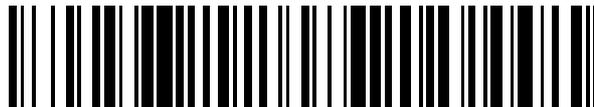


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 440 392**

51 Int. Cl.:

**C02F 1/50** (2006.01)

**A01N 3/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.04.2008 E 08741679 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2013 EP 2291331**

54 Título: **Uso de oxidorreductasa como aditivo antimicrobiano para agua de jarrón de flores y método de prevención del crecimiento de microorganismos en el agua**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**28.01.2014**

73 Titular/es:

**ENHOLD B.V. (100.0%)  
Gooimeer 7  
1411 DD Naarden, NL**

72 Inventor/es:

**JANSSEN, JOHANNES ANTONIUS MARIE**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

**ES 2 440 392 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

5      Uso de oxidorreductasa como aditivo antimicrobiano para agua de jarrón de flores y método de prevención del crecimiento de microorganismos en el agua

## CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

10     [0001] La presente invención se refiere a composiciones antimicrobianas que pueden ser añadidas ventajosamente a agua de jarrón de flores cortadas para prevenir el crecimiento microbiano, especialmente en el agua de jarrón que contiene nutrientes añadidos de flores cortadas y/o estimulantes de absorción de agua.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15     [0002] Es conocido que la vida de un jarrón de flores cortadas se puede prolongar usando nutrientes y/o estimulantes de absorción de agua en combinación con determinados conservantes químicos. Algunos ejemplos de tales nutrientes incluyen carbohidratos tales como sacarosa, fructosa, glucosa, lactosa y maltosa. Ejemplos de estimulantes de absorción de agua incluyen acidulantes tales como ácido cítrico, ácido glicólico, ácido málico y sulfato de aluminio, y tensioactivos no iónicos y aniónicos. Algunos conservantes químicos que se usan habitualmente son biocidas, tales como isotiazolinonas, bronopol y sales amónicas cuaternarias. Están disponibles comercialmente diferentes composiciones de conservación de flores que contienen varias mezclas, por ejemplo, Chrysal®. Estas composiciones son eficaces prolongando varios días la vida del jarrón de flores cortadas. Doi y Reid, Hort. Science 30: 1058-1060 (1995), describen una solución de jarrón que contiene fisal (un desinfectante de benzalconio) y sacarosa, que prolonga la vida de los flósculos y también ayuda a la abertura del capullo.

25     [0003] Se han empleado biocidas para inhibir el crecimiento de microorganismos tales como bacterias y algas. El crecimiento microbiano tiene un efecto desfavorable en la eficacia de los nutrientes para flores cortadas y estimulantes de absorción de agua que han sido disueltas en el agua del jarrón, afectando así contrariamente a la longevidad de las flores, mientras además el agua se vuelve turbia y provoca un olor insoportable.

30     [0004] El uso de oxidorreductasa en composiciones antimicrobianas ha sido descrito en el estado de la técnica. El documento WO 02/08377 describe composiciones antimicrobianas que incluyen un componente enzimático y uno o más biocidas no enzimáticos. Las oxidorreductasas se mencionan como componente enzimático preferido. Las oxidorreductasas preferidas son enzimas de oxidación de fenol, tales como oxidasas (p. ej., lacasas) y peroxidasas (p. ej., haloperoxidasas). Además, se observa que el componente enzimático puede comprender compuestos conocidos en la técnica necesarios para obtener la actividad enzimática deseada, tal como oxígeno (O<sub>2</sub>) en el caso de lacasas, una fuente de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en el caso de peroxidasas, y una fuente de haluro (cloruro, bromuro, yoduro) en el caso de las haloperoxidasas. La glucosa oxidasa se menciona en la página 11, línea 24 como un ejemplo de un sistema enzimático generador de peróxido de hidrógeno que se puede emplear como una fuente de peróxido de hidrógeno.

40     [0005] El documento WO 2006/138271 describe un método de control del crecimiento de al menos un microorganismo en un sistema acuoso o en un sustrato capaz de soportar el crecimiento de dicho microorganismo, el método comprende: provee

- 45       a) una lactoperoxidasa,  
        b) una fuente de peróxido,  
        c) un haluro o un tiocianato, donde el haluro no es un cloro, y opcionalmente,  
        d) una fuente de amonio.

50     [0006] La fuente de peróxido puede ser percarbonato o un sistema generador de peróxido enzimático tal como un sistema de glucosa oxidasa/glucosa.

55     [0007] El documento WO 2006/035320 describe una composición para la eliminación de una biopelícula de una superficie que comprende:

- 60       (a) uno o más metasilicatos;  
        (b) uno o más carbonatos;  
        (c) uno o más gliconatos; y  
        (d) uno o más sulfatos.

65     [0008] Para aplicaciones médicas se pueden incorporar bactericidas. Se mencionan las óxidorreductasas como ejemplo de un agente bactericida. Las oxidasas monosacáridas se mencionan como un ejemplo de tales óxidorreductasas.

65     [0009] El documento US 6,261,829 describe el proceso de combatir microorganismos en procesos industriales, que comprenden la adición de glucosa oxidasa y opcionalmente de glucosa o una fuente de glucosa para aguas o lodos de proceso industrial.

## RESUMEN DE LA INVENCION

5 [0010] Los presentes inventores han descubierto de forma imprevista que el crecimiento de microorganismos en el agua del jarrón de flores cortadas se puede inhibir muy eficazmente añadiendo una oxidorreductasa EC 1.1.3. en el agua de jarrón. El efecto antimicrobiano de la oxidorreductasa es particularmente pronunciado en caso de que el agua de jarrón contenga nutrientes que favorecen el crecimiento de microorganismos. La adición de la oxidorreductasa EC 1.1.3. al agua del jarrón se produce ventajosamente aproximadamente al mismo tiempo que se introducen en él las flores cortadas frescas. Así, se asegura que el agua del jarrón permanecerá clara durante un periodo de tiempo prolongado. Además, la introducción de la oxidorreductasa previene el desarrollo de olores insoportables y ayuda a prolongar la vida del jarrón de flores cortadas.

15 [0011] Las oxidorreductasas a usar en el aditivo antimicrobiano de la invención son seleccionadas de oxidorreductasas de la clasificación enzimática (EC) 1.1.3, es decir, oxidasas que usan grupos de hidroximetileno (>CH-OH) como donantes de hidrógeno (donantes electrónicos) y oxígeno molecular como un aceptor de hidrógeno. Ejemplos de los mismos son glucosa oxidasas (EC 1.1.3.3), hexosa oxidasas (EC 1.1.3.4), galactosa oxidasas (EC 1.1.3.9) y alcohol deshidrogenasa (EC 1.1.3.13). Estas oxidasas son capaces de catalizar la oxidación de un sustrato particular (p. ej., glucosa para  $\delta$ -gluconolactona en el caso de la glucosa oxidasa, etanol para acetaldehído en el caso de alcohol deshidrogenasa) y la reducción concurrente de oxígeno a peróxido de hidrógeno.

20 [0012] Sin querer ligarse a la teoría, los inventores creen que el modo antibacteriano de acción es probablemente debido al potencial oxidante de peróxido de hidrógeno y la presencia de los productos de oxidación, tales como  $\delta$ -gluconolactona que es un inhibidor de glicosiltransferasa conocida. Además, la oxidación del sustrato (p. ej., hexosa o etanol) reducirá los niveles de oxígeno en el agua del jarrón, inhibiendo así el crecimiento de microorganismos aeróbicos.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

30 [0013] Por consiguiente, la invención se refiere al uso de una oxidorreductasa EC 1.1.3 como aditivo antimicrobiano para el agua de jarrón de las flores cortadas.

35 [0014] Conforme a una forma de realización particularmente preferida de la presente invención, la oxidorreductasa EC 1.1.3 es seleccionada del grupo que consiste en glucosa oxidasas (EC 1.1.3.3), hexosa oxidasas (EC 1.1.3.4), oxidasas de galactosa (EC 1.1.3.9), alcohol deshidrogenasa (EC 1.1.3.13) y combinaciones de los mismos. Cada una de estas oxidasas se pueden emplear eficazmente para prevenir el crecimiento microbiano en el agua de jarrón, dependiendo la eficacia de los niveles de sustrato enzimático en el agua de jarrón.

40 [0015] De forma más preferible, la oxidorreductasa EC 1.1.3 empleada en el aditivo antimicrobiano es glucosa oxidasa. La unidad de oxidasa es normalmente expresada como la actividad en cuanto a la conversión del sustrato. Para glucosa oxidasa, una unidad adecuada es el SRU (unidad Sarett), donde 1 SRU es equivalente a la conversión de 0,43  $\mu$ mol de glucosa a ácido gluconico o su lactona por minuto a 30°C en un tampón de fosfato con un pH 5.1.

45 [0016] La glucosa oxidasa se añade preferiblemente al agua del jarrón en una cantidad de al menos 1 unidad Sarett (SRU) por litro, incluso más preferiblemente de al menos 5 SRU por litro y más preferiblemente de al menos 10 SRU por litro. Típicamente, la cantidad de actividad de glucosa-oxidasa que se añade al agua de jarrón no excede 200 SRU por litro. Más preferiblemente, la cantidad de glucosa oxidasa no excede 100 SRU por litro.

50 [0017] Las oxidasas EC 1.1.3 pueden ser de cualquier origen, preferiblemente microbiano. Las glucosas oxidasas adecuadas se pueden obtener a partir de un origen fúngico, por ejemplo de *Aspergillus niger*.

55 [0018] El efecto antimicrobiano de la presente oxidorreductasa se manifestara cuando el agua de jarrón contiene sustratos que pueden ser convertidos por la oxidorreductasa. Ya que estos sustratos normalmente son nutrientes para la mayoría de microorganismos, la acción antimicrobiana de la oxidorreductasa será aparente cuando se necesite, es decir, cuando las condiciones son tales que se favorece el crecimiento microbiano.

60 [0019] Como se ha mencionado anteriormente, el presente aditivo antimicrobiano es particularmente eficaz si se usa para prevenir el crecimiento microbiano en el agua del jarrón que también contiene nutrientes para flores cortadas y/o estimulantes de absorción de agua. Estos componentes normalmente estimulan el crecimiento microbiano ya que los microorganismos pueden metabolizarlos. Al mismo tiempo, la oxidorreductasa pueden utilizar estos mismos componentes como sustrato, esta ejercerá así su acción antimicrobiana.

65 [0020] Conforme a una forma de realización particularmente preferida, el presente aditivo antimicrobiano, además de la oxidorreductasa EC 1.1.3, contiene uno o más nutrientes de flores cortadas y/o uno o más estimulantes de absorción de agua. Algunos ejemplos de nutrientes de flores cortadas que pueden ser empleados de forma idónea incluyen sacarosa, fructosa, glucosa, lactosa, maltosa y combinaciones de las mismas. Algunos ejemplos de estimulantes de absorción de agua que pueden ser incorporados ventajosamente al aditivo antimicrobiano incluyen ácido cítrico, ácido glicólico, ácido

málico, sulfato aluminico, tensioactivos aniónicos, tensioactivos no iónicos y combinaciones de los mismos.

5 [0021] El presente aditivo antimicrobiano preferiblemente también contiene un biocida seleccionado del grupo que consiste en fungicidas, antibióticos, bactericidas, inhibidores de levadura y combinaciones de los mismos. Se descubrió que el uso de un biocida además de la oxidorreductasa E.C. 1.1.3 mejora significativamente el efecto antimicrobiano de la oxidorreductasa.

10 [0022] La invención también se refiere a un método de crecimiento microbiano de prevención en el agua del jarrón de flores cortadas, comprendiendo dicho método la inmersión de los tallos de una o más flores cortadas en el agua del jarrón y añadiendo una composición antimicrobiana que contiene glucosa oxidasa en el agua de jarrón antes, después o al mismo tiempo que las flores cortadas se introducen en el agua de jarrón, donde la glucosa oxidasa se añade al agua de jarrón en una cantidad de 1-200 SRU por litro.

15 [0023] La composición antimicrobiana empleada conforme a la presente invención es preferiblemente en gran medida hidrosoluble. Más particularmente, se prefiere que al menos el 80% en peso, más preferiblemente al menos el 90% en peso de la composición antimicrobiana se disuelva en el agua destilada a 20 °C cuando se añade a ella en una cantidad de 5 g/l.

20 [0024] La composición antimicrobiana ventajosamente se añade al agua de jarrón en forma de una tableta, un polvo, una pasta o de un fluido con un contenido de sustancia en seco de al menos 5 g/l. Más preferiblemente, dicha composición se añade en forma de tableta o en polvo.

25 [0025] Preferiblemente, la composición antimicrobiana empleó conforme a la invención contiene glucosa-oxidasa en una cantidad de 0,1-200 SRU por gramo de sustancia seca, de la forma más preferible de 0,5-100 SRU por gramo de sustancia seca.

30 [0026] Según una forma de realización particularmente preferida, la composición antimicrobiana contiene al menos el 5% en peso de sustancia seca de un carbohidrato seleccionado del grupo que consiste en glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa, maltosa y combinaciones de las mismas. Incluso más preferiblemente, el carbohidrato es seleccionado de la glucosa, sacarosa o combinaciones de las mismas. Más preferiblemente, el carbohidrato es glucosa.

35 [0027] Conforme a otra forma de realización de la invención, la composición antimicrobiana contiene uno o más acidulantes. Se descubrió que la incorporación de acidulantes en la composición antimicrobiana mejora la acción antimicrobiana de la oxidorreductasa. Algunos ejemplos típicos de acidulantes que pueden emplearse adecuadamente incluyen ácido glucónico, glucono-delta-lactona, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido fumárico, ácido sórbico, ácido málico, sulfato aluminico y combinaciones de los mismos. Según una forma de realización particularmente preferida, el acidulante empleado en el presente método es seleccionado del grupo que consiste en ácido glucónico, glucono-delta-lactona y combinaciones de los mismos. Más preferiblemente, la composición antimicrobiana contiene glucono-delta-lactona. A diferencia del ácido glucónico, la glucono-delta-lactona es sólida a temperatura ambiente, que permita la fácil incorporación de este acidulante en formulaciones sólidas tales como polvos y tabletas. Cuando se añade al agua del jarrón, la glucono-delta-lactona convertirán gradualmente a ácido glucónico, causando así una reducción del pH del agua del jarrón.

45 [0028] Ventajosamente, el pH del agua de jarrón se reduce en al menos 1,0 unidad de pH, más preferiblemente al menos 1,5 unidades de pH y más preferiblemente en 2,0-4,0 unidades de pH como resultado de la adición de la presente composición antimicrobiana.

50 [0029] El presente método emplea ventajosamente una composición antimicrobiana que contiene un biocida seleccionado del grupo que consiste en fungicidas, antibióticos, bactericidas, inhibidores de levadura y combinaciones de los mismos. Incluso más preferiblemente, dicho biocida es seleccionado del grupo que consiste en compuestos de amonio cuaternario que contienen al menos un residuo de hidrocarburo C6-C24, compuestos de guanidina que contienen al menos un residuo de hidrocarburo C6-C24, derivados de nitrógeno de bromo, isotiazolinonas, hidroxiquinolinas, 1,3-dihalo-5,5-dimetilhidantoina, cloranfenicol, espectinomicina, parabenos de alquilo, ácidos salicílicos y sales derivadas, ácidos benzoicos y sales derivadas, sorbatos, tiabendazole 1,3-dicloro-5,5-dimetilhidantoina, N-clorosulfonamidas, isocianuratos, lisozimas y combinaciones de los mismos. De la forma más preferible, el biocida es seleccionado del grupo que consiste en compuestos de amonio cuaternario que contienen al menos un residuo de hidrocarburo C6-C24, compuestos de guanidina que contienen al menos un residuo de hidrocarburo C6-C24 y combinaciones de los mismos. Los biocidas de este grupo mejoran eficazmente la acción antimicrobiana de la oxidorreductasa en el agua del jarrón.

60 [0030] Típicamente, el biocida que contiene una composición antimicrobiana se añade al agua del jarrón para entregar el biocida en una concentración de 0,5-1000 mg/l. Más preferiblemente, en el presente método, el biocida se añade al agua de jarrón en una concentración de 1-200 mg/l.

65 [0031] Para ser consciente de los beneficios de la presente invención, la composición antimicrobiana se añade típicamente al agua de jarrón en una cantidad de 0,1-40 g/l.

Más preferiblemente, la composición antimicrobiana se añade en una cantidad de 0,5-20 g/l, más preferiblemente de 1-15 g/l.

5 [0032] El agua de jarrón ventajosamente tiene un pH inferior a 5,5, más preferiblemente un pH de 3,0-5,0 y más preferiblemente de 3,5-4,8.

10 [0033] Los distintos componentes de la composición antimicrobiana de la invención se describirán con más detalle a continuación. Las cantidades se refieren a una única unidad de dosificación de la composición antimicrobiana, que está típicamente diseñadas para su uso en 1 litro de solución conservante (jarrón de agua). Típicamente, una unidad de dosificación de la presente composición antimicrobiana contiene 0,1-40 g de sustancia seca, más preferiblemente 0,5-20 g de sustancia seca, de la forma más preferible 10 g de sustancia seca.

15 [0034] Si la unidad de dosificación es una cantidad medida de líquido, las cantidades dadas por dosis unitarias se pueden convertir a peso por litro de una manera similar, dependiendo de la cantidad de líquido de la unidad de dosificación.

[0035] La presente composición antimicrobiana contiene preferiblemente 1-200 SRU, preferiblemente 5-100 SRU, más preferiblemente 10 a 50 SRU de glucosa oxidasa por unidad de dosificación.

20 [0036] El efecto antimicrobiano de la oxidorreductasa en el presente uso depende de la presencia del sustrato correspondiente en el agua del jarrón. Tal sustrato puede ya estar presente hasta cierto punto en el jarrón o se puede proporcionar a través de la presente composición antimicrobiana o se puede añadir de forma separada. La cantidad total de sustrato enzimático (alcohol o carbohidrato, por ejemplo, glucosa) puede encontrarse entre 100 mg y 50 g por litro de solución de agua del jarrón. Preferiblemente, la cantidad de sustrato enzimático se encuentra en el rango de 0,2-20 g/l. El sustrato enzimático es preferiblemente un carbohidrato seleccionado del grupo que consiste en glucosa, fructosa, galactosa, sacarosa, lactosa, maltosa y combinaciones de los mismos, siendo la glucosa la más preferida.

30 [0037] En una forma de realización ventajosa, la presente composición antimicrobiana contiene al menos 100 mg, más preferiblemente 0,2-50 g y de la forma más preferible 0,2-20 g de carbohidrato por unidad de dosificación, siendo seleccionado dicho carbohidrato del grupo que consiste en glucosa, fructosa, galactosa, sacarosa, lactosa y combinaciones de las mismas. En una unidad de dosificación de 10 g de un sustrato de composición antimicrobiana sólida, tal como la glucosa, se puede incorporar en una cantidad de hasta 9,99 g de sustancia seca. Preferiblemente, se incorporan de 0 g a 9,8 g de sustrato a una composición seca de 10 g.

35 [0038] Los compuestos de amonio cuaternario para ser usados según la invención son compuestos de amonio con cuatro grupos orgánicos unidos de forma covalente a un átomo de nitrógeno, al menos uno de los cuales tiene al menos 6 átomos de carbono. Ellos pueden ser representados generalmente por la fórmula  $R^1R^2R^3R^4N^+X^-$ , donde:

- 40 -  $R^1$  es un grupo de hidrocarburo  $C_6-C_{24}$ , que puede ser heterosustituido, por ejemplo, con uno o más átomos de halógeno;
- $R^2$  es un grupo de hidrocarburo  $C_1-C_{24}$ , que puede ser heterosustituido, por ejemplo, con uno o más átomos de halógeno;
- $R^3$  y  $R^4$  son grupos alquilo  $C_1-C_6$ ;
- 45 - alternativamente,  $R^1$  y  $R^2$ , o  $R^3$  y  $R^4$  pueden formar, junto con el átomo de nitrógeno, un anillo saturado o parcialmente insaturado o  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  o  $R^4$  se puede conectar a un segundo átomo de nitrógeno en forma de un alquileo  $C_2-C_6$ , cicloalquileo de grupo de piperazina, formando así compuestos de amonio cuaternario diméricos o poliméricos;
- X es halógeno o el residuo de un ácido inorgánico u orgánico.

50 [0039] Ejemplos de sales amónicas cuaternarias son cloruro de benzalconio (alquil dimetil bencil cloruro de amonio  $C_{12}-C_{18}$ ), alquil dimetil etilbencil cloruro de amonio  $C_{12}-C_{18}$  y didecil dimetil cloruro de amonio. También se pueden usar combinaciones.

55 [0040] Preferiblemente, el compuesto amónico cuaternario está presente en la composición antimicrobiana de la invención a un nivel de 2-500 mg por unidad de dosificación, preferiblemente 5-250 mg por unidad de dosificación, más preferiblemente 10-100 mg por unidad de dosificación.

60 [0041] Los compuestos de guanidina a ser usados según la invención son compuestos orgánicos con el grupo de guanidina ( $NR^a-C(=NR^b)-NR^c-$ ), donde  $R^a$ ,  $R^b$  y  $R^c$  son hidrógeno, o un grupo de hidrocarburo  $C_1-C_{24}$ , opcionalmente sustituido por ejemplo con halógeno. Al menos un grupo en los átomos de nitrógeno debería contener preferiblemente al menos 6 átomos de carbono. Algunos ejemplos de compuestos de guanidina incluyen clorhexidina ( $A-NCH_3-C(=NH)-NH-C(=NH)-NH-(CH_2)_6-NH-C(=NH)-NH-C(=NH)-NCH_3-A$ , donde A es p-clorofenilo, y especialmente poli-hexametileno-biguanida (PHMB:  $[-(CH_2)_6-NH-C(=NH)-NH-C(=NH)-NH-]_n$ ).

65 [0042] Preferiblemente, el compuesto de guanidina (biguanida) está presente en la composición antimicrobiana de la invención a un nivel de 1-100 mg por unidad de dosificación, más preferiblemente 2-60 mg y más preferiblemente 2,5-20 mg de compuesto de guanidina por unidad de dosificación.

5 [0043] En una forma de realización preferida, la composición adicionalmente comprende una cantidad de acidulante que es eficaz en el ajuste de un pH en una solución (agua de jarrón) producida por la composición entre 3 y 5,5, preferiblemente entre 3,5 y 5,0. En otras palabras, cuando una unidad de dosificación de la presente composición se añade a 1 litro de agua a temperatura ambiente, los acidulantes contenidos aquí reducen ventajosamente el pH del agua de jarrón a los rangos ya mencionados.

10 [0044] La cantidad de acidulante necesita conseguir la reducción de pH deseada, dependiendo de la capacidad de tampón de la composición antimicrobiana de la invención y del agua que se usa para constituir la solución del jarrón. Un rango típico se encuentra entre 10 y 1000 mg por unidad de dosificación, preferiblemente entre 50 y 700 mg por unidad de dosificación.

15 [0045] La presente composición puede adecuadamente contener un surfactante no iónico o aniónico, por ejemplo en una cantidad de 1-500 mg por unidad de dosificación. Los materiales de surfactante no iónicos adecuados para los fines de esta invención incluyen, pero de forma no limitativa, tensioactivos no iónicos tales como anhídridos de hexitol (hexitans y hexides) derivados de sorbitol parcialmente esterificados con ácidos grasos comunes (p. ej., ácidos oleicos, palmíticos y esteáricos). Otros tensioactivos no iónicos adecuados incluyen materiales derivados de estos tensioactivos por eterificación de los grupos hidroxilo libres con grupos poli(oxietileno). Adicionalmente, también pueden usarse polietoxilado octilfenoles o nonilfenoles. También pueden usarse agentes tensioactivos no iónicos que comprenden  
20 alcoholes de cadena lineal etoxilada, al igual que agentes tensioactivos no iónicos que comprenden copolímeros en bloque de óxido de propileno y óxido de etileno. Además, también se pueden usar tensioactivos no iónicos que son polímeros en bloque de derivados de polioxialquileno de etilendiamina. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen sales de metales alcalinos de ésteres de ácido sulfosuccínico tales como sodio dioctil sulfosuccinato.

25 [0046] La composición antimicrobiana de la presente invención puede adecuadamente coger la forma de un líquido, una pasta, un polvo, una tableta, etc. Típicamente, el contenido de agua de la presente composición es inferior al 90% en peso, más preferiblemente el contenido de agua es inferior al 50% en peso. Las oxidorreductasas se usan preferiblemente en composiciones antimicrobianas con baja actividad acuosa, ya que la estabilidad de las enzimas en la presencia de agua se limita frecuentemente. De este modo, según una forma de realización particularmente preferida, la presente composición contiene incluso menos del 10% en peso de agua, por ejemplo, en el caso de polvos o tabletas.

35 [0047] La presente composición puede añadirse ventajosamente al agua del jarrón para asegurar que el agua permanece clara durante un periodo de tiempo prolongado. La composición produce preferiblemente una solución completamente transparente cuando se dispersa en el agua a 20 °C en una cantidad de al menos 0,1 g de sustancia seca por litro de agua, en particular entre 0,2 y 50 g por litro, especialmente entre 0,5 y 20 g por 1. El requisito ya mencionado necesariamente no implica que la presente composición se disuelva completamente cuando se añade en las cantidades ya mencionadas. No obstante, cualquier material no disuelto debería no afectar a la calidad transparente del agua de jarrón, por ejemplo, porque forma una capa de sedimento en el fondo del jarrón. Según una forma de realización particularmente preferida, la presente composición es altamente soluble en agua.

40 [0048] Según una forma de realización de la invención, la presente composición está en forma de polvo o tableta. Cuando en forma de polvos secos, las formulaciones de esta invención son adecuadamente empaquetadas a granel para el uso final, como en contenedores con una tapa de ajuste estanca, tales como con cubierta roscada o botellas con tapa a presión, preferiblemente se empaquetan en el plástico, hoja o sobres de papel (ver EP-A 1 289 854) con la cantidad requerida de material para un único uso. Los ingredientes efervescentes pueden ser incorporados ventajosamente para acelerar la dispersión y disolución de la composición. Típicamente, las tabletas de la presente composición tienen un peso de 0,1-20 g, preferiblemente de 0,5-10 g.

45 [0049] Según otra forma de realización, la composición antimicrobiana de la presente invención es un líquido concentrado, que comprende preferiblemente al menos 10 g de sustancia seca por litro hasta por ejemplo 900 g/l, comprendiendo más preferiblemente 25-800 g de sustancia seca por litro. En caso de que dicho líquido contenga tanto oxidorreductasa como sustrato de oxidorreductasa, al menos uno de dichos componentes, especialmente la oxidorreductasa, es preferiblemente encapsulada o envasada separadamente para prevenir la oxidación prematura del sustrato.

50 [0050] La presente composición antimicrobiana se disuelve adecuadamente en el agua de jarrón a una concentración que varía entre aproximadamente de 0,5 g/litro a aproximadamente 40 g/litro, preferiblemente de aproximadamente 2 g/litro a 20 g/litro, también dependiendo del peso y la naturaleza física de la unidad de dosificación. Para una disposición típica de flores cortadas, el volumen de agua en un jarrón o cubo es aproximadamente la mitad para cuatro litros. Así, un embalaje preferido que comprende una dosis unitaria de la presente composición, es un sobre que contiene aproximadamente 0,5-40 gramos de la composición, calculado como sustancia seca, especialmente 1-40 gramos, más particularmente 2-20 gramos. Según una forma de realización particularmente preferida, dicho sobre consta al menos parcialmente de un material permeable al agua de manera que al sumergirlo en agua, el agua entrará fácilmente en el sobre y entrará en contacto directo con la composición antimicrobiana. Sumergiendo dicho sobre en el agua del jarrón, el contenido del sobre se disolverá en el agua que penetre y se dispersa fuera del sobre en el agua de jarrón. Alternativamente, los sobres pueden constar de un material impermeable al agua, y se pueden abrir y vaciar en el jarrón

que se use.

[0051] La presente composición, a los niveles en los que se debe emplear en el agua de jarrón, tiene un efecto antimicrobiano pronunciado, pero no experimenta esencialmente ningún efecto fitotóxico.

5 [0052] La invención es posteriormente ilustrada mediante el siguiente ejemplo.

**Ejemplo**

10 [0053] Un ramillete mezclado de 12 flores compuesto de la siguiente manera:

- Rosa "Passion" (2 tallos)
- Crisantemo santini "Noki" (2 tallos)
- Crisantemo santini "Quinti" (2 tallos)
- 15 Gerbera "Baya" (2 tallos)
- Gerbera "Sardana" (2 tallos)
- Antirrhinum (1 tallo)
- Solidago "Tara" (1 tallo)

20 fue colocado en un jarrón con 1 litro de solución. La solución fue bien agua del grifo o una solución de base acuosa que contiene 10 g/l de una composición que contiene el 94,66% de glucosa, el 5% de ácido cítrico, el 0,34% de biocidas convencionales.

25 [0054] Los siguientes componentes fueron adicionados o no a la solución de base (cantidades por solución de litro):

- BZC: 0 o 30 ppm de cloruro de benzalconio
- GOX: 0 o 100 SRU de glucosa oxidasa

30 [0055] Los resultados se dan en términos de la vida de una flor (FL, en días), claridad del agua después de X días (WCx, con una estimación de 1: pobre a 5: bueno) y contaminación bacteriana después 7 días (CFU, en 1000 CFU/g tallo: por debajo de 10: difícilmente o no contaminado, 10-100 moderadamente contaminado, 100-1.000 contaminado, por encima de 1.000 contaminado en exceso). Los jarrones con flores fueron colocados por debajo de 12 durante 24 horas de 1000 lux, a 20 °C.

35 *Tabla: resultados de tratamientos con soluciones conservantes diferentes*

Base	BZC (ppm)	GOX (SRU)	FL (días)	WC7	WC10	CFU (x1000)
- (agua)	0	0	5,1	1,0	1,0	n.d.
+	0	0	12,5	1,5	1,0	24.600
+	0	100	12,7	4,0	3,0	4.400
+	30	0	12,0	2,5	1,5	900
+	30	100	12,5	3,0	3,0	16

n.d. = no determinado

40 [0056] Los resultados muestran que los componentes individuales tienen un efecto claro en cada parámetro. La glucosa oxidasa tiene un fuerte efecto en la claridad del agua, mientras que la glucosa oxidasa al igual que BZC tiene un efecto fuerte en la contaminación bacteriana. Además, estos resultados demuestran un efecto de sinérgico que resulta del uso combinado de la glucosa oxidasa y de biocida de amonio cuaternario (BZC).

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de una oxidorreductasa EC 1.1.3 como un aditivo antimicrobiano para agua de un jarrón de flores cortadas.
- 5 2. Uso según la reivindicación 1, donde la oxidorreductasa es glucosa oxidasa.
3. Método de prevención del crecimiento microbiano en el agua del jarrón de flores cortadas, comprendiendo dicho método la inmersión de los tallos de una o más flores cortadas en el agua del jarrón y añadiendo una composición antimicrobiana que contiene glucosa oxidasa como un aditivo antimicrobiano al agua de jarrón antes, después o en el momento de sumergir las flores cortadas en el agua del jarrón, donde la glucosa oxidasa se añade al agua de jarrón en una cantidad de 1-200 SRU por litro.
- 10 4. Método según la reivindicación 3, donde la composición antimicrobiana contiene al menos el 5% en peso de sustancia seca de un carbohidrato seleccionado del grupo que consiste en glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa, maltosa y combinaciones de las mismas.
- 15 5. Método según la reivindicación 3 o 4, donde la composición antimicrobiana contiene glucosa en una cantidad de al menos el 5% en peso de sustancia seca.
- 20 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, donde la composición antimicrobiana contiene un biocida seleccionado del grupo que consiste en compuestos de amonio cuaternario que contienen al menos un residuo de hidrocarburo C<sub>6</sub>-C<sub>24</sub>, compuestos de guanidina que contienen al menos un residuo de hidrocarburo C<sub>6</sub>-C<sub>24</sub> y combinaciones de los mismos.
- 25 7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, donde la composición antimicrobiana contiene un acidulante seleccionado del grupo que consiste en ácido glucónico, glucono-delta-lactona, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido fumárico, ácido sórbico, ácido málico, sulfato aluminico y combinaciones de los mismos, y donde la adición de la composición antimicrobiana al agua del jarrón provoca una reducción del pH de al menos 1,0 unidad de pH.
- 30