(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 554 363**

(51) Int. Cl.:

A01N 43/80 (2006.01)
A01N 31/02 (2006.01)
A61L 2/18 (2006.01)
A01P 1/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2006** **E 06708596 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.09.2015** **EP 1860946**

(54) Título: **Conservante que contiene isotiazolona con mejor eficacia real**

(30) Prioridad:

16.03.2005 DE 102005012123

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.12.2015

(73) Titular/es:

AIR LIQUIDE SANTÉ (INTERNATIONAL) (100.0%)
10 RUE COGNACQ-JAY
75007 PARIS, FR

(72) Inventor/es:

BEILFUSS, WOLFGANG;
GRADTKE, RALF y
KOLDITZ, PETRA

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 554 363 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

Conservante que contiene isotiazolona con mejor eficacia real

La presente invención se refiere a un conservante que comprende a) una o varias isotiazolonas y b) uno o varios éteres monoalquílicos de glicerol, al uso de los conservantes para el acabado microbicida de los productos cosméticos y farmacéuticos, y a los correspondientes productos acabados desde el punto de vista microbicida, en concreto a las preparaciones cosméticas y farmacéuticas, los productos técnicos, los productos para el hogar, los concentrados y emulsiones lubricantes para refrigeración, y los conservantes para envasado.

Los conservantes se utilizan en muchos sistemas acuosos para controlar el crecimiento microbiano. Un campo importante de utilización son las formulaciones cosméticas, tales como las cremas, las lociones, los productos solares, los champúes, los geles de ducha y los aditivos de baño. Los conservantes también se utilizan en los productos de limpieza, de cuidado y de higiene para el hogar (p. ej., las preparaciones para lavarse las manos) y en muchos sectores técnicos.

Sin embargo, continúan siendo muy necesarias las composiciones mejoradas que tienen un amplio espectro de actividad contra las bacterias, las levaduras, los mohos y los virus, el desarrollo de su eficacia biocida (destrucción de microorganismos) en las condiciones ajustadas a la práctica, incluso a concentraciones de uso bajas y —lo que es particularmente importante para las preparaciones cosméticas y farmacéuticas— que tienen una buena compatibilidad fisiológica.

Se sabe que los éteres monoalquílicos de glicerol tienen efectos antimicrobianos. Por ejemplo, la patente alemana DE 42 40 674 A1 se refiere a los éteres monoalquílicos de glicerol desodorantes, en donde el grupo alquilo especificado es el grupo 2-etilhexilo. Los éteres monoalquílicos de glicerol se pueden utilizar en combinación con una o varias sustancias desodorantes más. Resulta particularmente idóneo el éter 1-(2-etilhexílico) de glicerol, que está disponible con el nombre comercial Sensiva SC 50® (Schülke & Mayr GmbH, Alemania). Sin embargo, los éteres monoalquílicos de glicerol, por sí solos, no tienen un amplio espectro de actividad contra las bacterias grampositivas ni las gramnegativas, ni hongos ni levaduras ni virus.

También se conocen, por ejemplo a partir de la patente europea EP 530 986 A2, que las isotiazolín-3-onas (isotiazolonas) son ingredientes bactericidas y fungicidas activos en los lubricantes de refrigeración para la metalistería.

La presente invención se basa en el objetivo de dar a conocer conservantes, específicamente para los productos cosméticos y farmacéuticos, que tienen un amplio espectro de actividad incluso cuando se usa a una concentración baja. Los conservantes por sí mismos se deben poder almacenar durante mucho tiempo.

Además, se ha encontrado que la combinación es eficaz desde el punto de vista microbicida incluso en ausencia de una mezcla de dos o más alcoholes aromáticos diferentes (b1, b2) elegidos de los grupos de i) ariloxialcanoles, ii) arilalcanoles y iii) éteres arílicos de oligoalcanol si los dos alcoholes aromáticos diferentes pertenecen a los diferentes grupos i), ii) y iii). En todas las realizaciones de la invención se excluye la presencia de i) ariloxialcanoles, ii) arilalcanoles y iii) éteres arílicos de oligoalcanol, más preferiblemente se excluye la presencia de alcoholes aromáticos.

También era sorprendente que la eficacia de los éteres monoalquílicos de glicerol, que se han usado hasta el momento principalmente por su efecto desodorante, y la eficacia de la isotiazolonas, que se han usado hasta el momento como conservantes para los lubricantes de refrigeración para la metalistería, se complementan entre sí de tal manera que la combinación tiene una eficacia microbicida amplia incluso a una concentración baja. Esta baja concentración tiene una buena compatibilidad fisiológica. Para la correspondiente eficacia de cada uno de los componentes, no sólo se tendrían que usar cantidades significativamente más grandes de los componentes, lo que conllevaría los correspondientes costes, sino que el uso de tales cantidades más grandes conllevaría también sus desventajas (tales como las dificultades durante la formulación y la incompatibilidad fisiológica de las cantidades relativamente grandes). Estas desventajas no aparecen con la combinación según la invención. Por ejemplo, la concentración máxima permitida de la metilisotiazolona en las preparaciones cosméticas es de 100 ppm, que en muchos casos conduce a productos finales muy costosos con una conservación inadecuada. Como resultado de la combinación con los éteres de glicerol, los productos que se conservan con como mucho con 100 ppm de metilisotiazolona están protegidos de manera fiable contra la descomposición microbiana.

Isotiazolona

El experto en la técnica conoce las isotiazolonas idóneas, por ejemplo, a partir de la patente europea EP 530 986 A2 antes mencionada. Las isotiazolonas utilizadas de acuerdo con la invención se eligen preferiblemente de 2-metilisotiazolona (metilisotiazolona), 5-cloro-2-metilisotiazolona, 2-n-octilisotiazolona, benzoisotiazolona, 4,5-dicloro-2-n-metilisotiazolona, 4,5-diclorooctilisotiazolona y n-butilbenzoisotiazolona, en donde se da preferencia a la

metilisotiazolona, la 4-cloro-2-metilisotiazolona, la 2-n-octilisotiazolona, la benzoisotiazolona y las mezclas de las mismas. Es particularmente preferida la metilisotiazolona.

Éteres monoalquílicos de glicerol

El experto en la técnica conoce los éteres monoalquílicos de glicerol idóneos, p. ej., a partir de la patente alemana DE 42 40 674 A1. El grupo alquilo del éter monoalquílico de glicerol es preferiblemente un grupo alquilo-(C_3-C_{18}) ramificado o sin ramificar, en donde el grupo alquilo puede estar sustituido por uno o varios grupos hidroxilo y/o alcoxi-(C_1-C_4) y/o la cadena de alquilo puede estar interrumpida por hasta 4 átomos de oxígeno. Se prefieren los éteres 1-monoalquílicos de glicerol.

Se utilizan, por ejemplo, éteres monoalquílicos de glicerol con un grupo alquilo que es un grupo hidrocarburo-(C_3-C_{18}) ramificado o sin ramificar, preferiblemente un grupo hidrocarburo-(C_6-C_{12}) ramificado o sin ramificar, preferiblemente un grupo octilo ramificado o sin ramificar y en particular un grupo 2-etilhexilo.

Los ejemplos de éteres monoalquílicos de glicerol utilizados de acuerdo con la invención son éteres monoalquílicos de glicerol sustituidos en la posición 1 o 2 (a saber, simétricos o asimétricos) mediante alquilo saturado o insaturado, ramificado o sin ramificar, tal como éter dodecílico de glicerol, éter decílico de glicerol, éter nonílico de glicerol, éter octílico de glicerol, éter hexílico de glicerol, éter propílico de glicerol, éter octadecílico de glicerol (alcohol batílico), éter hexadecílico de glicerol (alcohol quimílico), éter mentílico de glicerol y éter octadecenílico de glicerol (alcohol selaquílico). Se da preferencia al uso de éteres 1-monoalquílico de glicerol. Se da una preferencia muy particular al éter 1-(2-etilhexílico) de glicerol y al éter dodecílico de glicerol. En una realización general preferida de la invención a) la isotiazolona es la metilisotiazolona y b) el éter monoalquílico de glicerol es éter 1-(2-etilhexílico) de glicerol.

En una realización, la invención se refiere a un conservante que comprende la combinación y está en forma de un concentrado, en donde se excluye la presencia de una mezcla de dos o más alcoholes aromáticos diferentes (b1, b2) elegido de los grupos i) ariloxialcanoles, ii) arilalcanoles y iii) éteres arílicos de oligoalcanol si los dos alcoholes aromáticos diferentes pertenecen a grupos diferentes i), ii) y iii). Además de los componentes (a) y (b) de acuerdo con la invención, el conservante de acuerdo con la invención puede comprender otros componentes. Los otros componentes pueden ser otros ingredientes activos, aditivos funcionales o auxiliares sólidos, líquidos o gaseosos. Los ejemplos de otros ingredientes activos, aditivos funcionales y auxiliares son: complejantes, tales como EDTA, NTA, fosfonatos, derivados de glicina, Octaquest® (etilenodiaminodisuccinato de trisodio), amonios cuaternarios, tales como cloruro de benzalconio, cloruro de bencetionio, compuestos organohalógenos, tales como IPBC, DBDCB, bronopol y otros, solventes y solubilizantes, tales como agua, alcoholes, glicoles, éteres de glicol, polioles (p. ej., 1,2-pentanodiol, 1,2-hexanodiol, 1,2-octanodiol, glicerol, 1,2-propilenglicol, butilenglicol y otros), sales de metales, tales como sales de Cu, sales de Ag, sales de Zn y otras. Se da preferencia a utilizar otros aditivos sin organohalógenos. La combinación de las preparaciones de acuerdo con la invención con los otros componentes puede conducir a incrementos sinérgicos de la eficacia real.

Aquí se da preferencia a los concentrados que consisten esencialmente en los dos componentes a) y b), si es posible, si fuera necesario, para añadir una cantidad pequeña (por ejemplo, hasta el 20% en peso, preferiblemente del 0,5 al 10% en peso, en particular del 1 al 3% en peso, tal como, por ejemplo, el 2% en peso) de solventes y/o solubilizantes.

En el concentrado de acuerdo con la invención, la cantidad preferida del componente a) es del 0,1 al 30% en peso, preferiblemente del 1 al 20% en peso, más preferiblemente del 3 al 5% en peso, en particular del 5 al 10% en peso, tal como aproximadamente el 8% en peso. Además, en el concentrado de acuerdo con la invención, la cantidad preferida del componente b) es del 99,9 al 70% en peso, preferiblemente del 99 al 80% en peso, más preferiblemente del 96 al 85% en peso, en particular del 93 al 88% en peso, tal como, por ejemplo, el 90% en peso.

En una realización muy preferida, el conservante comprende aproximadamente el 8% en peso de la 2-metilisotiazolona y aproximadamente el 90% en peso del éter 1-(2-etilhexílico) de glicerol en aproximadamente el 2% en peso de solvente o diluyente (p. ej., agua).

En otra realización, el concentrado del conservante comprende del 0,1 al 30% en peso del componente a), del 0,1% al 30% en peso del componente b) y facultativamente otros componentes tales como solventes, p. ej., agua, alcoholes, glicoles, éteres de glicol o polioles.

Además, la invención se refiere al uso del conservante de acuerdo con la invención o de una combinación de componentes a) y b) para el acabado microbicida de los productos. Como alternativa, el uso de acuerdo con la invención se caracteriza en que en el producto acabado desde el punto de vista microbicida está excluida la presencia de una mezcla de dos o más alcoholes aromáticos diferentes (b1, b2) elegidos de los grupos de i) ariloxialcanoles, ii) arilalcanoles y iii) éteres arílicos de oligoalcanol si los los dos alcoholes aromáticos diferentes pertenecen a diferentes grupos i), ii) y iii).

La invención también se refiere a los productos (preferiblemente productos cosméticos y farmacéuticos) que comprenden la combinación de acuerdo con la invención con otros ingredientes además de los habituales. Debido a la compatibilidad fisiológica concreta, las combinaciones de acuerdo con la invención tienen un amplio campo de uso. Los conservantes y los productos pueden estar en forma de preparaciones transparentes y homogéneas, p. ej. acuosas, o en forma de preparaciones de baja viscosidad o elevada viscosidad, p. ej., geles. La combinación es eficaz a lo largo de un amplio intervalo de pH y se puede utilizar en medios de muy ácidos a muy alcalinos, preferiblemente en el intervalo de pH de 3 a 11, particularmente preferible de 5 a 9. Los conservantes pueden también estar en forma de dispersiones, preparaciones semisólidas, tales como pastas, o en forma de sólidos (p. ej., polvos, gránulos).

Los ejemplos de preparaciones que se denominan productos en esta memoria son:

1) productos dermatológicos y cosméticos, p. ej., para la aplicación tópica o como productos que se dejan aplicados o que hay que enjuagar, tales como preparaciones de protección solar, toallitas húmedas, preparaciones poliméricas con propiedades formadoras de películas, pastas de dientes, productos higiénicos, maquillaje, barras de labios, pintauñas,

2) preparaciones farmacéuticas, tales como soluciones isotónicas, medicamentos y vacunas, y

3) preparaciones desinfectantes, tales como desodorantes, desodorantes para pies, desinfectantes alcohólicos en pulverizador y composiciones para la preparación de instrumentos manuales.

4) Productos del hogar, tales como limpiadores, detergentes, suavizantes de ropa, detergentes lavavajillas y otros, productos técnicos, tales como pinturas, dispersiones, adherentes, emulsiones y otros.

Los productos acabados desde el punto de vista microbicida de acuerdo con la invención son, en particular, preparaciones farmacéuticas y cosméticas, productos técnicos, productos del hogar, concentrados y emulsiones lubricantes para refrigeración, y conservantes para envasado.

Las superficies que se pueden tratar con los productos estabilizados de acuerdo con la invención son

i) materiales biológicos, tales como piel, mucosa, heridas, plantas, partes de plantas (superficies animadas), y

ii) materiales que entran en contacto con la piel, mucosa o heridas, tales como las lentes de contacto o protectores de heridas, p. ej., superficies que entran en contacto con los productos estabilizados de acuerdo con la invención, tales como superficies animadas e inanimadas y otros (superficies duras).

La presente invención ofrece, entre otras, las siguientes ventajas:

- Las combinaciones se formulan a partir de componentes rentables.
- Las combinaciones tienen pH neutro, no son muy agresivas (poco corrosivas) y corresponden a un material de bueno a suficientemente compatible.
- Las combinaciones y los conservantes huelen poco, emiten poco, son inertes, y de compatibilidad entre buena a adecuada con otros aditivos o auxiliares, aceptables desde el punto de vista toxicológico y ecotoxicológico, fisiológicamente aceptables (una compatibilidad cutánea de buena a adecuada), y se retiran entre fácil y adecuadamente por enjuague.
- Las combinaciones forman poca espuma, y son estables a la oxidación y al pH.

A esto se le añade el hecho de que, de acuerdo con la invención, se puede conseguir de forma sorprendente la alta eficacia deseada, lo que no es físicamente posible (debido a la limitada solubilidad de estas sustancias en el agua) ni permisible (debido a las cantidades máximas prescritas de (metil)isotiazolona) con las combinaciones que no son de la presente invención de a) isotiazolona y b) éteres monoalquílicos de glicerol. Finalmente, los componentes también tienen un efecto sinérgico y la concentración final elegida de la combinación de acuerdo con la invención en los productos a conservar (acabados desde el punto de vista microbicida) puede ser comparativamente baja a pesar de la elevada eficacia requerida.

Así pues, las combinaciones de acuerdo con la invención solucionan los problemas mencionados más arriba en la técnica anterior y tienen

buena estabilidad gracias a la poca precipitación del ingrediente activo durante el almacenamiento,

insensibilidad a los valores de pH bajos y altos, a las temperaturas bajas y altas (tienen estabilidad a temperatura baja, termoestabilidad) y a los oxidantes y a los reductores, y

buena compatibilidad con los ingredientes habituales de los productos cosméticos y farmacéuticos, con lo que así representan una buena alternativa a otros conservantes «suaves», tales como los parabenos.

Las combinaciones de acuerdo con la invención tienen una amplia eficacia contra bacterias, levaduras, hongos y virus, y también contra «gérmenes problemáticos», tales como los microorganismos causantes del mal olor, los microorganismos que «ocasionan problemas de piel o pelo (caspa, acné, manchas en la piel)», tales como *Malassezia furfur*, *Propionibacterium acnes* y otros.

Las combinaciones preferidas de acuerdo con la invención también son líquidas a temperaturas bajas, con lo que se pueden manipular y medir con facilidad. Preferiblemente, se utilizan los antioxidantes descritos en la patente alemana DE 100 28 638. En particular, la adición del tocoferol y sus derivados (tales como la vitamina E) como antioxidante suprime la desestabilización de los productos que contienen éteres monalquílicos de glicerol (tal como el éter 1-(2-etilhexílico) de glicerol.

En el producto acabado desde el punto de vista micobicida, la cantidad total de los componentes a) y b) en la combinación de acuerdo con la invención es preferiblemente de 100 a 10 000 ppm (del 0,01 al 1% en peso), preferiblemente de 500 a 5 000 ppm, tal como aproximadamente 1 000 ppm. En la presente invención, las cantidades preferidas de los componentes son

a) de 8 a 800 ppm, más preferiblemente de 40 a 400 ppm o de 50 a 160 ppm, tal como aproximadamente 80 ppm, y/o

b) de 90 a 9 000 ppm, más preferiblemente de 450 a 4 500 ppm, en particular de 630 a 1 800 ppm, tal como aproximadamente 900 ppm.

Las ventajas de la presente invención son particularmente evidentes a partir de los ejemplos que vienen a continuación.

Ejemplos

Materiales utilizados:

Neolone = Neolone® 950, una solución con una fuerza del 9,5% de metilisotiazolona en agua;

Sensiva = Sensiva® SC 50, éter 1-(2-etilhexílico) de glicerol;

Carbopol = Carbopol® ETD 2020, copolímero de ácido poliacrílico entrecruzado.

Se utilizaron las siguientes formulaciones estándares A) y B):

A) Gel estándar

Glicerol, 85%	120,0 g
Carbopol	3,2 g
Agua desmineralizada	674,4 g
NaOH, 45%	2,4 g

El Carbopol se dispersa en glicerol. En lotes, se añaden a éste el agua y a continuación el NaOH. El gel se vuelve denso inmediatamente.

B) Formulación del humectante 6940

De acuerdo con el procedimiento de formulación Seppic, sin conservante.

Método para determinar el efecto conservador de los conservantes químicos en las formulaciones cosméticas

Principio

Mediante el método descrito, se analiza la eficacia de los conservantes químicos con respecto a la conservación de las formulaciones cosméticas en el envase. Con este propósito, en diferentes lotes experimentales, los conservantes a investigar se añaden a las muestras sin conservar a distintas concentraciones. Se consigue una carga de gérmenes continua mediante la inoculación periódica de los lotes experimentales. En paralelo a la inoculación, se siembran estrías inmediatamente de cada uno de los lotes. Se realiza la valoración de las estrías por referencia al crecimiento microbiano. Cuanto más tiempo transcurra antes de la primera aparición de crecimiento microbiano, más

eficaz será el conservante.

Soluciones y medios nutrientes

CSA (harina de soja, peptona, caseína, agar) Oxoid CM 131

SA (agar de Sabouraud) Oxoid CM 41

Solución estéril de NaCl al 0,85% (p/v)

Gérmenes problema

Bacterias	
Kocuria rhizophila	ATCC 9341
Staphylococcus aureus	ATCC 6538
Enterobacter gergoviae	ATCC 33028
Escherichia coli	ATCC 11229
Klebsiella pneumoniae	ATCC 4352
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 15442
Pseudomonas fluorescens	ATCC 17397
Pseudomonas putida	ATCC 12633
Levaduras	
Candida albicans	ATCC 10231
Hongos	
Aspergillus niger	ATCC 6275
Penicillium funiculosum	ATCC 36839

Cultivo de los gérmenes problema

Las bacterias se siembran en estrías de manera uniforme por toda la superficie de medio nutriente CS mediante una varilla de vidrio estéril y se incuba durante 24 h a 30 ± 1 ºC. La levadura *C. albicans* se siembra en estrías con una varilla de vidrio estéril en medio nutriente Sabouraud y se incuba durante 48 h a 30 ± 1 ºC.

Los cultivos de laboratorio de las bacterias y de la levadura *C. albicans* se reemplazan cada 4 semanas.

Los hongos *A. niger* y *P. funiculosum* se siembran en estrías con una varilla de vidrio estéril en una (*A. niger*) o dos (*P. funiculosum*) placas de Sabouraud (que comprenden 100 µg/ml de gentamicina y 50 µg/ml de cloranfenicol) y se incubaron durante 7 a 14 días a 25 ± 2 ºC.

Los cultivos de laboratorio de los hongos *A. niger* y *P. funiculosum* se transfieren cada 3 semanas.

Los cultivos de las cepas se reemplazan cada 12 meses.

Preparación de las suspensiones fúngicas de partida

Para preparar la suspensión mixta, primero se preparan las suspensiones de partida de *A. niger* y *P. funiculosum*:

Aspergillus niger:

Una placa de Sabouraud de 7 a 14 días se enjuaga con 10 ml (2 × 5 ml) de la solución estéril de NaCl al 0,85% (p/v). La suspensión del hongo retirada por el enjuague se vierte a través de un filtro con lana de vidrio (estéril) en una probeta graduada y estéril de 100 ml, y se completa hasta 100 ml con la solución estéril de NaCl al 0,85%. La suspensión de *A. niger* obtenida de este modo se transfiere entonces a un frasco de vidrio cerrado y estéril que contiene perlas de vidrio estériles.

Título de la suspensión de *A. niger*: ~ 10^7 UFC/ml.

Penicillium funiculosum:

Dos placas de Sabouraud de 7 a 14 días se enjuagan con 10 ml (2 × 5 ml) de la solución estéril de NaCl al 0,85% (p/v). Las suspensiones del hongo retiradas por el enjuague se vierten a través de un filtro que contiene lana de vidrio (estéril) en una probeta graduada y estéril de 100 ml, y se completa hasta 100 ml con la solución estéril de NaCl al 0,85%. La suspensión de *P. funiculosum* obtenida de este modo se transfiere entonces a un frasco de vidrio cerrado y estéril que contiene perlas de vidrio estériles.

Título de la suspensión de *P. funiculosum*: ~ 10^{6-7} UFC/ml.

Las suspensiones de los hongos preparadas como se describe más arriba se conservan durante 3 semanas en un refrigerador a 5 ºC ± 2 ºC y se puede utilizar dentro de este intervalo de tiempo. Antes de ser usada para la preparación de la suspensión mixta, las suspensiones de los hongos se tienen que agitar brevemente para obtener una suspensión homogénea.

El título de las suspensiones de partida de los hongos se comprueba al menos cada tres meses.

Preparación de las suspensiones mixtas

Para preparar las suspensiones mixtas, las bacterias, una placa por cepa, se retiran por enjuague con 5 ml de la solución estéril de NaCl al 0,85% por placa de CSA, se filtra (estéril) a través de un embudo de vidrio estéril que contiene lana de vidrio y se completa hasta 150 ml con la solución de NaCl al 0,85%. Esta suspensión de bacterias tiene un título de ~ 10^{10} UFC/ml.

La levadura *C. albicans* se retira por enjuague igualmente de una placa de Sabouraud con 10 ml de la solución estéril de NaCl al 0,85%, y se filtra (estéril) a través de un embudo de vidrio estéril que contiene lana de vidrio. A esta suspensión se le añaden 10 ml de cada una de las suspensiones de hongos (*A. niger* y *P. funiculosum*) preparadas tal y como se describe más arriba. Se le añaden 3 ml de la suspensión de bacterias preparadas tal y como se describe más arriba (título ~10^{10} UFC/ml). La suspensión mixta resultante se completa hasta 150 ml con una solución estéril de NaCl al 0,85%.

El título de las bacterias de la suspensión mixta es de ~10^{8} UFC/ml. El título para *C. albincans* en la suspensión mixta es de ~10^{8} UFC/ml. El título para *A. niger* y *P. funiculosum* en la suspensión mixta es de ~ 10^{6} UFC/ml.

El título en la suspensión mixta se comprueba al menos cada tres meses.

Puesta en práctica

En lotes separados se mezclan en cada caso 25 o 50 g del material a conservar con diferentes concentraciones del conservante a estudiar. El control de crecimiento utilizado en cada caso es una muestra del producto sin conservar.

Los lotes problema se siembran en estrías en el medio de nutrientes CS y Sabouraud una vez a la semana, en donde la primera siembra en estrías se realiza directamente antes de la reinoculación; estos lotes se inoculan a continuación con la suspensión mixta (en el caso de las muestras de 25 g con 0,1 ml, en el caso de las muestras de 50 g con 0,2 ml). Las muestras inoculadas se incuban a 25 ºC ± 2 ºC durante todo el periodo de experimentación.

El crecimiento microbiano de las estrías incubadas a 25 ºC ± 2 ºC se evalúa al cabo de 3 a 4 días. Para estar seguros, se observan las estrías negativas durante 2 días más y se vuelven a valorar. El efecto conservante de las concentraciones de cada producto se valora con un método semicuantitativo por medio del crecimiento de cada una de las estrías de acuerdo con la graduación de «–» a «+++» pasando por «+». La prueba se realiza normalmente durante 6 ciclos de inoculación o se termina después del crecimiento masivo (+++) en dos ocasiones.

Si incluso después de cinco ciclos de inoculación sucesivos no se puede detectar el crecimiento ni en las muestras conservadas ni en la muestra del producto sin conservar (blanco de control), entonces la inoculación en el sexto ciclo de inoculación se realiza con cinco veces la cantidad de la suspensión mixta (0,5 ml en el caso de las muestras de 25 g, 1 ml en el caso de las muestras de 50 g).

Valoración de los resultados

Se considera que un conservante es bueno si existe en las condiciones de laboratorio dadas anteriormente durante un periodo de 6 semanas sin que haya gérmenes que infecten los lotes de las muestras, a saber, que incluso después de la sexta inoculación no se puede detectar ningún crecimiento microbiano.

Leyenda:

– = ningún crecimiento

+ = crecimiento leve

++ = crecimiento moderado

+++ = crecimiento masivo

L = levaduras

H = hongos

B = bacterias

Ejemplo 1

Eficacia antimicrobiana en la formulación 6940

Conservante	4 días	10 días	17 días	25 días
Ninguno	–	+++ (B, L, H)	+++ (B, L, H)	
Neolone 0,05% 0,1%	 – –	 ++ (B, L) + (L)	 +++ (B, L) + (L)	 +++ (L)
Sensiva 0,1% 0,2% 0,3%	 – – –	 +++ (B, L, H) +++ (B, L, H) +++ (B, L, H)	 +++ (B, L, H) +++ (B, L, H) +++ (B, L, H)	
Neolone (0,1%) + Sensiva (0,1%)	–	–	–	–

Ejemplo 2

Eficacia antimicrobiana en el gel estándar

Conservante	3 días	10 días	17 días	24 días	31 días	38 días	45 días
Ninguno	–	++ (H) +++ (B)	++ (H) +++ (B)				
Neolone, 0,1%		+++ (H)	+++ (B, H)				
Sensiva, 0,1%		+++ (H)	+++ (B, H)				
Neolone, 0,1% + Sensiva, 0,1%	–	–	–	–	–	–	–
Neolone, 0,05% + Sensiva, 0,1%	–	–	–	–	–	–	+ (B)

Resultado: los resultados arriba mencionados para los ejemplos 1 y 2 demuestran que las isotiazolonas y los éteres de glicerol complementan su eficacia sorprendentemente los unos a los otros.

REIVINDICACIONES

1. Conservante que comprende

a) una o varias isotiazolonas y

b) uno o varios éteres monoalquílicos de glicerol,

en donde está excluida la presencia de una mezcla de dos o más alcoholes aromáticos diferentes (b1, b2) elegidos de los grupos de i) ariloxialcanoles, ii) arilalcanoles y iii) éteres arílicos de oligoalcanol si los dos alcoholes aromáticos diferentes pertenecen a diferentes grupos i), ii) y iii).

2. Conservante de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que las isotiazolonas elegidas de 2-metilisotiazolona, 5-cloro-2-metilisotiazolona, 2-n-octilisotiazolona, benzoisotiazolona, 4,5-dicloro-2-n-metilisotiazolona, 4,5-diclorooctilisotiazolona y n-butilbenzoisotiazolona, en donde se prefieren la 2-metilisotiazolona, la 4-cloro-2-metilisotiazolona, la 2-n-octilisotiazolona, la benzoisotiazolona y las mezclas de las mismas, y se prefiere en particular la 2-metilisotiazolona.

3. Conservante de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, caracterizado por que el éter monoalquílico de glicerol es un éter 1-monoalquílico de glicerol, en donde el grupo alquilo es preferiblemente un grupo alquilo(C_3-C_{18}) ramificado o sin ramificar, y en donde el grupo alquilo puede estar sustituido por uno o varios grupos hidroxilo y/o alcoxi(C_1-C_4), y/o la cadena de alquilo puede estar interrumpida por hasta 4 átomos de oxígeno.

4. Conservante de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el grupo alquilo del éter monoalquílico de glicerol es un grupo hidrocarburo(C_3-C_{18}) ramificado o sin ramificar, preferiblemente un grupo hidrocarburo(C_6-C_{12}) ramificado o sin ramificar, más preferiblemente un grupo octilo ramificado o sin ramificar, en particular un grupo 2-etilhexilo.

5. Conservante de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por estar en forma de un concentrado y la cantidad del componente a) es del 0,1 al 30% en peso, preferiblemente del 1 al 20% en peso, más preferiblemente del 3 al 5% en peso, en particular del 5 al 10% en peso, tal como aproximadamente el 8% en peso.

6. Conservante de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por estar en forma de un concentrado y la cantidad del componente b) es del 99,9 al 70% en peso, preferiblemente del 99 al 80% en peso, más preferiblemente del 96 al 85% en peso, en particular del 93 al 88% en peso, tal como aproximadamente el 90% en peso.

7. Conservante de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, que además comprende c) uno o varios ingredientes activos y/o aditivos funcionales y/o auxiliares adicionales.

8. Utilización de una combinación de

a) una o varias isotiazolonas y

b) uno o varios éteres monoalquílicos de glicerol

para el acabado microbicida de los productos, en donde en el producto está excluida la presencia de una mezcla de dos o más alcoholes aromáticos diferentes (b1, b2) elegidos de los grupos de i) ariloxialcanoles, ii) arilalcanoles y iii) éteres arílicos de oligoalcanol si los dos alcoholes aromáticos diferentes pertenecen a diferentes grupos i), ii) y iii).

9. Producto acabado desde el punto de vista microbicida, que comprende los ingredientes habituales y

a) una o varias isotiazolonas y

b) uno o varios éteres monoalquílicos de glicerol,

en donde en el producto está excluida la presencia de una mezcla de dos o más alcoholes aromáticos diferentes (b1, b2) elegidos de los grupos de i) ariloxialcanoles, ii) arilalcanoles y iii) éteres arílicos de oligoalcanol si los dos alcoholes aromáticos diferentes pertenecen a diferentes grupos i), ii) y iii).

10. Producto de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado por estar en forma de una formulación cosmética o farmacéutica y comprender a) aproximadamente el 0,008% en peso de 2-metilisotiazolona y b) el 0,09% en peso de éter 1-(2-etilhexílico) de glicerol.