

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 544 266**

51 Int. Cl.:

**A01N 25/30** (2006.01)

**A01N 43/16** (2006.01)

**A01N 43/653** (2006.01)

**A01N 59/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.08.2010 E 10749837 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.05.2015 EP 2482647**

54 Título: **Uso de sofrolípidos y sus derivados en combinación con plaguicidas como adyuvante/aditivo para la fitoprotección y el sector industrial de no cultivos**

30 Prioridad:

**29.09.2009 DE 102009045077**

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

**28.08.2015**

73 Titular/es:

**EVONIK DEGUSSA GMBH (100.0%)  
Rellinghauser Strasse 1-11  
45128 Essen, DE**

72 Inventor/es:

**GISSLER-BLANK, SABINE;  
SCHILLING, MARTIN;  
THUM, OLIVER y  
SIEVERDING, EWALD**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 544 266 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

Uso de soforolípidos y sus derivados en combinación con plaguicidas como adyuvante/aditivo para la fitoprotección y el sector industrial de no cultivos

5 La invención se refiere al empleo de soforolípidos o bien de sus composiciones como aditivo de formulación y/o aditivo de mezcla de tanque (también denominado adyuvante) de plaguicidas o bien mezclas de plaguicidas.

En la fitoprotección, en el caso de parasiticidas y también en el sector industrial de no cultivos se emplean a menudo para mejorar la eficacia biológica de plaguicidas o bien mezclas de plaguicidas de este tipo los denominados adyuvantes (o "adjuvants") o también coadyuvantes o bien aditivos. La eficacia se designa a menudo como efectividad. El Pesticides Safety Directorate (PSD, el Sector Ejecutor de la Health and Safety Executive, una asociación pública no estatal en Gran Bretaña) define un adyuvante como una sustancia que, junto al agua, no es eficaz por sí mismo como plaguicida, pero aumenta o bien sustenta la efectividad de un plaguicida (<http://www.pesticides.gov.uk/approvals>). Éstos se añaden al caldo de pulverización acuoso poco antes del brote y de la pulverización (como aditivo de mezcla de tanque) o se incorporan directamente en formulaciones de agentes fitoprotectores. En el caso de utilizar la palabra adyuvante se utilizan a menudo en patentes o en la bibliografía como sinónimo los términos tensioactivo o agente humectante que, sin embargo, son demasiado amplios y pueden interpretarse más bien como concepto general.

En virtud del uso notificado en esta memoria, se recurre al término adyuvante, ya que con ello se describe mejor la función de los soforolípidos. Los soforolípidos, tal como se indica más adelante, apenas se humectan/extienden. A diferencia de ello, muchos de los agentes humectantes o tensioactivos conocidos en la fitoprotección se distinguen por un comportamiento de extensión muy elevado, a ellos pertenecen, por ejemplo, los trisiloxanos.

En la práctica existen numerosos principios activos fitoprotectores que sólo alcanzan una efectividad aceptable, es decir, un efecto relevante en la práctica, con ayuda de adyuvantes. En este caso los adyuvantes ayudan a compensar las debilidades del principio activo tales como, por ejemplo, la sensibilidad UV de avermectinas (son destruidas mediante radiación ultravioleta) o la inestabilidad en agua de sulfonilureas. Principios activos más recientes no son, por norma general, solubles en agua como para poder expandirse por lo tanto de manera eficaz sobre un objetivo = organismo diana = plantas, los adyuvantes son indispensables para el caldo de pulverización acuoso con el fin de compensar a través de la influencia física de las disoluciones acuosas, la mala humectación de superficies. Además, los adyuvantes ayudan a superar problemas técnicos de aplicación tales como pequeñas cantidades de aplicación de agua, diferentes calidades del agua y la tendencia a velocidades incrementadas de aplicación. El aumento de la eficacia del plaguicida, así como la compensación de debilidades de los agentes fitoprotectores por parte de adyuvantes se designa en general como aumento de la efectividad de la aplicación de agentes fitoprotectores.

La persona no experta podría suponer que todos los humectantes/tensioactivos disponibles en el comercio (por ejemplo en el sector de la cosmética o en el sector de los productos de limpieza domésticos) provocan un aumento de la efectividad de plaguicidas. Sin embargo, este no es el caso, tal como se comprobó también en muchas publicaciones (véase p. ej. Pesticide Formulation and Adjuvant Technology, editada por Chester L. Foy y David W. Pritchard. CRC Press LLC, 1996, páginas 323-349).

Por lo tanto, es sorprendente y no evidente que los soforolípidos aumentan la efectividad de plaguicidas, es decir, se comportan como adyuvantes.

40 Algunas publicaciones enseñan que determinados glucolípidos tales como ramnolípidos pueden por sí mismos ejercer un efecto plaguicida intrínseco (documento US 2005/0266036 o también You DS, Lee BS, Kim EK (2005), Characteristics of microbial biosurfactant as an antifungal agent against plant pathogenic fungus. J. Microbiol, Biotechnol 15:1164-1169). Por lo tanto, se puede comprobar que en esta solicitud de patente no se describen adyuvantes en el sentido de la definición del UK-PSD.

45 El documento US 2005/0266036 A1 describe agentes humectantes biológicos que son producidos por microbios, para su empleo contra parásitos, p. ej., nematodos. En este caso, los agentes humectantes o los microorganismos que producen los agentes humectantes se disponen en calidad de bioplaguicidas directamente sobre los parásitos con el fin de combatir a éstos directamente. Únicamente se indican ejemplos para el empleo de ramnolípidos contra moscas domésticas, cucarachas y nematodos, así como contra esporas de hongos existentes sobre calabaza. La concentración de empleo del agente humectante biológico, en este caso de un ramnolípidos, era muy elevada en el

caso de herbicidas con 5% en peso en el caldo de pulverización. En una concentración de aplicación tan elevada no se emplean incluso los principios activos de agentes fitoprotectores. La mayoría de las veces (sin embargo, existen también otras concentraciones de aplicación) se emplea aprox. 1 l/ha de formulación fitoprotectora (que contiene como máximo 500 g/l de principio activo) con una cantidad de agua de aprox. 250 l/ha. Esto corresponde a una concentración máxima de aprox. 0,4% en peso. Sin embargo, en la solicitud de patente de EE.UU. arriba mencionada no se proporciona afirmación alguna para combatir parásitos de forma controlada y/o selectiva con una eficacia relevante en la práctica así como para prevenir, es decir, para el efecto protector.

Protectivo significa que la combinación de plaguicidas/adyuvantes se aplica sobre el organismo objetivo cuando todavía no se ha manifestado la enfermedad o el organismo nocivo (protectivo = aplicación protectora antes de la aparición de parásitos o enfermedades). Aplicaciones protectivas son de importancia, en particular, para fungicidas, pero también para insecticidas y acaricidas.

Del documento US 2005/0266036 A1 no es evidente si los ramnolípidos potencian también el efecto de herbicidas cuando se emplean en una dosificación selectiva (es decir, como adyuvantes). Dosificaciones selectivas son aquellas en las que el glucolípido propiamente dicho no provoca represión (deterioro) alguna del organismo nocivo (tal como malas hierbas, insectos, hongos u organismo nocivo similar).

En la solicitud US 2005/0266036 se describe que los bio-tensioactivos allí utilizados, en especial ramnolípidos, en virtud de su efecto penetrador de la pared celular, muestran una eficacia plaguicida. Sustancias fomentadores de la penetración de este tipo son de hecho a menudo necesarias para agentes fitoprotectores, con el fin de controlar un organismo nocivo que ya se encuentre en el tejido vegetal, lo cual se designa como efecto curativo. A partir de la solicitud de patente arriba mencionada no se puede, sin embargo, deducir de modo alguno, y tampoco es evidente, que los glucolípidos mejorarán también el efecto de agentes fitoprotectores de modo que se combinaran con ellos, actuaran de manera protectora o incluso los mejoraran esencialmente. En el sector de la fitoprotección se utilizan la mayoría de las veces agentes de contacto tales como, por ejemplo, el fungicida azufre, para la protección protectora. Estos principios activos actúan sólo a través del contacto, es decir, los parásitos deben ser alcanzados. Por el contrario, para la protección curativa se utilizan la mayoría de las veces sustancias activas de acción sistémica tales como, p. ej., rimsulfurona (del grupo de las sulfonilureas) o epoxiconazol (del grupo de los fungicidas de triazol). Este tipo de sustancias activas es absorbido por la planta y son transportadas en el jugo de la planta. Los parásitos comen o succionan de plantas y de esta forma, absorben el agente.

Sinergismo se entiende en este caso de manera que el efecto de la combinación de plaguicida y adyuvante es mayor que el efecto aditivo esperado de los dos componentes individuales (véase la fórmula de Colby: Colby S. R. 1967. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations. Weeds 15: 20-22). A un efecto sinérgico de este tipo en conjunción con plaguicida y soforolípidos no se encuentran testimonios en el estado de la técnica.

En la fitoprotección pasan a emplearse, en la desparasitación y en el sector industrial, agentes fitoprotectores químicos o biológicos (denominados también en lo que sigue plaguicidas) o mezclas de plaguicidas. Estos pueden ser, por ejemplo, herbicidas, fungicidas, insecticidas, reguladores del crecimiento, molusquicidas, bactericidas, viridicidas, microsustancias nutricias, así como agentes fitoprotectores biológicos a base de sustancias naturales o microorganismo vivos o elaborados o bien tratados. Principios activos plaguicidas se enumeran en relación con sus sectores de aplicación, p. ej., en "The Pesticide Manual" 14ª edición, 2006, The British Crop Protection Council, principios activos biológicos se indican, p. ej., en "The Manual of Biocontrol Agents", 2001, The British Crop Protection Council. En lo que sigue se utiliza plaguicida siempre como término genérico.

Como aditivos de mezcla de tanque se emplean tensioactivos de trisiloxano varias veces alcoxilados que reducen la tensión superficial estática de caldos de pulverización o agua de manera significativamente más intensa que los tensioactivos orgánicos utilizados en el pasado tales como, por ejemplo, etoxilatos de nonilfenol. Tensioactivos de trisiloxano tienen la estructura general  $\text{Me}_3\text{SiO-SiMeR-OSiMe}_3$ , en donde el radical R representa un radical poliéter. El uso de tensioactivos de trisiloxano super-extendedores tales como, p. ej., el BREAK-THRU<sup>®</sup> S-240, Evonik Goldschmidt GmbH, en combinación con un plaguicida conduce a una mejora de la absorción del plaguicida por parte de la planta y, en general, a un aumento de su eficacia o de su efectividad. En el documento US 6.734.141 se describe que para este aumento de la efectividad la responsable es especialmente una escasa tensión superficial y no necesariamente la extensión. En la mayoría de las patentes, por la expresión tensión superficial se entiende siempre la tensión superficial estática. Por ejemplo, en el caso de trisiloxanos, la tensión superficial estática se encuentra en aprox. 20 a 25 mN/m.

No obstante, tensioactivos de trisiloxano están clasificados en muchos Estados como nocivos para la salud, lo cual se evalúa como criterio de exclusión de registro como componente de agentes fitoprotectores. Muchos aditivos de mezcla de tanque, especialmente alcoholes etoxilados o alquilpoliglucósidos, hacen durante la incorporación con agitación que los caldos de pulverización formen una intensa espuma, lo cual puede conducir eventualmente a problemas durante la aplicación en el campo. En general, los agentes humectantes sintéticos tienen el deber de comprobación de que con el fin de acceder a un registro como adyuvante en las instituciones nacionales, no deben provocar residuos en el suelo. Esta problemática de los residuos, que en la mayoría de los países sólo existe para sustancias activas plaguicidas, se emplea cada vez más también en adyuvantes tradicionales. A agentes humectantes biológicos, dado que son biodegradables, no les afectaría esta problemática, lo cual representa una gran ventaja para esta aplicación.

Por glucolípidos se entiende una clase de compuestos químicos que se compone de una parte de hidratos de carbono hidrófila y de una parte lípidos hidrófoba y que, en virtud de su naturaleza anfífila, son tensioactivos o tienen propiedades tensioactivas y, por lo tanto, también se designan como biotensioactivos o bien biosurfactantes. A menudo se trata de ácidos grasos hidroxilados que están enlazados con un resto azúcar a través de un enlace glucosídico. A esta clase de compuestos pertenecen también productos del metabolismo microbiano. Ejemplos de ellos son ramnolípidos (RL), soforolípidos (SL) y manosileritritol-lípidos (MEL), que en cada caso son sintetizados por bacterias (p. ej., *Pseudomonas aeruginosa*), levaduras (p. ej., *Candida bombicola*) o levaduras y hongos superiores (p. ej., *Candida antarctica* y *Pseudozyma aphidis*).

La síntesis biotecnológica de este tipo de compuestos es ya conocida desde hace tiempo y cepas y condiciones de fermentación adecuadas han sido investigadas profundamente (p. ej., Mukherjee, S. et al. - 2006, *Towards commercial production of biosurfactants*, *Trends in Biotechnology*, Vol. 24, N° 11). En los últimos tiempos se ha incrementado sin embargo fuertemente el interés por esta clase de compuestos en el marco de la discusión de la duración, dado que su preparación puede tener lugar a partir de materias primas renovables bajo condiciones moderadas.

Básicamente, al microorganismo respectivo se le proporciona para ello durante la fermentación, como sustrato hidrófilo, un hidrato de carbono metabolizable (p. ej., un monosacárido o un disacárido) y como sustrato hidrófobo un hidrocarburo, alcohol graso, un ácido graso, un triglicérido o correspondientes mezclas, y a través de éstos se transforma en el compuesto diana correspondiente. En este caso, el origen de los dos sustratos puede variar intensamente, dado que los elementos necesarios de la molécula diana, en caso necesario, pueden ser sintetizados también mediante el metabolismo del microorganismo, con lo cual se hace accesible un espectro muy amplio de fuentes de hidratos de carbono así como de hidrocarburos (K. Muthusamy et al. - 2008, *Properties, commercial production and applications*, *Current Science*, Vol. 94, N° 6, págs. 736-747). Ejemplos de posibles sustratos hidrófobos son hidrocarburos de cadena larga, aceites vegetales o animales, ácidos grasos libres o derivados de ácidos grasos (véase el documento EP 1 953 237 A1, ésteres de diferentes longitudes de cadena, etc.), así como alcoholes grasos. Como fuente de carbono hidrófila se utiliza la mayoría de las veces glucosa, pero, en función del organismo empleado, se aceptan a menudo también otros azúcares tales como, por ejemplo, lactosa y sacarosa (von Boegart et al. - 2006, *Microbial production and application of sophorolipids*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 76).

Otra posibilidad de la diversificación estructural y de una ampliación que va acompañada de ello de las propiedades funcionales es la suficiente modificación química o bioquímica de los glucolípidos producidos por microbios. También aquí se describen diferentes métodos, por ejemplo en el documento US 2007/027106-A1 - *Charged Sophorolipids and sophorolipids containing compounds*, o en el documento US 2005/164955A1 - *Antifungal properties of various form of sophorolipids* o en Bisht, K. S. et al. - 1999, *Enzyme-mediated regioselective acylation of SLs*, *The journal of organic chemistry*, 64, págs. 780-789; Azim, A. et al. - 2006, *Amino acid conjugated sophorolipids*, *Bioconjugate Chemistry*, 17, págs. 1523-1529). Un método sencillo es, por ejemplo, la saponificación catalizada por bases o la esterificación con alcoholes alifáticos de diferentes longitudes de cadena. Un método interesante de preparar soforolípidos con restos hidrófobos cortos se publicó recientemente asimismo en el documento EP 1 953 237 A1. En este caso, se alimentan análogos de ácidos grasos como sustrato hidrófobo que contienen, por ejemplo, enlaces amida, éster o dobles enlaces, y posteriormente se pueden disociar químicamente por hidrólisis o por ozonólisis, con el fin de obtener restos hidrófobos de cadenas más cortas. La reducción de la porción de agua en los productos brutos de soforolípidos, por ejemplo mediante destilación, conduce a problemas técnicos durante el tratamiento, dado que los productos se vuelven muy viscosos. Este problema pudo resolverse mediante la adición de polioles difícilmente volátiles que reducen la viscosidad ya en una concentración baja, véase el documento US 4.197.166 *Dehydrating purification process for a fermentation product*.

En la bibliografía científica se conocen glucolípidos con los representantes ramnolípidos, trehalosalípidos y soforolípidos como tensioactivos biológicos (Desai JD y Banat IM. *Microbial Production of Surfactants and their*

- Commercial Potential. *Mycrobiology and Molecular Biology Reviews*, marzo de 1997, págs. 47-64). Así, por ejemplo, éstos se utilizan para el saneamiento del suelo (véase. Master Thesis Özlem Zenginyürrek, Izmir 2002, Izmir Institute of Technology: Título: Effects of biosurfactants on remediation of soils contaminated with pesticides; o *Food Technology and Biotechnology* (2001), 39 (4), 295-304). En esas publicaciones se describe también la degradación de plaguicidas, p. ej., de endosulfano o metolaclo en los suelos. En este caso, los agentes humectantes biológicos se aplican directamente sobre el suelo.
- La mayoría de las veces, en la bibliografía así como en patentes se relacionan ramnolípidos con agentes humectantes biológicos. Sin embargos, éstos se clasifican como perjudiciales para la salud y, de acuerdo con las hojas de datos de seguridad, pueden provocar serias lesiones oculares.
- La tendencia en el sector agrario va cada vez más a aditivos y adyuvantes toxicológicamente inocuos. Además, la preparación de ramnolípidos se dificulta debido a que durante la producción fermentativa se produce una fuerte formación de espuma y, hasta ahora, una producción biotecnológica eficiente sólo puede llevarse a cabo con cepas potencialmente patógenas del género *Pseudomonas*. Por lo tanto, no se prosiguió con ramnolípidos en el marco de esta invención.
- MEL (manosil-eritritol-lípidos) son otros lípidos que podrían considerarse como adyuvantes. Dado que, sin embargo, desde el punto de vista de la molécula, son muy hidrófobos y, por lo tanto, en todo caso sólo pueden ser dispersados en agua, su aplicabilidad estaría limitada a formulaciones basadas en aceite, dado que una premisa para el uso como aditivo de mezcla de tanque es que las moléculas son solubles en agua. Por lo tanto, MELs podrían utilizarse preferiblemente sólo en combinación con co-tensioactivos.
- En el documento PCT/US2005/046426 (WO2006/069175) se describieron soforolípidos como agentes anti-hongos, pero no en relación con la fitoprotección o aplicaciones de no cultivo. La propiedad como agentes anti-hongos se aprovecha en el sector cosmético o bien en medicina (K. Kim et. al. *Journal of Microbiology and Biotechnology* (2002), 12(2), 235-241). En el sector cosmético, agentes humectantes biológicos se utilizan la mayoría de las veces como emulsionantes para emulsiones de aceite en agua (I. van Bogaert et. al; *Appl. Microbiol Biotechnology* (2007) 76: págs. 23-34). Bogaert et al. informa también sobre el uso comercial de agente humectantes biológicos, especialmente soforolípidos, en productos de limpieza domésticos. En el documento US 4.216.311 se indica el uso de soforolípidos, a saber del éster metílico, como aditivo mejorador para principios activos agroquímicos. Se informa sobre la buena solubilidad en agua y las buenas propiedades emulsionantes.
- Formulaciones de agentes fitoprotectores que para su uso se diluyen con agua la mayoría de las veces antes de la pulverización habitual a través de toberas, contienen junto al componente plaguicida eficaz o el componente de tratamiento (denominado sustancia activa o también principio activo) también otros coadyuvantes tales como, por ejemplo, emulsionantes, espesantes, coadyuvantes de dispersión, anticongelantes, desespumantes, biocidas y/o sustancias tensioactivas; al experto en formulaciones le resulta conocido este tipo de sustancias.
- El tipo de formulación viene influenciado por la planta de cultivo, la zona de plantación así como del aplicador. En virtud de la pluralidad de propiedades físico-químicas de los distintos principios activos plaguicidas, existe en el mercado un gran número de diferentes tipos de formulación líquidos, pero también sólidos. En virtud de los aditivos de formulación, especialmente del adyuvante, resultan determinadas propiedades de aplicación tales como retención, penetración, resistencia a la lluvia y comportamiento de extensión. Mediante una formulación especial se ha de garantizar que la menor cantidad posible de principio activo pueda ser repartida uniformemente a lo largo de una gran superficie (reducción de las cantidades de aplicación para la protección del consumidor y del medio ambiente), no obstante garantizando, además, un rendimiento y una eficacia máximos.
- Tipos de formulación ampliamente difundidos, indicados aquí sólo a modo de ejemplo, son: concentrados de suspensión, suspensiones en cápsulas, concentrados en emulsión, concentrados solubles en agua, dispersiones en aceite, suspoemulsiones, emulsiones en agua, granulados dispersables en agua o polvos. Los posibles tipos y clases de formulación no deben limitarse a los aquí descritos.
- Principios activos de este tipo se añaden a menudo a un tanque con agua como contenido, con el fin de diluir la formulación concentrada del principio activo antes de la pulverización y hacerla compatible para las plantas. Aditivos de mezcla de tanque (también denominados aditivos o adyuvantes) se añaden al agua en el mismo tanque por separado, antes o después de la formulación del principio activo, y se reparten a través de agitación con todo el denominado caldo de pulverización.

Sustancias activas (principios activos) son aquellas que están admitidas y/o registradas y/o listadas en los distintos países para la aplicación a plantas y cultivos, con el fin de proteger a las plantas frente a parásitos, o para evitar o bien reducir una pérdida de cosecha en el caso de un cultivo. Sustancias activas o principios activos de este tipo pueden ser de tipo sintético, al igual que también de tipo biológico. Sustancias activas de este tipo pueden ser también extractos o sustancias naturales u organismos antagonísticamente activos. También se designan habitualmente como plaguicidas. Los plaguicidas, que se nombran según su sector de aplicación en la fitoprotección, incluyen, por ejemplo, las siguientes clases: acaricidas (AC), algicidas (AL); atrayentes (AT), repelentes (RE), bactericidas (BA), fungicidas (FU), herbicidas (HE), insecticidas (IN), agentes contra caracoles, molusquicidas (MO), nematocidas (NE), rodenticidas (RO), agentes de esterilización (ST), viridicidas (VI), reguladores del crecimiento (PG), agentes potenciadores vegetales (PS), microsustancias nutricias (MI) y macrosustancias nutricias (MA). Estas denominaciones y los sectores de aplicación son conocidos por el experto en la materia. Los principios activos se emplean solos o en combinaciones con otros principios activos. Plaguicidas preferidos son HB, FU, IN, PG, MI y, en particular, HB, FU, IN. Principios activos o bien sustancias activas de este tipo son comercializados en el mercado la mayoría de las veces en general confeccionados (formulados), dado que sólo pueden ser manipulados por el aplicador en esta forma y pueden ser esparcidos después de la dilución, la mayoría de las veces con agua.

Algunos principios activos u organismos activos están listados a modo de ejemplo, en "The Pesticide Manual" 14ª edición, 2006, The British Crop Protection Council, o en "The Manual of Biocontrol Agents", 2004, The British Crop Protection Council. En esta memoria se prescinde de un listado de los principios activos individuales y de formulaciones de estos principios activos, así como combinaciones de principios activos conjuntamente o entre sí.

Productos con un carácter natural o productos biológicos están también recogidos en uno de los documentos arriba mencionados. Sustancias nutricias vegetales y microsustancias nutricias vegetales que son expulsadas en forma líquida en un preparado líquido en las más diversas formas, solas o en combinación con otras sustancias nutricias o en combinación con agentes fitoprotectores, son, a título de ejemplo, nitrógeno, fosfato, potasio, calcio, magnesio, manganeso, boro, cobre, hierro, selenio, cobalto, y otras que se conocen bajo la denominación microsustancias nutricias.

Existe una demanda de sustancias biológicas que sean toxicológicamente inocuas, que no sean peligrosas para el medio ambiente y que, conforme a la Directiva EC 1907/2006, reduzcan fuertemente la tensión superficial del agua, sean solubles en agua o bien dispersables y puedan emplearse como aditivo en la mezcla de tanque, así como en calidad de coadyuvante de formulación con el fin de fomentar una eficacia selectiva en el caso de plaguicidas. Toxicológicamente inocuo significa en el marco de esta invención que las sustancias biológicas buscadas son, por ejemplo, biológicamente degradables, no presentan toxicidad para peces, dafnias y/o algas negativa (es decir > 10 mg/L) y no provoquen ninguna irritación a los ojos del aplicador. Concentraciones de aplicación preferidas en el sector de la mezcla de tanque se encuentran entre 0,001 - 3% en vol., preferiblemente de 0,01 - 0,5% en vol. y de manera particularmente preferida por debajo de 0,1% en vol. (aprox. de manera correspondiente también a 0,1% en peso) del caldo de pulverización. Esto es equivalente a 10 - 3.000 ml/ha, cuando se aplican habitualmente 100 a 1.000 l de caldo de pulverización por ha, y preferiblemente una cantidad de adyuvante de 50 - 700 ml/ha, que también pueden añadirse de las cantidades respectivas de caldo de pulverización independientemente de la cantidad de aplicación total de agua por ha. Como coadyuvante de formulación, esta concentración se ha de deducir del concentrado de agente fitoprotector y de su cantidad de aplicación. La cantidad de adyuvante precedentemente mencionada corresponde a la concentración de aplicación en el campo.

Por lo tanto, misión de la presente invención es encontrar adyuvantes toxicológicamente inocuos que potencien el efecto de plaguicidas elegidos del grupo de los fungicidas de contacto, herbicidas de sulfonilurea o fungicidas de triazol.

El problema se resuelve mediante el uso de adyuvantes/aditivos basados en soforolípidos.

El objeto de la reivindicación principal de la presente invención es, por consiguiente, el uso de adyuvantes que contienen soforolípidos, como componente de aditivos de la mezcla de tanque, como aditivo de la mezcla de tanque propiamente dicho o como aditivo de formulación, en cada caso con la función del adyuvante para la fitoprotección y/o el sector industrial de no cultivo, en donde los adyuvantes, que contienen soforolípidos, potencian el efecto de plaguicidas y/o aumentan la eficacia, con la condición de que el intervalo de dosificación del adyuvante se encuentre entre 10-3.000 ml/ha, con la condición de que como plaguicidas se utilicen fungicidas de contacto y/o herbicidas sistémicos elegidos del grupo de las sulfonilureas y/o fungicidas sistémicos elegidos de la clase de los triazoles, así como mezclas de éstos.

Se prefiere el uso como emulsionante, dispersante, antiespumante o como agente reticulante. Preferiblemente, se emplean ésteres de soforolípidos.

5 Preferiblemente, los adyuvantes de acuerdo con la invención, que contienen soforolípidos, potencian el efecto de plaguicidas y/o aumentan la eficacia, preferiblemente en más de un 10% con respecto a un uso sin los soforolípidos, con la condición de que el intervalo de dosificación del adyuvante oscile entre 30-1.000 mL/ha y preferiblemente entre 50-700 mL/ha.

10 Se prefieren plaguicidas en el sentido de agentes fitoprotectores y parasiticidas industriales, con la condición de que como plaguicidas se utilicen fungicidas de contacto y/o herbicidas sistémicos elegidos del grupo de las sulfonilureas y/o fungicidas sistémicos elegidos de la clase de los triazoles, así como mezclas de éstos, en particular cuando la combinación a base de plaguicida y adyuvante se ha de aplicar de manera protectora.

15 Particularmente preferido es en este caso el uso de los soforolípidos en aplicaciones de plaguicidas como aditivo en la mezcla de tanque o coadyuvante de formulación. En este caso, los adyuvantes deberían formar poca espuma y, con ello, desarrollar menos de 80 mL de espuma al cabo de 30 segundos según el método CIPAC MT 47 y/o no provocar irritación alguna a los ojos del aplicador y/o reducir la tensión superficial del agua a valores menores que 40 mN/m, referido a una disolución acuosa al 0,1% en peso del adyuvante.

20 Se prefiere un efecto sinérgico del adyuvante junto con el plaguicida. La efectividad de la actividad del plaguicida de estas composiciones preferidas y de acuerdo con la invención es en este caso mayor que la efectividad del plaguicida o del adyuvante solo o de su efecto aditivo, en donde en una forma de realización preferida, el adyuvante solo propiamente dicho no presenta eficacia plaguicida alguna en el intervalo de concentraciones de aplicación. Este efecto sinérgico se manifiesta preferiblemente en un intervalo de concentraciones y en una relación cuantitativa de principio activo plaguicida a adyuvante de 1:120 a 30:1, preferiblemente de 1:100 a 20:1, de manera muy particularmente preferida de 1:75 a 4:1. Este intervalo de concentraciones se refiere al uso como aditivo de mezcla de tanque, así como en calidad de aditivo de formulación. Preferiblemente, se utilizan como plaguicidas herbicidas y/o fungicidas elegidos del grupo de los fungicidas de contacto, herbicidas de sulfonilurea o fungicidas de triazol y sus mezclas.

En una forma de realización preferida, los adyuvantes/aditivos pueden emplearse junto con otros co-tensioactivos, por ejemplo ácidos carboxílicos. Como ácidos carboxílicos se emplean preferiblemente ácidos alcanóicos con una cadena de alquilo lineal, saturada, de 6 a 10 átomos de carbono o preferiblemente ácido octanoico (ácido caprílico), ácido nonanoico, ácido decanoico (ácido caprílico), ácido oleico o sus mezclas.

30 Los adyuvantes pueden emplearse como aditivos en formulaciones de plaguicidas tales como, por ejemplo, concentrados en suspensión, suspensiones en cápsulas, concentrados en emulsión, concentrados solubles en agua, dispersiones en aceite, suspoemulsiones, emulsiones en agua, granulados dispersables en agua o polvos, junto a otros aditivos tales como, por ejemplo, agentes dispersantes, emulsionantes, espesantes y antiespumantes, con un contenido en adyuvantes de 1% en peso a 99% en peso, preferiblemente en el intervalo de 1,5% en peso a 60% en peso, y de manera particularmente preferida de 1,9 a 30% en peso. Otro objeto de la invención son composiciones que contienen soforolípidos o preparados de soforolípidos mediante preparación fermentativa y al menos un principio activo plaguicida con la condición de que como plaguicidas se utilicen fungicidas de contacto y/o herbicidas sistémicos elegidos del grupo de las sulfonilureas y/o fungicidas sistémicos elegidos de la clase de los triazoles, así como mezclas de estos, en donde el propio soforolípidos no ejerce efecto plaguicida propio alguno.

40 Otro objeto de la invención son composiciones a base de soforolípidos y principios activos plaguicidas, en donde la efectividad y eficacia plaguicida de la composición es mayor que la suma de las efectividades de los componentes individuales. En este caso, la efectividad está referida tanto a la cantidad total como también referida a las relaciones cuantitativas relativas. Una efectividad óptima se alcanza en el caso de una relación cuantitativa de principio activo plaguicida a adyuvante de 1:100 a 20:1, preferiblemente de 1:75 a 4:1.

45 Las composiciones objeto de la invención contienen soforolípidos que pueden prepararse mediante procesos fermentativos. Condicionado por la composición heterogénea de los precursores (p. ej., mezclas de ácidos grasos) y de la selectividad limitada del aparato de biosíntesis microbiana, las sustancias no se presentan como compuestos puros, sino como mezclas naturales. Por los soforolípidos según los objetos de esta invención se entienden también composiciones que pueden emplearse y utilizarse sin purificación ulterior después de una preparación fermentativa.

50 Los soforolípidos según esta definición pueden contener, por consiguiente, por ejemplo precursores del proceso de fermentación tales como, por ejemplo, ácidos grasos e hidratos de carbono que han servido como sustratos para los

microorganismos, al igual que también, por ejemplo, agua y otras impurezas naturales, en particular orgánicas. Determinadas formas de soforolípidos no son estables al pH. Así, por ejemplo catalizado por bases, se puede producir una desacetilación o una apertura de lactona, bajo formación de la forma de ácido análoga.

5 En una forma de realización preferida de la invención se utilizan soforolípidos como componente de adyuvantes/aditivos en la fitoprotección y/o en el sector de no cultivos.

Los soforolípidos se presentan, referido a la masa seca, en una pureza de > 30% en peso, preferiblemente > 65% en peso (m/m), de manera particularmente preferida > 80% en peso (m/m). Estos adyuvantes pueden ser en un 1 a 100% en peso los propios soforolípidos.

10 El contenido de los soforolípidos en el adyuvante, referido a la masa seca, es preferiblemente mayor que 30% en peso y, en particular, mayor que 60% en peso.

Como sustrato hidrófobo de la preparación fermentativa pueden emplearse, junto al sustrato hidrófilo, hidrocarburos, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos y/o alcoholes grasos, preferiblemente se utilizan triglicéridos tales como, por ejemplo, sebo, aceite de girasol, de colza, de cardo, de soja, de palma, de pepita de palma, de coco, de oliva o sus mezclas.

15 La proporción de soforolípidos en el adyuvante, purificados o no purificados:

i) puede presentarse en forma de mezcla a base de lactona y forma de ácido con una proporción de ácido de 10 a 100% en peso, preferiblemente < 60% en peso, de manera particularmente preferida < 20% en peso, o

ii) puede consistir en una proporción de > 90% en peso de la forma lactona que puede solubilizarse mediante el ajuste del valor del pH a un valor entre 6 y 8, o

20 iii) puede presentarse como éster metílico o etílico con una proporción de 1 a 100% en peso, preferiblemente > 50% en peso y, en particular, 90% en peso (m/m) del éster respectivo.

Sorprendentemente, se encontró que la forma lactona de los soforolípidos también puede solubilizarse a un valor del pH de 6-8 mediante ácidos grasos presentes de la fermentación o añadidos adicionalmente.

25 Particularmente sorprendente es el hecho de que en este caso se obtuvieron sistemas transparentes, dado que a pH 6 ni la forma de lactona del soforolípidos ni el ácido graso por sí solo son claramente "solubles". Sólo la combinación a base de forma de lactona y ácido graso es claramente "soluble". Claramente "soluble" significa en este caso que se obtiene una disolución al menos aparentemente auténtica que, sin embargo, también puede presentarse como una emulsión fina. Lo característico es en cualquier caso que la emulsión eventualmente presente no se disocie de nuevo en fases individuales.

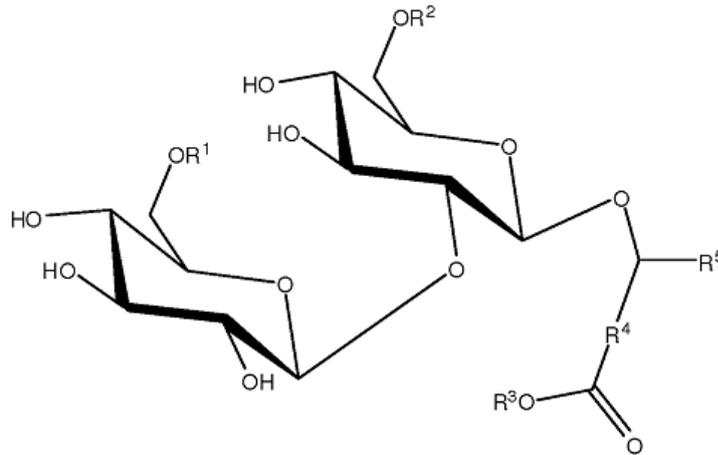
30 Por lo tanto, otro objeto de la invención es también un procedimiento para la preparación de una forma lactona solubilizada de los soforolípidos, disolviendo la forma lactona mediante la presencia de ácidos grasos mediante el ajuste del valor del pH a 6-8, eligiéndose los ácidos grasos del grupo del ácido nonanoico (ácido pelargónico), ácido decanoico (ácido caprílico), ácido dodecanoico (ácido láurico), ácido tetradecanoico (ácido mirístico), ácido hexadecanoico (ácido palmítico), ácido octadecanoico (ácido esteárico), ácido octadecanoico (ácido oleico) o sus mezclas, así como las disoluciones o emulsiones preparadas de esta forma. El valor del pH puede ajustarse mediante la adición de lejías inorgánicas tales como, por ejemplo, lejía de sosa, o mediante una adición adicional de ácido graso, en función en cada caso de que el valor del pH deba ser incrementado o bien reducido. Como ácidos grasos entran en consideración los ácidos grasos que no han reaccionado por completo durante la fermentación y/o que pueden ser añadidos adicionalmente. Los ácidos grasos pueden corresponder a los componentes ácidos de los triglicéridos empleados como sustratos, elegidos del grupo del sebo, aceite de girasol, colza, cardo, soja, palma, pepita de palma, coco, oliva, o también ácidos carboxílicos de cadena corta a media con una longitud de cadena del alquilo de 6 a 22 átomos de carbono.

45 En una forma de realización preferida, el adyuvante con contenido en soforolípidos presenta en una disolución acuosa al 0,1% en peso una tensión superficial de < 40 mN/m. El adyuvante puede contener junto al soforolípidos y eventualmente disolventes orgánicos y orgánicos, preferiblemente agua, otros aditivos conocidos por el experto en la materia.

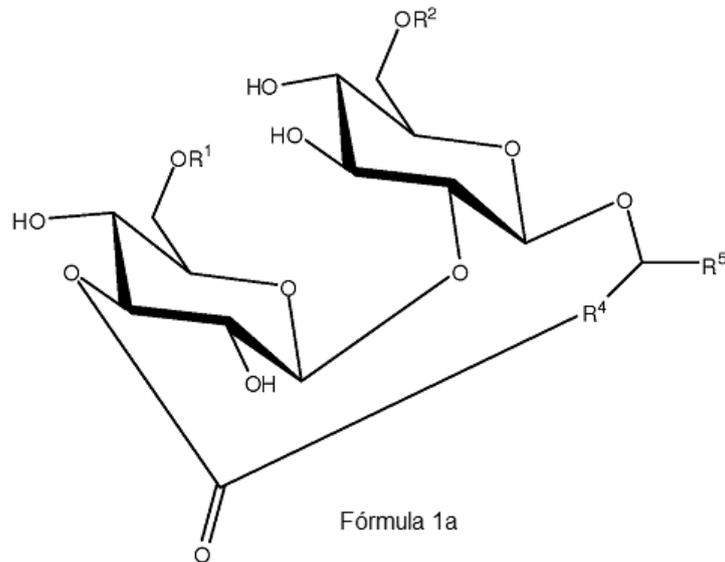
A los soforolípidos pueden añadirse también ácidos orgánicos o aceites, preferiblemente los arriba mencionados, y las mezclas obtenidas pueden utilizarse entonces como componentes de mezclas de aditivos de mezcla de tanque.

Otro objeto de la invención es el uso de soforolípidos en formulaciones de agentes fitoprotectores, en cada caso con la función como emulsionante, agente dispersante, antiespumante o, en general, como humectante.

En una forma de realización particularmente preferida de la presente invención se utilizan composiciones de soforolípidos que contienen soforolípidos de la fórmula 1 o 1a



Fórmula 1



Fórmula 1a

en donde

- 10  $R^1$  y  $R^2$ , independientemente uno de otro, son H o un grupo acetilo,  
 $R^3$  es H, un grupo metilo, etilo o hexilo,  
 $R^4$ , independientemente uno de otro, es un grupo orgánico saturado o insaturado, bivalente/de doble enlace, ramificado o no ramificado, preferiblemente un grupo hidrocarbonado con 1-28 átomos de carbono que

eventualmente puede estar interrumpido con grupos amina, éster, amida o tioéster y que, además, está preferiblemente al menos insaturado una vez,  
 R<sup>5</sup> es H o un grupo metilo,

5 con la condición de que el número total de los átomos de carbono en los grupos R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> no rebase el número 29 y ascienda preferiblemente a 12 hasta 20 y, en particular, a 14 hasta 16.

El grupo orgánico R<sup>4</sup> puede ser una cadena de carbonos que eventualmente puede estar interrumpida por heteroátomos tales como N, S, O y, por consiguiente, también está interrumpida por grupos amina, éter, éster, amida o tioéster.

10 Otros objetos de la invención se describen mediante las reivindicaciones, cuyo contenido divulgatorio es componente en toda su extensión de esta descripción.

En los ejemplos que se recogen seguidamente se describe a modo de ejemplo la presente invención.

15 Si en lo que sigue se indican intervalos, valores numéricos, fórmulas generales o clases de compuestos, entonces éstos no sólo deben comprender los correspondientes intervalos o grupos de compuestos que explícitamente se mencionen, sino también todos los intervalos parciales y valores numéricos y grupos parciales de compuestos que puedan obtenerse mediante la extracción de valores individuales (intervalos) o compuestos.

Ejemplos:

**Materiales investigados:**

Los soforolípidos investigados se pueden describir por las siguientes fórmulas generales I y/o Ia.

20 La preparación del producto bruto tuvo lugar mediante fermentación con la levadura *Candida bombicola* a base de los sustratos glucosa, aceite de girasol, colza u oliva (que contiene como porción de ácido graso principalmente ácido oleico).

El medio de crecimiento contenía los siguientes componentes:

- 25 - 10 g/L de glucosa ((D) + glucosa\*1H<sub>2</sub>O)
- 7,5 g/L de YNB (base nitrogenada de levaduras)
- 2 g/L de extracto de levadura

30 1,1 L del medio se sometieron en autoclave en un fermentador con un volumen de trabajo de 2 L y se inocularon con un pre-cultivo a base del mismo medio que se encuentra en la fase exponencial. La temperatura se ajustó a 30 °C. La pO<sub>2</sub> se mantuvo a través del número de revoluciones del agitador en una saturación relativa del 30% mediante gasificación con aire, pero el número de revoluciones del agitador no era nunca menor que 200 rpm. Durante la fase de formación de la biomasa, el valor del pH cayó a 3,5 y se mantuvo en este valor mediante la adición de NaOH. Después de haber finalizado la fase de formación de la biomasa (consumo de la glucosa presente, caracterizado por el aumento de la pO<sub>2</sub> o bien la caída de la pCO<sub>2</sub>), se inició la fase de formación del producto mediante la adición de 150 g del aceite correspondiente, 200 mL de una disolución de glucosa de 750 g/L y 10 mL de una disolución de extracto de levadura de 150 g/L. El final de la fase de formación del producto se caracterizaba por el aumento renovado de la pO<sub>2</sub>. Después de finalizada la fermentación, la tanda se sometió a autoclave y en este caso se depositaba la fase de producto bruto. La fase de producto bruto se lavó con agua y a continuación con hexano. A continuación, la fase de producto se extrajo con acetato de etilo y luego se separó en vacío el disolvente. Con ello, se obtuvo un producto ampliamente anhidro que corresponde a la masa seca de acuerdo con la invención. La analítica proporcionó, mediante HPLC-MS y RMN, que el producto se componía, en gran parte, de la forma lactona de soforolípidos doblemente acetilada con ácido graso unido glucosídicamente (componentes principales: lactona de soforolípidos 65-80% en peso, ácido graso 1-16% en peso, glicerol 1-3% en peso).

Tabla 1: Adyuvantes investigados en perspectiva

SLL	soforolípido = masa seca (sólido)
SLM	éster metílico de soforolípido (sólido)
SLS	forma ácida de soforolípido (sólido)
SLL-SLS	forma lactona de soforolípido en mezcla con forma ácida, 50% en agua
SLLF	mezcla al 30% de SLL + 30% de H <sub>2</sub> O + 20% de ácido nonanoico + 20% de propilenglicol

Adyuvante estándar como sustancia comparativa: BREAK-THRU<sup>®</sup> S 240 (trisiloxano alcoxlado de Evonik Goldschmidt GmbH)

- 5 En la Tabla 1 se recogen diversos derivados del soforolípido SLL preparado por vía fermentativa que posteriormente fueron testados en ensayos en invernadero. El transcurso de las etapas de derivatización se confirmó a través de analítica de RMN.

10 SLL: El SLL corresponde a la masa seca del proceso de fermentación y forma un sólido, cuyo contenido en soforolípidos es > 80% en peso y que está presente principalmente en la forma lactona del soforolípido (> 90% en peso).

15 SLM: Para la síntesis del éster metílico o bien éster etílico, SLL se disolvió en metanol o bien etanol como disolvente y se transesterificó mediante la adición de NaOCH<sub>3</sub> o bien NaOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (pH = 12) a una temperatura de 60°C durante 3 h. A continuación, el disolvente se separó en vacío. Se obtuvo un producto ligeramente viscoso que mediante congelación y subsiguiente molienda se pudo elaborar para formar un polvo con una solubilidad en agua de > 50% en peso (m/m).

20 SLS: A una suspensión acuosa al 60% en peso del soforolípido SLL se añadieron 5% en peso de gránulos de NaOH sólidos. Después, se agitó a una temperatura de 50°C durante 30 minutos con el fin de obtener mediante saponificación la forma de ácido desacetilada del soforolípido. A continuación, la tanda se ajustó a un valor del pH de 3 mediante la adición de HCl y el producto se extrajo con acetato de etilo. Después de la separación del acetato de etilo se obtuvo un residuo susceptible de ser molido para formar un polvo que era soluble en agua en hasta > 50% en peso.

25 SLL-SLS: En este caso se procedió como en el caso de SLS, pero sólo se añadió 1/10 de NaOH, con lo que únicamente se produjo una hidrólisis parcial de la forma de lactona. Esta forma mixta se empleó para formar una disolución con un contenido de aproximadamente 50% en peso.

25 Propiedades físicas:

a) Comportamiento de formación de espuma y tensión superficial:

30 Para las estructuras tomadas como base se midieron el comportamiento en la formación de espuma (según el método CIPAC MT 47) y la tensión superficial estática en disoluciones acuosas al 0,1% en peso (basada en el preparado de soforolípidos tal como se presenta como adyuvante). La tensión superficial de las disoluciones al 0,1% en peso se midió mediante un tensiómetro de la presión de burbujas de SITA Messtechnik GmbH, aparato Sita online t 60; SITAS online Versión 2,0. El tiempo de permanencia de las burbujas de la tensión superficial estática se encuentra en 30 ms. La desviación de medición se encuentra en aprox. 0,4 – 1% de los valores mN/m indicados. Las mediciones se llevaron a cabo a una temperatura ambiente de 22°C. Los valores recogidos son valores medios a base de 3 mediciones. De acuerdo con la definición CIPAC, se consideran como productos “no espumantes” los que crean únicamente una espuma de 5 mL en el matraz de medición en el método indicado. Como apenas espumantes se definen aquí entonces aquellos que muestran valores de ≤ 80 mL después de 30 s.

b) Mediciones de extensión:

La determinación de las propiedades de extensión tuvo lugar con una pipeta y una película de polipropileno biaxialmente orientada (FORCO OPPB AT-OPAL de la razón social 4P Folie Forchheim en Alemania). Una gota de una disolución acuosa que contiene 0,1% en peso del adyuvante, con un volumen de 50 microlitros se añadió a la película. Se midió el diámetro de la gota después de un minuto. En el caso de que la gota no se extendiera de forma circular, se calculó el valor medio del eje más largo y del eje más corto. Las mediciones se llevaron a cabo en un laboratorio climatizado a 21,5°C y una humedad relativa del aire del 60%.

Tabla 2: Propiedades físicas de adyuvantes/aditivos de acuerdo con la invención con respecto al trisiloxano sintético BREAK-THRU® S240

	BREAK-THRU® S 240*	SLM	SLS	SLL-SLS al 50% en peso en agua	SLL
Tensión superficial estática [mN/m]	21,1	38,6	39,5	39,8	35,2
Espuma en mL (después de 30 s)	220	80	80	70	60
Extensión [mm]	70	8	9	8	10

\* = Sustancia comparativa – trisiloxano órgano-modificado

Evaluación de los resultados de la Tabla 2:

Sorprendentemente, con respecto a la sustancia comparativa BREAK-THRU® S240, sólo se puede reconocer una ligera extensión para las composiciones de acuerdo con la invención. No obstante, la formación de espuma de las formulaciones de acuerdo con la invención está claramente reducida.

Evaluación técnica de aplicación:

Para el uso de sustancias como aditivo de formulación sólo es importante la compatibilidad física/química con otras sustancias de formulación, la eficacia biológica de una sustancia como adyuvante no se examina sin embargo siempre primero sola, es decir, como aditivo de la mezcla de tanque. Por lo tanto, como base para esta invención se determina la confirmación de la eficacia biológica por medio de ensayos de la mezcla de tanque en el invernadero. En lo que sigue se describen ensayos en invernadero que sirven para determinar la mejora de la eficacia biológica de plaguicidas con adición de adyuvantes en la fitoprotección. A partir del gran número de plaguicidas se eligieron en este caso, a modo de ejemplo, los plaguicidas epoxiconazol y azufre, así como el herbicida rimsulfurona. Con el fin de encontrar el sinergismo del adyuvante se realizaron los siguientes ensayos (véanse las Tablas 5-7)

- a) Adyuvante sin aditivo de plaguicida
- b) Aplicación de plaguicidas solo
- c) Plaguicida más adyuvante.

Con el fin de poder evaluar un sinergismo, los resultados de c deberían ser mejor que la suma de a y b, véase también la "fórmula de Colby".

En los ensayos que se representan en las Tablas 3 y 4 se testó únicamente la influencia de diferentes adyuvantes sobre la eficacia de los plaguicidas.

Disposición de ensayo para los ensayos curativos:

En un invernadero se sembró la especie de cebada "Ingrid" (3 plantas por maceta) en tierra vegetal "Frustosol". Tres semanas más tarde, las hojas de aprox. 10-15 cm de longitud de las plantas se inocularon con conidios recientes del mildiú *Blumeria graminis f. sp. hordei* (raza A6) por medio de una torre de inoculación. Dos días después se rociaron con caldo de pulverización que contenía el fungicida Opus® (125 g/L de epoxiconazol) de la razón social BASF. El

5 experto en la materia conoce este tipo de ensayos como ensayos curativos. La cantidad de agua de pulverización correspondía a 250 l/ha. La dosificación del fungicida ascendió a 10 ml/ha. Las dosificaciones de los adyuvantes variaban entre 50-125 mL (o g)/ha. En el caso de adyuvantes/aditivos diluidos con agua (tal como el SLL-SLS), la dosificación está referida al contenido de sustancia activa. Esta cantidad correspondía aproximadamente a 0,0025 – 0,5% en peso del adyuvante/aditivo en el caldo de pulverización que es equiparable a adyuvantes estándares tales como, por ejemplo, el BREAK-THRU® S240.

10 En la Tabla 3 se muestran los resultados comparativos entre el BREAK-THRU® S240 y el soforolípido SLL con concentraciones iguales. En este caso se observa que la dosificación debería oscilar entre 50-100 mL/ha y una concentración de los SLLs mayor que 50 g/ha no alcanzaba aumento del efecto alguno. Dado que no se disponía de experiencias en relación con una dosificación óptima del soforolípido, se tomaron como base por lo tanto para otros ensayos para los preparados de soforolípido con sus derivados 75 mL/ha o bien 75 g a. i. (sustancia activa)/ha (véanse las Tablas 5-7). En algunos casos también se pulverizaron los adyuvantes/aditivos sin fungicida, con el fin de examinar si los adyuvantes/aditivos solos mostraban un efecto biológico. Después de que se secura la película de pulverización, se recortaron segmentos de hoja de 8 cm de longitud de las plantas tratadas y también de las totalmente no tratadas y para cada una de las variantes se dispusieron en placas de Petri por separado 15 hojas sobre agar de bencimidazol (agar al 0,5% al que se le añadieron después de la esterilización 40 ppm de bencimidazol). Después de un tiempo de incubación de 14 días a temperatura ambiente, se examinó la enfermedad de las hojas con mildiú, estimando la proporción de superficie infectada de la hoja. Esta disposición de ensayo es habitual para el experto en la materia.

20 La eficacia del adyuvante solo, del plaguicida solo (es decir de los fungicidas o herbicidas) y de la combinación de plaguicida/adyuvante se expresó de la manera conocida por el experto en la materia en comparación con una muestra control no tratada, pero inoculada con el mismo hongo de mildiú, y se expresó en % de control de la enfermedad.

#### Disposición de ensayo para los ensayos protectivos:

25 El cultivo vegetal (cebada) en el invernadero tuvo lugar de la misma manera que en el ensayo curativo. Sin embargo, las plantas de aprox. 3 semanas de edad se pulverizaron para los ensayos protectivos con caldos de pulverización que contenían como principio activo fungicida azufre (Microthiol WG 80% de azufre) de la razón social Stähler), ya sea solo o en combinación con adyuvantes/aditivos. Además, con el fin de someter a ensayo el sinergismo, el adyuvante solo se aplicó en el caldo de pulverización, es decir, sin azufre. La dosificación de azufre ascendió a 1000 ppm/l, y los adyuvantes se aplicaron en diferentes dosificaciones (para las dosificaciones, véanse las tablas de resultados). La cantidad de caldo de pulverización ascendió a 250 l/ha, de modo que las concentraciones de adyuvante en el caldo de pulverización ascendieron a como máximo 0,1%; la dosificación de azufre ascendió a 250 g/ha. Después del secado de los caldos de pulverización, se recortaron segmentos de hoja de 8 cm de longitud de las plantas tratadas y también de las totalmente no tratadas y para cada una de las variantes se dispusieron en placas de Petri por separado 15 hojas en agar de bencimidazol (agar al 0,5% al que se añadieron después de la esterilización 40 ppm de bencimidazol). Al día siguiente, las plantas se inocularon con conidios recientes del hongo de mildiú *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (raza A6) por medio de una torre de inoculación. Una disposición de ensayo de este tipo es conocida por el experto en la materia como ensayo protectorio, dado que las plantas fueron protegidas mediante fungicida antes de la inoculación con los hongos. Después de un tiempo de incubación de 10 días a temperatura ambiente, se examinó la enfermedad de las hojas con mildiú, estimando la proporción de superficie infectada de la hoja. Esta disposición de ensayo es habitual para el experto en la materia.

45 La eficacia del adyuvante solo, del plaguicida solo (es decir de los fungicidas o herbicidas) y de la combinación de plaguicida/adyuvante se expresó de la manera conocida por el experto en la materia en comparación con una muestra control no tratada, pero inoculada con el mismo hongo de mildiú, y se expresó en % de control de la enfermedad.

#### Ensayos para determinar la mejora biológica del efecto de un herbicida:

50 En el invernadero se cultivó grama de prado (*Poa pratense*) en macetas. Tan pronto como las plantas habían alcanzado una altura de aprox. 5-7 cm, se pulverizaron con caldo de pulverización que contenía el herbicida Cato® (DuPont, 500 g/kg de rimsulfurona). La cantidad de agua de pulverización correspondía a 200 l/ha. Esto se llevó a cabo igualmente en otras variantes en las que el caldo de pulverización contenía, junto a Cato®, también diferentes adyuvantes. Para la reproducibilidad se trataron de igual manera por cada miembro de ensayo 3 macetas. La dosificación del plaguicida ascendió a 10 g/ha. Como adyuvante estándar comercial se añadió al tanque el trisiloxano BREAK-THRU® S240 de Evonik Golschmidt GmbH con 50 y 100 ml/ha. La dosificación de los

soforolípidos oscilaba entre 50-250 mL o g/ha, es decir, que la concentración de aplicación en el caldo de pulverización variaba de 0,025 a 0,1% en peso. Esto era lo pretendido con el fin de encontrar la concentración de aplicación óptima. En la Tabla 3 se muestran los resultados comparativos entre BREAK-THRU<sup>®</sup> S240 y el soforolípidos SLL a las mismas concentraciones. En este caso se observa que la dosificación debería oscilar entre 50-100 mL/ha y una concentración de los SLLs mayor que 50 g/ha no alcanza aumento del efecto alguno. Dado que no se disponía de experiencias en relación con una dosificación óptima del soforolípidos, se tomaron como base por lo tanto para otros ensayos con los preparados de soforolípidos y sus derivados 75 mL/ha o bien 75 g a. i. (sustancia activa)/ha (véanse las Tablas 5-7). Dado que la dosis se calcula siempre en base al contenido activo, en el caso de SLL-SLS se utiliza la mayoría de las veces 150 mL/ha, lo que corresponde a 75 mL o bien g/ha del SLLs. Por consiguiente, los diversos adyuvantes de preparados de soforolípidos son equiparables entre sí. Esta concentración de sustancia activa se alcanza en el caso de SLLF sólo en el caso de emplear 250 ml/ha del adyuvante. El efecto de los tratamientos se bonificó 14, 20 ó 30 días después de la aplicación con los métodos conocidos por el experto en la materia. En este caso, se compara la lesión de las plantas por parte del tratamiento con herbicidas con plantas no tratadas y se relaciona la eficacia del tratamiento de pulverización con las plantas no tratadas. La eficacia se determinó de cada una de las 3 macetas por miembros de ensayo. Se calculó el valor medio y se indicó como porcentaje de efecto en las tablas de resultados.

Tabla 3: Comparación del aumento del efecto de diferentes adyuvantes sobre fungicidas (14 días después de la aplicación)

Fungicida con 10 ml/ha	Código de adyuvante	Dosis de adyuvante / ha	Efecto (%)
Opus <sup>®</sup>	sin *	0	46%
Opus <sup>®</sup>	BREAK-Thru <sup>®</sup> S240 *	50 mL/ha	91%
Opus <sup>®</sup>	BREAK-Thru <sup>®</sup> S240 *	100 mL/ha	96%
Opus <sup>®</sup>	SLL	50 g/ha	99%
Opus <sup>®</sup>	SLL	100 g/ha	98%

\* Ensayo comparativo

Tabla 4: Comparación del aumento del efecto de diferentes adyuvantes sobre herbicidas (30 días después de la aplicación)

Herbicida con 10 g/ha	Código de agente humectante	Dosis de agente humectante / ha	Efecto (%)
Cato <sup>®</sup>	sin *	sin	53%
Cato <sup>®</sup>	BREAK-Thru <sup>®</sup> S240 *	50 mL/ha	70%
Cato <sup>®</sup>	BREAK-Thru <sup>®</sup> S240 *	100 mL/ha	80%
Cato <sup>®</sup>	SLL	50 g/ha	60%
Cato <sup>®</sup>	SLL	100 g/ha	73%

\* Ensayo comparativo

En las Tablas 5-7 se elige para el SLLF una dosificación que posibilita comparar, por una parte, la cantidad de adyuvante en relación con los otros soforolípidos (SLM o SLS) – en este caso se ha de entender la concentración de 125 ml/ha – y, por otra parte, también una concentración elevada de adyuvante a la que entonces, sin embargo, es equiparable la cantidad de sustancia activa de soforolípidos de 75 g/ha a. i. Esto significa que 250 ml/ha de SLLF se pueden comparar con 75 g/ha de SLM o bien 150 ml/ha del SLL-SLS que en este caso contiene asimismo 75 g/ha es a.i.

Tabla 5: Comparación de diferentes derivados de adyuvantes y mezclas en ensayos con fungicidas curativos (14 días después de la aplicación)

Fungicida	Código de adyuvante	Dosis de adyuvante / ha	Efecto (%)
-	BREAK-Thru <sup>®</sup> S240 §	50 mL/ha	2%
-	SLL-SLS	150 mL/ha (= 75 g/ha a.i. del SLL)	5%
-	SLLF	250 mL/ha (= 75 g/ha a. i. del SLL)	6%
10 mL/ha de Opus <sup>®</sup>	sin §	-	38%
10 mL/ha de Opus <sup>®</sup> ,	BREAK-THRU <sup>®</sup> § S240	50 mL/ha	69%
10 mL/ha de Opus <sup>®</sup>	SLM	75 g/ha	77%
10 mL/ha de Opus <sup>®</sup>	SLM	125 g/ha	67%
10 mL/ha de Opus <sup>®</sup>	SLS	75 g/ha	50%
10 mL/ha de Opus <sup>®</sup>	SLS	125 mL/ha	63%
Opus <sup>®</sup>	SLL-SLS	150 mL/ha (= 75 g/ha a. i. del SLL)	44%
10 mL/ha de Opus <sup>®</sup>	SLLF	67,5 mL/ha (= 18,7 g/ha a. i. del SLL)	45%
10 mL/ha de Opus <sup>®</sup>	SLLF	125 mL/ha (= 37,5 g/ha a. i. del SLL)	58%
10 mL/ha de Opus <sup>®</sup>	SLLF	250 mL/ha (= 75 g/ha a. i. del SLL)	93%

\* a. i. = ingrediente activo = contenido activo en sustancia activa

#### 5 § Ensayo Comparativo

En la Tabla 5 se puede observar que un aumento de la dosis del SLM no conlleva una eficacia incrementada. Esto se demostró ya en la Tabla 3. Con ello se pueden considerar equiparables la dosificación del BREAK-THRU<sup>®</sup> S240 (que está predeterminada en el caso de este producto comercial por la etiqueta de dosificación admitida) de 50 ml/ha y la de los sofrolípidos de 75 g/ha a. i.

#### 10 Tabla 6: Comparación de diferentes productos adyuvantes y mezclas en ensayos de fungicidas protectivos (10 días después de la aplicación)

Fungicida	Código de adyuvante	Dosis de adyuvante / ha	Efecto (%)
Sin	BREAK-Thru <sup>®</sup> S240 *	50 mL/ha	8%
Sin	SLL-SLS	150 mL/ha (= 75 g/ha a.i. del SLL)	9%
Sin	SLLF	250 mL/ha (= 75 g/ha a. i. del SLL)	7%
Azufre 250 g/ha	sin *	-	46%
Azufre 250 g/ha	BREAK-THRU <sup>®</sup> § S240 *	50 mL/ha	68%
Azufre 250 g/ha	SLM	75 g/ha	99%
Azufre 250 g/ha	SLM	125 g/ha	90%
Azufre 250 g/ha	SLS	75 g/ha	77%
Azufre 250 g/ha	SLS	125 mL/ha	77%
Azufre 250 g/ha	SLL-SLS	150 mL/ha (= 75 g/ha a. i. del SLL)	85%
Azufre 250 g/ha	SLL-SLS	250 mL/ha (= 75 g/ha a. i. del SLL)	65%
Azufre 250 g/ha	SLLF	67,5 mL/ha (= 18,7 g/ha a. i. del SLL)	64%
Azufre 250 g/ha	SLLF	125 mL/ha (= 37,5 g/ha a. i. del SLL)	75%
Azufre 250 g/ha	SLLF	250 mL/ha (= 75 g/ha a. i. del SLL)	91%

		del SLL)	
--	--	----------	--

\* Ensayo Comparativo

Tabla 7: Aumento del efecto de diferentes productos adyuvantes sobre herbicidas (20 días después de la aplicación)

Herbicida	Código de adyuvante	Dosis de adyuvante / ha	Efecto (%)
Sin	BREAK-Thru® S240 *	50 mL/ha	0%
Sin	SLL-SLS	150 mL/ha (= 75 g/ha a.i. del SLL)	0%
Sin	SLLF	250 mL/ha (= 75 h/ha a. i. del SLL)	0%
Cato® 10 g/ha	sin		73%
Cato® 10 g/ha	S240 *	50 mL/ha	91%
Cato® 10 g/ha	SLL-SLS	150 mL/ha (= 75 g/ha a.i. del SLL)	86%
Cato® 10 g/ha	SLLF	250 mL/ha (= 75 h/ha a. i. del SLL)	88%

\* Ensayo Comparativo

5 Conclusiones:

Los adyuvantes/aditivos examinados, especialmente soforolípidos solos o en combinación con ácido nonanoico como co-tensioactivo, mejoran en el caso de dosificaciones selectivas de manera significativa la eficacia de plaguicidas, especialmente fungicidas y herbicidas, especialmente cuando se compara su aplicación solos y con la adición de plaguicida (sinergismo). Si los adyuvantes/aditivos se examinan solos – es decir, casi como bioplaguicida, tal como se reivindica en el documento US 2005/0266036 – (Tablas 5-7), entonces, a las dosificaciones selectivas examinadas, no tienen efecto alguno para el control de enfermedades por hongos o para combatir o bien regular el crecimiento de plantas (véase la Tabla 5: SLL-SLS o SLLF solos mostraron sólo un efecto del 5% o bien 6% irrelevante que pudiera formarse en virtud de oscilaciones en la realización del ensayo). De ello se puede concluir que los soforolípidos, en la medida en que no se utilicen en combinación con plaguicidas no muestran efecto plaguicida. En virtud de los resultados enumerados, puede hablarse de efectos sinérgicos entre soforolípidos y plaguicidas, presentándose siempre un sinergismo cuando el efecto encontrado de la mezcla supera al de la suma de los efectos individuales. Este es el caso en las sustancias en que se basa la invención. Así, p. ej., véase la Tabla 6. El soforolípidos SLL-SLS solo proporcionó una eficacia de 9%, el plaguicida solo una de 46%, sin embargo la eficacia de la combinación ascendió, en virtud del sinergismo, a 85%. El sinergismo se calcula habitualmente según la fórmula de COLBY, véase Colby S. R. 1967. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide synergistic and antagonistic responses of herbicide combination, Weeds 15: 20-22. La fórmula de Colby describe el efecto a esperar: efecto esperado (%) = x + y, o, cuando la suma de los porcentajes de efectos es > 100%, según la fórmula:

$$\text{Efecto esperado (\%)} = X + Y - \frac{X \cdot Y}{100}$$

25 en donde X es el efecto (%) del plaguicida solo e Y es el efecto (%) del adyuvante solo.

Los soforolípidos provocaron aumentos de efecto de plaguicidas, en particular fungicidas que son equiparables a patrones comerciales (tales como BREAK-THRU® S240), o el patrón comercial, a menudo incluso pueden ser superiores a la misma dosificación (Tabla 3). Esto es sorprendente, dado que los soforolípidos no muestran un efecto super-extendedor como BREAK-THRU® S240 ni reducen fuertemente la tensión superficial.

30 La cantidad de uso de los soforolípidos o bien de sus derivados se encuentra en 10 – 3000 mL o gramos por hectárea, preferiblemente en 50-700 mL o g/ha. Esto corresponde a las cantidades de aplicación de adyuvantes usuales en el comercio, adquiribles en el mercado en agricultura.

Todos los derivados de soforolípidos son eficaces, pero algunos más que otros. Así, ésteres metílicos de soforolípidos (SLM) son más eficaces que soforolípidos hidrolizados con NaOH (SLS), tanto con plaguicidas de contacto (azufre) como también con plaguicidas de acción sistémica (epoxiconazol).

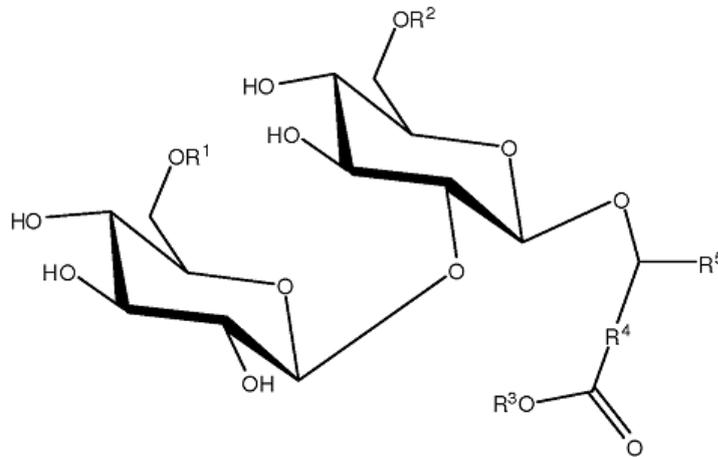
5 La eficacia de soforolípidos puede aumentarse en determinados casos, en los que en sistemas binarios sólo se puede mejorar de manera insuficiente el efecto del plaguicida mediante co-tensioactivos tales como, por ejemplo, ácido nonanoico de manera supra-proporcional. Así, el soforolípidos (SLL-SLS) a 75 g a. i./ha de contenido de principio activo despliega un aumento de la eficacia menor con el fungicida sistémico Opus<sup>®</sup> (Tabla 5) (44% de fungicida más adyuvante frente a 38% de fungicida solo), junto con ácido nonanoico (SLLF), pero al mismo contenido activo de soforolípidos, es decir, a una dosificación de 250 mL/ha determina un aumento del efecto hasta 10 93%. En un ensayo con herbicidas (Tabla 7), la combinación herbicida y soforolípidos/ácido nonanoico mostró valores equiparables con el soforolípidos solo.

Dado que estos soforolípidos y sus derivados no poseen efecto fungicida o herbicida propio a las dosificaciones aplicadas, se puede hablar de sinergias entre tensioactivos biológicos para el aumento del efecto de plaguicidas, y los soforolípidos propiamente dichos pueden designarse como adyuvantes de acuerdo con la definición del PSD. 15

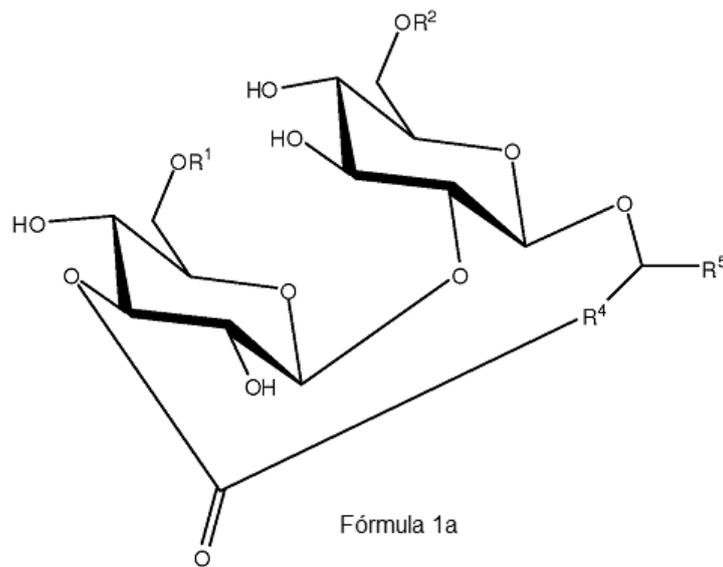
**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso de adyuvantes que contienen soforolípidos como componente de aditivos de mezcla de tanque, como aditivo de mezcla de tanque propiamente dicho o como aditivo de formulación, en cada caso con la función del adyuvante para la fitoprotección y/o el sector industrial de no cultivos, potenciando los adyuvantes que contienen soforolípidos el efecto de plaguicidas y/o aumentando la eficacia, con la condición de que el intervalo de dosificación del adyuvante se encuentre entre 10-3.000 ml/ha, con la condición de que como plaguicidas se utilicen fungicidas de contacto y/o herbicidas sistémicos elegidos del grupo de las sulfonilureas y/o fungicidas sistémicos elegidos de la clase de los triazoles, así como mezclas de estos.
2. Uso según la reivindicación 1, caracterizado por que se utilizan ésteres de soforolípidos.
- 10 3. Uso según al menos una de las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado por que el adyuvante y el plaguicida cooperan de forma sinérgica.
4. Uso según la reivindicación 3, caracterizado por que la combinación de adyuvante y plaguicida actúa de forma sinérgica en una relación cuantitativa de principio activo plaguicida a adyuvante de 1:120 a 30:1.
- 15 5. Uso según al menos una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que los adyuvantes se emplean como aditivos en formulaciones de plaguicidas tales como concentrados de suspensión, suspensiones en cápsulas, concentrados en emulsión, concentrados solubles en agua, dispersiones en aceite, suspoemulsiones, emulsiones en agua, granulados dispersables en agua o polvos, junto a otros aditivos, en cantidades de 1% en peso a 99% en peso.
- 20 6. Uso según la reivindicación 5, caracterizado por que los adyuvantes se emplean en cantidades de 1,5% en peso a 60% en peso.
7. Uso de soforolípidos según la reivindicación 1 en formulaciones fitoprotectoras, como emulsionante, agente dispersante, antiespumante o como agente humectante.
8. Composiciones que contienen
- a) soforolípidos y/o preparaciones de soforolípidos, obtenibles mediante preparación fermentativa y al menos un
- 25 b) principio activo plaguicida,
- con la condición de que el componente (a) no presente eficacia plaguicida propia alguna,
- y con la condición de que como plaguicidas se utilicen fungicidas de contacto y/o herbicidas sistémicos elegidos del grupo de las sulfonilureas y/o fungicidas sistémicos elegidos de la clase de los triazoles.
- 30 9. Composición según la reivindicación 8, caracterizada por que los soforolípidos o las preparaciones de soforolípidos están presentes en el adyuvante, referido a la masa seca, con una proporción de > 30% en peso en el adyuvante.
10. Composición según la reivindicación 8, caracterizada por que como sustrato hidrófobo de la preparación fermentativa se emplean hidrocarburos, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos y/o alcoholes grasos o sus mezclas.
- 35 11. Composición según al menos una de las reivindicaciones 8 a 10, caracterizada por que la proporción de soforolípidos en el adyuvante, de manera purificada o no purificada,
- i) se presenta como mezcla a base de lactona y forma de ácido con una proporción de ácido de 10 a 100% en peso, o
- 40 ii) se compone en una proporción de > 90% en peso de la forma lactona que puede solubilizarse mediante el ajuste del valor del pH a un valor entre 6 y 8, o
- iii) se presenta como éster metílico o etílico con una proporción de 1 a 100% en peso del éster respectivo.

12. Composición según al menos una de las reivindicaciones 8 a 11, caracterizada por que como sofrorolípidos se utilizan los de la fórmula 1 o 1a



Fórmula 1



Fórmula 1a

en donde

- 5  $R^1$  y  $R^2$ , independientemente uno de otro, son H o un grupo acetilo,  
 $R^3$  es H, un grupo metilo, etilo o hexilo,  
 $R^4$ , independientemente uno de otro, es un grupo orgánico saturado o insaturado, bivalente/de doble enlace, ramificado o no ramificado,  
 $R^5$  es H o un grupo metilo,
- 10 con la condición de que el número total de los átomos de carbono en los grupos  $R^4$  y  $R^5$  no rebase el número 29.

13. Procedimiento para la preparación de una forma lactona solubilizada de los sofrorolípidos, caracterizado por que la forma lactona se lleva a disolución mediante ácidos grasos presentes ajustando el valor del pH a 6-8, con la condición de que los ácidos grasos se elijan del grupo ácido nonanoico (ácido pelargónico), ácido decanoico (ácido

caprínico), ácido dodecanoico (ácido láurico), ácido tetradecanoico (ácido mirístico), ácido hexadecanoico (ácido palmítico), ácido octadecanoico (ácido esteárico), ácido octadecanoico (ácido oleico) o sus mezclas.

14. Composición que contiene la forma lactona solubilizada de un soforolípido, preparada según el procedimiento de la reivindicación 13.