la conservación de alimentos y en la desinfección de instalaciones y equipos.

20 Los hongos y bacterias que afectan a los productos después de cosechados y a los alimentos en general causan pérdidas económicas considerables (Prusky D, Kolattukudy PE. (2007) Cross talk between hosts and fungus in post-harvest situations and its effect on symptom development. En Food Mycology: a multifaceted approach to fungi and food. J Dijksterhuis y RA Samson, editores. CRC Press, BocaRaton, 3-25.), siendo responsables tanto de la pérdida del valor comercial del producto como de la producción de micotoxinas perjudiciales para humanos y animales.

25 Tras la cosecha, es habitual la aplicación de sustancias químicas para el control del crecimiento de hongos y bacterias. Sin embargo, la aplicación de compuestos fungicidas y bactericidas convencionales conlleva una serie de problemas, tales como la aparición de resistencias (Brent KJ, Hollomon DW. (2007) Fungicide resistance: the assessment of risk. FRAC. Monograph No. 1 (2da edición). Croplife International, Brussels, Belgium) o los residuos de pesticidas en los alimentos, aspecto de regulación legal cada vez más restrictiva. Por todo ello, existe la necesidad de desarrollar productos eficaces que presenten una actividad antifúngica y antimicrobiana, con un modo de acción que implique una eliminación rápida y efectiva, y que además sean inocuos para el ser humano y el medio ambiente.

30 La acción antimicrobiana de los suelos ha sido estudiada desde hace décadas. La mayor parte de los suelos naturales suprimen la germinación y el crecimiento de los hongos, en un fenómeno conocido como fungistasis. Se conoce que la intensidad de esta fungistasis depende de las propiedades físico-químicas del suelo y de la población microbiana del mismo (Alabouvette, C. (1999) Fusarium wilt suppressive soils: an example of disease suppressive soils. Australas. Plant Pathol. 28:57-64 y Toyota K, y otros (1996) Microbiological factors affecting colonisation of soil aggregates by *Fusarium oxysporum* f. sp. raphani. Soil Biol Biochem. 28:1513-1521). Los microorganismos del suelo producen fungistasis fundamentalmente mediante dos modos: 1) la fuerte competencia por los escasos nutrientes del suelo y 2) la presencia de compuestos antifúngicos de origen microbiano, entre los cuales, muchos son compuestos orgánicos volátiles (COV) (Insam H, Seewald MSA. (2010) Volatile organic compounds (VOCs) in soils. Biol Fertil Soils. 46:199-213).

45 Es conocido en la técnica que existen algunos hongos que producen COV con propiedades antimicrobianas, tal como el hongo *Muscodor albus*, que produce una mezcla de COV que son letales para varias especies de hongos y bacterias patógenos de humanos y plantas (Strobel GA. (2006) *Muscodor albus* and its biological promise. J Ind Microbiol Biotechnol. 33: 514-522).

50 Por su origen natural, los COV resultan muy atractivos para su aplicación en cultivos agrícolas, en tratamientos posteriores a la cosecha, en la conservación de alimentos y en la desinfección de instalaciones y equipos, ya que presentan actividad antifúngica y antibacteriana siendo inocuos para los humanos y para el medio ambiente.

55 Después de extensivos estudios los presentes autores han encontrado, de forma sorprendente, que algunos COV aislados a partir de cultivos de microorganismos patógenos de plantas y frutos tales como *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitarum*, *Fusarium oxysporum* o *Mucor racemosus*, o directamente aislados de plantas y frutos, presentan actividad inhibidora del crecimiento de hongos y bacterias.

60 Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es dar a conocer una composición con actividad antifúngica y antibacteriana, que comprende un compuesto orgánico volátil de origen natural aislado a partir de plantas o microorganismos en la que dicho compuesto orgánico volátil se selecciona entre alcoholes grasos entre 4 y 12 átomos de carbono, tales como 2-etil-1-hexanol, 3-nonanol, 1-octen-3-ol, hexanol, 3-metil-1-butanol, isobutanol, 3-octanol, (Z)-3-hexen-1-ol, 1-penten-3-ol, etanol, isómeros, derivados y mezclas de los mismos, así como alcoholes cíclicos tales como el mentol o se selecciona entre compuestos derivados de fenoles, tales como feniletanol, fenilmetanol, 2,4-ditertbutilfenol, isómeros, derivados y mezclas de los mismos o se selecciona entre compuestos derivados de terpeno, tales como isoborneol, 2-metil isoborneol, 2-norborneol, cariofileno, aristoleno,  $\alpha$ -bergamoteno, naftaleno,  $\alpha$ -pachuoleno, mirceno, a- y b-felandreno, limoneno, linalool, carvacrol, timol, canfeno, geraniol, nerol, así como derivados y mezclas de los mismos. Además, otro objetivo de la presente invención es dar a conocer el uso de dichas composiciones en la protección de cultivos agrícolas, en tratamientos posteriores a la cosecha, en la conservación de alimentos y en la desinfección de instalaciones y equipos. La cantidad de COV de origen natural presente en la composición de la presente invención es, como mínimo, de 2 mg/L<sub>aire</sub>.

## ES 2 357 389 B1

Una ventaja de la composición de la presente invención es que por su naturaleza los COV se volatilizan a temperatura ambiente, por lo que una vez sacado el producto de las instalaciones en las se realice el tratamiento fungicida/bactericida, éstos se disipan rápidamente y prácticamente no dejan residuos sobre el producto tratado. Por tanto, la composición de la presente invención preferentemente estará en forma gaseosa. Sin embargo, dicha composición también puede estar en forma líquida como una suspensión, dispersión, emulsión, pulverizado o cualquier otro tipo de mezcla que permanezca estable en el tiempo o incorporada a polímeros plásticos o naturales, ceras o cualquier soporte en el que la composición permanezca estable en el tiempo.

La composición de la presente invención se encuentra en el grupo de los fitosanitarios de contacto, o sea, que la forma de protección contra enfermedades fúngicas y/o bacterianas es mediante el contacto, ya que dicha composición queda sobre la superficie de las diferentes partes de la planta o fruto, protegiéndola desde el exterior contra el ataque externo de los hongos y bacterias.

Además, la composición fitosanitaria de la presente invención se puede utilizar como tal, o se puede utilizar para la formulación de un producto que comprende además diferentes aditivos utilizados en la técnica, tales como tensioactivos, polímeros, agentes alcalinizantes, agentes controladores del pH, entre otros muchos aditivos utilizados en las formulaciones de los productos empleados en la industria agrícola.

La composición fungicida de la presente invención puede comprender además un fertilizante, que puede seleccionarse del grupo que comprende compuestos que contienen nitrógeno y/o fósforo, tales como urea, melamina, hexamina, dicianodiamida, amelina, ácido cianúrico, nitrato de melamina, fosfito de trietilo y similares o mezclas de los mismos.

La composición de la presente invención también puede comprender cualquier compuesto o producto con actividad química y/o biológica que se utilice en la agricultura, tales como herbicidas, insecticidas, reguladores del crecimiento de las plantas y similares, o mezclas de los mismos.

La presente invención se describe a continuación con más detalles en referencia a varios ejemplos de realización. Estos ejemplos, sin embargo, no están destinados a limitar el alcance técnico de la presente invención.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

##### *Identificación de compuestos orgánicos volátiles (COV) producidos por hongos patógenos*

Los COV fueron extraídos a partir de cultivos de 96 horas de varios hongos patógenos de plantas y frutos tales como *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium oxysporum* o *Mucor racemosus* mediante microextracción en fase sólida (SPME). La desorción e identificación de los COV unidos a las fibras se llevó a cabo mediante la técnica de cromatografía de gases - espectrometría de masa (GC-MS), consultando las bibliotecas Wiley 08 y NIST 05. Los compuestos identificados particularmente en la especie *Mucor racemosus* se muestran en la Tabla 1.

(Tabla pasa a página siguiente)

## ES 2 357 389 B1

TABLA 1

*COV producidos por Mucor racemosus cultivado durante 96 h en PDA*

	Tiempo de Retención (s)	Posible Compuesto
5		
10	1,1	Etanol
	2,5	Propanol
15	3,88	Isobutanol
	4,8	Butanol
	6,85	3-Metil-1-Butanol
20	6,9	2-Metil-1-Butanol
	11,06	2,3 Butanediol
	11,11	1-Hexanol
25	14,29	1-Octen-3-ol
	15,58	2-Etil-1-Hexanol
30	16,56	1-Octanol
	17,2	Fenil Metanol
	17,53	2-Norbornanol
35	18,47	Fenil etanol
	18,5	Isoborneol
40	21,35	$\alpha$ -Bergamoteno

45 Los resultados obtenidos a partir de este hongo revelaron una gran coincidencia entre las diferentes especies de hongos estudiadas.

### 50 Ejemplo 2

*Inhibición del crecimiento del hongo Botrytis cinerea y de la bacteria Erwinia carotovora por los COV de origen natural*

55 La actividad antifúngica y antibacteriana de los COV obtenidos en el Ejemplo 1 se comprobó mediante bioensayo en viales sellados herméticamente, en los que se cultivó el microorganismo expuesto al compuesto a ensayar en fase gaseosa en diferentes concentraciones. Los COV tenían una pureza mayor del 95% en peso. Se calcularon el IC<sub>50</sub> (Concentración que inhibe el 50%), la MIC (Mínima concentración inhibidora) y la MLC (Mínima concentración letal).

60

65

# ES 2 357 389 B1

TABLA 2

*IC<sub>50</sub>, MIC y MLC en mg/L<sub>aire</sub> de 2-etil-1-hexanol*

	IC <sub>50</sub>	MIC	MLC
<i>Botrytis cinerea</i>	4	5	10
<i>Erwinia carotovora</i>	15	50	75

TABLA 3

*IC<sub>50</sub>, MIC y MLC en mg/L<sub>aire</sub> de hexanol*

	IC <sub>50</sub>	MIC	MLC
<i>Botrytis cinerea</i>	15	20	40
<i>Erwinia carotovora</i>	150	>150	>150

TABLA 4

*IC<sub>50</sub>, MIC y MLC en mg/L<sub>aire</sub> de fenil etanol*

	IC <sub>50</sub>	MIC	MLC
<i>Botrytis cinerea</i>	500	>1000	>1000
<i>Erwinia carotovora</i>	1000	>1000	>1000

TABLA 5

*IC<sub>50</sub>, MIC y MLC en mg/L<sub>aire</sub> de isoborneol*

	IC <sub>50</sub>	MIC	MLC
<i>Botrytis cinerea</i>	5	40	40
<i>Erwinia carotovora</i>	>150	>150	>150

Los resultados obtenidos en la aplicación en fase gaseosa de los COV de origen natural de la presente invención demuestran que éstos son efectivos en la inhibición del crecimiento de hongos patógenos como *Botrytis cinerea* y bacterias como *Erwinia carotovora*. Esto indica que los COV tienen un amplio espectro de acción, pudiendo llegar a ser efectivos en las principales especies de hongos y bacterias que provocan daños en los sectores agricultura y alimentación en concentraciones tan bajas como 2 mg/L<sub>aire</sub>.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición con actividad antifúngica y antibacteriana, que comprende como principio activo un único compuesto orgánico volátil de origen natural aislado a partir de plantas o microorganismos en la que dicho único compuesto orgánico volátil es un alcohol graso de entre 4 y 12 átomos de carbono, o un alcohol cíclico, o un fenol o derivado fenólico, o un terpeno o derivado de terpeno.
- 10 2. Composición, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque el alcohol graso de entre 4 y 12 átomos de carbono se selecciona del grupo que comprende 2-etil-1-hexanol, 3-nonanol, 1-octen-3-ol, hexanol, 3-metil-1-butanol, isobutanol, 3-octanol, (Z)-3-hexen-1-ol, 1-penten-3-ol, etanol, isómeros, derivados y mezclas de los mismos.
- 15 3. Composición, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque el alcohol cíclico es mentol.
- 15 4. Composición, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque el fenol o derivado fenólico se selecciona del grupo que comprende feniletanol, fenilmetanol, 2,4-ditertbutilfenol, sus isómeros, derivados y mezclas de los mismos.
- 20 5. Composición, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque el terpeno o derivado de terpeno se selecciona del grupo que comprende isoborneol, 2-metil isoborneol, 2-norbonanol, cariofileno, aristoleno,  $\alpha$ -bergamoteno, naftaleno,  $\alpha$ -patchuoleno, mirceno, a- y b-felandreno, limoneno, linalool, carvacrol, timol, canfeno, geraniol, así como derivados y mezclas de los mismos.
- 25 6. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque la cantidad del compuesto orgánico volátil en dicha composición es, como mínimo, de 2 mg/L<sub>aire</sub>.
- 25 7. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque comprende además tensioactivos, polímeros, agentes alcalinizantes, agentes controladores del pH, y/o mezclas de los mismos.
- 30 8. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque comprende además un fertilizante, seleccionado del grupo que comprende compuestos que contienen nitrógeno y/o fósforo, tales como urea, melamina, hexamina, dicianodiamida, amelina, ácido cianúrico, nitrato de melamina, fosfito de trietilo y similares o mezclas de los mismos.
- 35 9. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque dicha composición se encuentra en forma gaseosa o líquida, tales como suspensión, dispersión, emulsión, pulverizado o cualquier otro tipo de mezcla que permanezca estable en el tiempo o incorporada a polímeros plásticos o naturales, ceras o cualquier soporte en el que la composición permanezca estable en el tiempo.
- 40 10. Composición, según la reivindicación 9, **caracterizada** porque dicha composición está en forma gaseosa.
- 40 11. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque comprende además un compuesto o producto con actividad química y/o biológica que se utilice en la agricultura, tales como herbicidas, insecticidas, reguladores del crecimiento de las plantas y similares, o mezclas de los mismos.
- 45 12. Uso de la composición con actividad antifúngica y antibacteriana, según las reivindicaciones 1 a 11, la preparación de una formulación de un producto sanitario con propiedades fungicidas.
- 50 13. Uso de la composición con actividad antifúngica y antibacteriana, según las reivindicaciones 1 a 11, en cultivos agrícolas, en tratamientos posteriores a la cosecha, en la conservación de alimentos y en la desinfección de instalaciones y equipos.

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201130341

②② Fecha de presentación de la solicitud: 11.03.2011

③② Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **A01N63/04** (2006.01)  
**A01N31/00** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2173274 T3 (SCHÜR) 16.10.2002, páginas 2-6; página 11, líneas 1-5; reivindicaciones.	1-6,9,10,12,13
X	ES 2160691 T3 (LUXAN) 16.11.2001, páginas 2,3,4,6.	1,3,5,7,9,10,12,13
X	ES 2328322 A1 (TIMAC AGRO ESPAÑA) 11.11.2009, resumen; página 2; reivindicaciones.	1,3,5,7,9,11,12,13

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
08.04.2011

Examinador  
M. Ojanguren Fernández

Página  
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 08.04.2011

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 8	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-7, 9-13	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-13	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ES 2173274 T3 (SCHÜR)	16.10.2002
D02	ES 2160691 T3 (LUXAN)	16.11.2001
D03	ES 2328322 A1 (TIMAC AGRO ESPAÑA)	11.11.2009

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

El objeto de la presente solicitud es una composición con actividad antifúngica y antibacteriana que comprende un compuesto orgánico volátil de origen natural aislado a partir de plantas o microorganismos que puede ser un alcohol graso de 4 a 12 átomos de carbono, o un alcohol cíclico, o un fenol o derivado fenólico, o un terpeno o derivado terpénico. También se reivindica su uso para la preparación de un producto sanitario con propiedades fungicidas y su uso en tratamientos post-cosecha, en la conservación de alimentos y en la desinfección de instalaciones y equipos.

El documento D1 divulga un procedimiento para mejorar la conservabilidad y/o para la estabilización de productos perecederos por microbios por medio de una composición que contiene alcohol bencílico y al menos una sustancia aromática GRAS (Generally Recognized as Safe) seleccionada entre:

- un alcohol que puede ser hexanol, mentol, octanol, etanol,

- un fenol

- un terpeno que puede entre otros limoneno, timol o carvacrol

Dicha composición se utiliza también para desinfectar las instalaciones dónde se manipulan los alimentos. (ver reivindicación 10)

El documento D2 divulga una composición para la inhibición de la germinación de patatas y/o el crecimiento de fungoides que contiene carvona y mentol.

Por último, el documento D3 divulga composiciones de origen natural para tratar fisiopatías y enfermedades producidas por agentes patógenos de frutas y hortalizas después de su cosecha que contienen entre otros ingredientes timol, geraniol, mentol, limoneno y carvacrol.

Por lo tanto, a la vista de los documentos citados, las reivindicaciones 1-8 y 9-13 de la presente solicitud no son nuevas ni tienen actividad inventiva (art 6.1 y 8.1 LP).

En cuanto a la reivindicación 8, relativa a la adición a la composición de un fertilizante, se considera una mera cuestión práctica obvia para un experto en la materia y por tanto dicha reivindicación carece de actividad inventiva (art. 8.1 LP).