



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 366 856**

② Número de solicitud: 201131277

⑤ Int. Cl.:
A01N 63/00 (2006.01)
A01N 65/00 (2009.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **26.07.2011**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **26.10.2011**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
26.10.2011

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

⑦ Inventor/es: **Ugalde Martínez, Unai Ona;**
Rodríguez Urrea, 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 dicho COV es una cetona de cadena alifática y/o ramificada, o un aldehído de cadena alifática y/o ramificada, o un éster de cadena alifática y/o ramificada, o un ácido carboxílico de cadena alifática y/o ramificada. Además, la presente invención 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 2 366 856 A1

ES 2 366 856 A1

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. De forma más específica, la presente invención se refiere a composiciones que comprenden cetonas de cadena alifática y/o ramificada, tales como butanona, hexanona, heptanona, octanona, nonanona, sus isómeros y derivados de las mismas; aldehídos de cadena alifática y/o ramificada, tales como hexanal, heptanal, octanal, nonanal, 2-metil-butanal, sus isómeros y derivados de los mismos; 10 ésteres de cadena alifática y/o ramificada, tales como acetato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo, acetato de 3-metil-1-butanol, acetato de nonilo, 2-metilbutirato de etilo, isovalerato de isoamilo y/o sus isómeros y/o derivados de los mismos y ácidos carboxílicos de cadena alifática y/o ramificada, tales como los ácidos valérico, isobutírico, 2-metilbutanoico, sus isómeros y derivados 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 15 de alimentos y en la desinfección de instalaciones y equipos.

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.

Para controlar la aparición de hongos y bacterias es habitual la aplicación de sustancias químicas bactericidas y fungicidas. Sin embargo, la aplicación de compuestos de síntesis conlleva algunos riesgos, 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 sustancias químicas en los alimentos. Por estos motivos es necesario desarrollar productos antifúngicos y antibacterianos eficaces de fácil y rápida eliminación, y que además sean inocuos para el ser humano y el medio ambiente.

30 La fungistasis de los suelos es un fenómeno conocido que consiste en que los suelos naturales son capaces de suprimir el crecimiento de hongos y bacterias en función 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 35 suelo producen fungistasis mediante la fuerte competencia por los escasos nutrientes del suelo y/o por la producción de compuestos con propiedades biocidas, 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).

Asimismo, es conocido en la técnica que algunos hongos, tales como el hongo *Muscodor albus*, producen COV con propiedades antimicrobianas (Strobel GA. (2006) *Muscodor albus* and its biological promise. J Ind Microbiol Biotechnol. 33: 514-522).

Por su origen natural, los COV podían ser muy útiles para su aplicación en agricultura, en tratamientos posteriores a la cosecha, en la conservación de alimentos y en la desinfección de instalaciones y equipos, ya que muchos de ellos 45 tienen actividad antimicrobiana y son seguros para las personas, los animales y el medio ambiente en general.

Después de extensivos estudios los presentes autores han encontrado, de forma sorprendente, que algunos COV aislados a partir de plantas y microorganismos presentan actividad inhibidora del crecimiento de hongos y bacterias.

50 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 cetonas de cadena alifática y/o ramificada, tales como butanona, hexanona, heptanona, octanona, nonanona, sus isómeros y derivados de las mismas; aldehídos de cadena alifática y/o ramificada, tales como hexanal, heptanal, octanal, nonanal, 2-metil-butanal, sus isómeros y derivados de los mismos; ésteres de cadena alifática y/o ramificada, tales como acetato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo, acetato de 3-metil-1-butanol, acetato de nonilo, 2-metilbutirato de etilo, isovalerato de isoamilo y/o sus isómeros y/o derivados de los mismos y ácidos carboxílicos de cadena alifática y/o ramificada, tales como los ácidos valérico, isobutírico, 2-metilbutanoico, sus isómeros y derivados 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 60 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 5 mg/L_{aire}.

Una ventaja de la presente invención es que, debido a la naturaleza volátil de los compuestos que comprende la composición de la presente invención, los productos tratados estarían libres de los mismos una vez fuera de las 65 instalaciones en las se realice el tratamiento fungicida/bactericida, ya que 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, nebulizado o cualquier otro tipo de mezcla que permanezca estable en el tiempo.

ES 2 366 856 A1

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

Análisis de compuestos orgánicos volátiles (COV) producidos por hongos patógenos

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

TABLA 1

COV producidos por Mucor racemosus cultivado durante 96 horas en PDA

Tiempo de Retención	Posible Compuesto
2,63	Acetato de etilo
2,83	2-Butanona
3,94	2-metil-1-Butanal
8,74	2-metilbutirato de etilo
9,38	Ácido isobutírico
9,9	Acetato de 3-Metil-1-Butanol
12,24	Ácido valérico
12,36	Ácido 2-Metil-Butanoico
13,74	Hexanoato de etilo
14,16	3-Octanona
16,27	Isovalerato de isoamilo
16,75	Bencenoacetaldehido
16,93	Nonanal
18,07	Octanoato de Etilo

ES 2 366 856 A1

Los resultados obtenidos a partir de este y otros hongos revelaron gran coincidencia de compuestos volátiles entre las diferentes especies estudiadas.

5 Ejemplo 2

Inhibición del crecimiento de hongos y bacterias por COV de origen natural

10 La actividad antifúngica y antibacteriana 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 compuestos tenían una pureza mayor del 95%. Se calcularon el IC₅₀ (Concentración que inhibe el 50%), el MIC (minina concentración inhibidora) y el MLC (Mínima concentración letal).

15

TABLA 2

IC₅₀, MIC y MLC en mg/L_{aire} para 3-octanona

20

Microorganismo	IC ₅₀	MIC	MLC
<i>Botrytis cinerea</i>	<5	5	40
<i>Erwinia carotovora</i>	110	>150	>150

25

30

TABLA 3

IC₅₀, MIC y MLC en mg/L_{aire} para nonanal

35

Microorganismo	IC ₅₀	MIC	MLC
<i>Botrytis cinerea</i>	2	5	20
<i>Erwinia carotovora</i>	<5	5	40

40

45

TABLA 4

IC₅₀, MIC y MLC en mg/L_{aire} para hexanoato de etilo

50

Microorganismo	IC ₅₀	MIC	MLC
<i>Botrytis cinerea</i>	10	30	30
<i>Erwinia carotovora</i>	115	>150	>150

55

60

65

ES 2 366 856 A1

TABLA 5

IC₅₀, MIC y MLC en mg/L_{aire} para ácido valérico

5

Microorganismo	IC ₅₀	MIC	MLC
<i>Botrytis cinerea</i>	30	50	100
<i>Erwinia carotovora</i>	70	150	>150

10

15

Los resultados mostrados en las tablas 2 a 5 demuestran que la aplicación de COV de origen natural en fase gaseosa es eficaz en la inhibición del crecimiento de hongos patógenos de plantas tal como *Botrytis cinerea* y bacterias tal como *Erwinia carotovora*. Esto indica que dichos COV tienen un amplio espectro de acción como inhibidores de microorganismos, que pueden llegar a ser eficaces en las principales especies de hongos y bacterias que provocan daños en los sectores agricultura y alimentación en concentraciones tan bajas como < 5 mg/L_{aire}.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 366 856 A1

REIVINDICACIONES

5 1. 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 es una cetona de cadena alifática y/o ramificada, o un aldehído de cadena alifática y/o ramificada, o un éster de cadena alifática y/o ramificada, o un ácido carboxílico de cadena alifática y/o ramificada.

10 2. Composición, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque dicha cetona de cadena alifática y/o ramificada es butanona, hexanona, heptanona, octanona, nonanona, sus isómeros, derivados y mezclas de las mismas.

3. Composición, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque dicho aldehído de cadena alifática y/o ramificada es hexanal, heptanal, octanal, nonanal, 2-metil-butanal, sus isómeros, derivados y mezclas de los mismos.

15 4. Composición, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque dicho éster de cadena alifática y/o ramificada es acetato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo, acetato de 3-metil-1-butanol, acetato de nonilo, 2-metilbutirato de etilo, isovalerato de isoamilo, sus isómeros y/o derivados de los mismos.

20 5. Composición, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque dicho ácido carboxílico de cadena alifática y/o ramificada es ácido valérico, ácido isobutírico, ácido 2-metilbutanoico, sus isómeros y derivados de los mismos.

6. Composición, según la cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque la cantidad de dicho compuesto orgánico volátil en dicha composición es, como mínimo, de 5 mg/L_{aire}.

25 7. Composición, según la 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 la 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 la 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.

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.

12. Uso de la composición con actividad antifúngica y antibacteriana, según las reivindicaciones 1 a 11, la preparación de una formulación de un producto fitosanitario con propiedades fungicidas.

45 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.

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201131277

②② Fecha de presentación de la solicitud: 26.07.2011

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **A01N63/00** (2006.01)
A01N65/00 (2009.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ARCHBOLD D.D., Identifying natural volatile compounds that control gray mold (<i>Botrytis cinerea</i>) during postharvest storage of strawberry, blackberry and grape. J. Agric.Food Chem. 1997, 45, páginas 4032-4037.	1-3,12-13
X	PASSOS et al, Pharmaceutical Biology, 2003, vol. 41, nº 5, páginas 319-324.	1,4
X	IIZUKA et al, Antibacterial activity of myrmicacin and related compounds on pathogenic bacteria in silkworm larvae, <i>Streptococcus faecalis</i> Ad-4, J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. vol 59, páginas 262-266,1979.	1,5

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
29.09.2011

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, CAS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 29.09.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 6-11	SI
	Reivindicaciones 1-5,12,13	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-13	NO

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	ARCHBOLD D.D., Identifying natural volatile compounds that control gray mold (<i>Botrytis cinerea</i>) during postharvest storage of strawberry, blackberry and grape. J.Agric.Food Chem. 1997, 45, páginas 4032-4037.	1997
D02	PASSOS et al, Pharmaceutical Biology, 2003, vol. 41, nº 5, páginas 319-324.	2003
D03	IIZUKA et al, Antibacterial activity of myrmicacin and related compounds on pathogenic bacteria in silkworm larvae, <i>Streptococcus faecalis</i> Ad-4, J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. vol 59, páginas 262-266, 1979.	1979

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 invención es 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 es una cetona, un aldehído, un éster o un ácido carboxílico así como el uso de la composición en la preparación de un fungicida y su uso en tratamientos posteriores a la cosecha, conservación de alimentos y desinfección de instalaciones y equipos.

El documento D1 divulga el estudio de la actividad antifúngica de una serie de compuestos volátiles de origen natural durante el almacenamiento posterior a la cosecha de las fresas. En concreto, se demuestra la actividad antifúngica de varios aldehídos y cetonas como el hexanal, 3-hexanona, nonanal y 2-nonanona. (ver tabla 1, y página 4033) .

El documento D2 divulga la actividad antifúngica del aceite esencial extraído de *Caryocar brasiliensis* cuyo componente principal es el hexanoato de etilo.

El documento D3 divulga la actividad antibacteriana de la mirmicacina y compuestos relacionados, en concreto en la tabla 2 se indica la actividad antibacteriana del ácido valérico (compuesto 5).

Por lo tanto, las características técnicas de la invención tal y como están definidas en las reivindicaciones 1 a 5, 12 y 13 de la presente solicitud derivan directamente de los documentos citados y por tanto dichas reivindicaciones no son nuevas ni tienen actividad inventiva. (art. 6.1 y 8.1 Ley 11/1986 de Patentes).

En cuanto las características técnicas recogidas en el resto de reivindicaciones dependientes 6 a 11 son meras cuestiones prácticas obvias para un experto en la materia y por lo tanto carecen de actividad inventiva. (art. 8.1 Ley 11/1986 de Patentes).