

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 575 164**

51 Int. Cl.:

A01G 3/00 (2006.01)

C09K 3/18 (2006.01)

A01G 13/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.02.2009 E 09711399 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.04.2016 EP 2243350**

54 Título: **Composición acuosa crioprotectora y procedimientos para su aplicación**

30 Prioridad:

14.02.2008 ES 200800405

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

24.06.2016

73 Titular/es:

**CRYOPROTECTORS & BIOTECHNOLOGIES, S.L.
(100.0%)
C/ Alameda de Urquijo 9 - 4º D
48008 Bilbao, Bizkaia, ES**

72 Inventor/es:

**MORATIEL YUGUEROS, RUBÉN;
DURÁN ALTISENT, JOSÉ MARÍA y
SOLER PERALES, JOSÉ**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 575 164 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

Composición acuosa crioprotectora y procedimientos para su aplicación

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere al campo de los tratamientos crioprotectores para la eliminación de hielo sobre las especies vegetales, específicamente, la invención se refiere a composiciones crioprotectoras útiles para la eliminación de la escarcha en céspedes, especialmente céspedes deportivos.

Antecedentes de la invención

Es un hecho de que las temperaturas por debajo de 0 °C producen periódicamente importantes daños, ya sean temporales o permanentes, en un gran número de especies vegetales.

10 La formación de escarcha asociada a las bajas temperaturas puede provocar daños en ciertos vegetales. En las especies cespitosas, la escarcha no suele provocar daños directos a las plantas, aunque si esta se prolonga durante mucho tiempo sí es posible que las especies vegetales presenten algún síntoma o incluso mueran.

15 Sin embargo, sí es cierto que mientras la escarcha se encuentra sobre la superficie del césped no es recomendable transitar por él, ya que las pisadas pueden provocar un daño irreversible sobre el vegetal debido a los cortes y heridas causadas por la fricción de los cristales de hielo en el tejido vegetal. Además, con independencia del daño descrito anteriormente, un césped que se encuentre debajo de la escarcha hace que el deporte que se pretende practicar sobre él no se pueda realizar correctamente.

La formación de la escarcha depende de muchos factores aunque los más destacables son la baja temperatura y la humedad relativa del aire. Esto provoca que la escarcha sea un fenómeno complejo y de difícil predicción.

20 Normalmente, la escarcha de los céspedes deportivos se elimina de forma natural, es decir, esperando a que la temperatura ambiente se incremente gradualmente según avance la mañana y el sol caliente el césped.

25 No obstante, esto puede durar muchas horas o incluso toda la mañana, lo que hace imposible llevar a cabo muchas de las actividades deportivas realizadas sobre esta superficie o hace que se realicen en horarios muy reducidos y no deseados. Este problema es especialmente importante en los campos de golf ya que jugar 18 hoyos lleva varias horas con lo que es bastante habitual empezar a jugar a horas tempranas de la mañana cuando la escarcha tiende a estar presente. Además, la superficie de césped de un campo de golf es muy amplia y hasta que los responsables del campo de golf no garantizan que toda la superficie del campo está completamente descongelada no se puede abrir al público, lo que supone en ocasiones importantes pérdidas económicas para los clubs de golf.

30 En algunos casos se puede tratar la superficie cespitosa con un agente humectante es decir, un compuesto que reduce la tensión superficial del agua (tensioactivo) permitiendo su drenaje y evacuación en las zonas donde se acumula el agua con la finalidad de no acumular agua sobre las mismas y evitar en la medida de lo posible la formación de parte de la escarcha. Estos tratamientos no suelen ser normales y se utilizan de forma indirecta ya que su aplicación no está dirigida a evitar de la aparición de escarcha. Además, no proporcionan resultados homogéneos en el césped, lo que da como resultado la coexistencia de zonas congeladas y no congeladas. Esto, por tanto, no soluciona el problema en los campos de golf.

35 Por tanto es necesario desarrollar composiciones crioprotectoras capaces de eliminar la escarcha en céspedes de una manera rápida y homogénea. Asimismo, es importante que la composición no sea dañina o fitotóxica y no afecte al ciclo vital de la planta.

40 Algunas composiciones crioprotectoras de plantas ya han sido descritas en el estado de la técnica, aunque ninguna de ellas esté específicamente destinada al cuidado y eliminación de escarcha de céspedes deportivos.

Por ejemplo, el documento US 5124061 describe un procedimiento para aumentar la resistencia de las plantas al daño por condiciones de congelación que comprende aplicar una composición acuosa de una sal de colina con un ácido monocarboxílico o policarboxílico. Dicha composición puede contener además glicerina, propilenglicol y tensioactivos a base de condensados de óxido de etileno y óxido de propileno.

45 La patente US 5252118 se refiere a un procedimiento de producción de un crioprotector para plantas a base de pectinas despolimerizadas en presencia de ácido fosfórico como una base de dicho crioprotector que incluye además una solución nutriente a base de sales de sodio, potasio, hierro, magnesio, manganeso, zinc, cobre y bórax.

50 La patente US 4735737 se refiere también al uso de pectinas, específicamente, al uso de una espuma protectora formada por tres partes de clara de huevo y una de pectina extraída de manzanas para aplicaciones a escala reducida, tales como en jardinería.

La patente US 4618442, por su parte, proporciona una composición de tensioactivos no iónicos a base de óxido de etileno y óxido de propileno combinados con urea para la crioprotección.

La patente US 5133891 describe un producto a base de tris-[O-etilfosfonato] de aluminio que se emplea para atacar las bacterias que inducen la formación de cristales de hielo, mientras que en la patente US 4161084 la protección de las plantas se consigue aplicando una familia de bacterias que actúan de forma antagonica a las que inducen la formación de hielo, manteniendo un equilibrio entre ambas.

- 5 La patente US 5223015 utiliza como sustancias crioprotectoras el alcohol tetrahidrofurfurílico y la tetrahidrofurfurilamina, solos o en combinación.

El documento US 5653054 divulga una composición acuosa para evitar escarcha en plantas basada en alcoholes y en un agente espesante.

- 10 El documento US 6040272 divulga una composición herbicida que contiene tensioactivos y uno o más ésteres de glicol.

El documento US 4954279 describe una composición deshelante y antihielo aerotransportada basada en el uso de glicoles como el principal componente de la misma.

- 15 La presente invención presenta una composición crioprotectora alternativa a las ya citadas que tiene grandes ventajas con respecto a las composiciones anteriores en cuanto a la reducción de la escarcha en plantas. La composición es fácilmente dispersable por pulverización por lo que se puede usar para tratar grandes superficies de césped. La composición de la invención está especialmente adaptada para la eliminación de la escarcha en céspedes deportivos y sirve tanto para eliminar la escarcha como para evitar la aparición de la misma.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra los ensayos para determinar la composición más adecuada para la eliminación de escarcha.

- 20 La Figura 2 representa los ensayos de fitotoxicidad llevados a cabo para determinar la concentración adecuada para la aplicación de la composición crioprotectora.

La Figura 3 representa los ensayos de fitotoxicidad para determinar las dosis de aplicación necesarias para evitar la fitotoxicidad.

La Figura 4 representa el tiempo de actuación de la composición a diferentes dosis.

- 25 **Descripción de la invención**

Un primer aspecto de la invención se refiere a una composición acuosa crioprotectora que comprende dos o más alcoholes y al menos un compuesto tensioactivo.

En el contexto de la invención, se entiende por crioprotector aquel compuesto o composición que, aplicado por medio de una pulverización, es capaz bien de eliminar el hielo ya formado o bien de evitar su formación.

- 30 En una realización particular de la invención la composición acuosa crioprotectora de la invención comprende:

- (i) entre 20-99 % (p/p) de alcoholes
- (ii) entre 0,001-0,1 % (p/p) de tensioactivos.

En una realización preferida de la invención, dicha composición acuosa crioprotectora comprende entre:

- (i) 98 % (p/p) de alcoholes
- 35 (ii) 0,01 % (p/p) de tensioactivos.

Aunque la composición crioprotectora debe diluirse para su aplicación como se explicará más adelante se prefiere que esté en forma concentrada por motivos de distribución y de transporte.

- 40 En el contexto de la invención el término genérico "alcohol" se refiere a compuestos químicos con uno o más grupos hidroxilo y con un número de carbonos entre 1 y 6 tal como, por ejemplo, compuestos de cadena corta con un grupo hidroxilo como el metanol, etanol, propanol o butanol o con dos o tres grupos hidroxilo tales como el 1,2-propanodiol o la glicerina.

- 45 En una realización preferida de la invención, se utiliza una combinación de etanol con otros alcoholes de cadena corta como metanol, propanol, butanol o 1,2-propanodiol o glicerina. Es especialmente preferida la combinación de etanol con glicerina o mezclas de etanol con otros alcoholes de cadena corta como metanol, propanol, butanol o 1,2-propanodiol y con glicerina.

Los alcoholes de la composición crioprotectora de la invención son capaces de combinarse con las moléculas de agua de la escarcha y de bajar su punto de congelación, provocando la fusión del hielo. Los alcoholes de la

composición crioprotectora de la invención actúan directamente sobre el hielo depositado en la superficie del césped y no dañan ni la parte aérea de la planta ni el sistema radicular ya que no se acumulan en el suelo.

5 Por otro lado, si la composición crioprotectora es pulverizada antes de producirse la escarcha puede evitarse la formación de la misma gracias a que los alcoholes se mantienen en cierta medida adheridos a las cutículas vegetales por un tiempo tras la pulverización. Este efecto de adhesión se favorece principalmente gracias a la glicerina porque para esta aplicación, es decir, para evitar la aparición de escarcha es preferible que uno de los alcoholes presentes en la composición sea glicerina. La composición proporciona protección contra condiciones de congelación por lo que la composición puede ser pulverizada con cierta antelación a la aparición de la escarcha.

10 Otro de los elementos de la composición son los tensioactivos. Si la composición se pulveriza antes de la formación de la escarcha, los tensioactivos favorecen que el agua en estado líquido no se acumule en la superficie de las plantas ayudando por tanto a evitar la aparición de escarcha. Si la composición crioprotectora se pulveriza cuando ya se ha formado la escarcha, los tensioactivos favorecen que el agua que se está licuando por acción de los alcoholes se escurra de la superficie de las plantas a medida que se va descongelando, lo que sirve para acelerar el proceso de descongelación.

15 Los tensioactivos aplicables en la composición crioprotectora de la invención se seleccionan entre un grupo muy heterogéneo tal como por ejemplo alcoholes grasos oxietilenados y oxipropilenados, ésteres de sorbitol oxietilenados, sulfonatos de alquilarilo de sodio, amonio y etanolaminas, ácidos grasos oxietilenados, poliglicoles etoxilados y propoxilados, aquilaminas etoxiladas y propoxiladas, dioctilsulfosuccinato de sodio y poliéteres.

20 En una realización preferida se utiliza como agente tensioactivo el poliéter de trisiloxano. Este tensioactivo unido a los alcoholes muestra un efecto sinérgico que potencia el efecto individual de cada uno, obteniéndose una composición eficaz para la eliminación de la escarcha.

25 Además de los elementos ya mencionados, la composición acuosa crioprotectora puede comprender también compuestos odorantes y colorantes. Los primeros tienen la función de proporcionar un olor agradable a la composición y los segundos de proporcionar un color a la composición que permita no solo calibrar el grado de dilución de la misma tras diluirla en agua para su aplicación, sino también distinguir que zonas han sido rociadas y que zonas no.

30 La composición crioprotectora de la invención posee varias ventajas en cuanto a su aplicación a céspedes ya que se ha comprobado que es efectiva en eliminar la escarcha en un tiempo que, dependiendo de la cantidad de escarcha, la intensidad de las condiciones de congelación y la temperatura ambiente puede fluctuar entre 15 min. y 1 hora desde la pulverización. Dado que se utilizan preferiblemente alcoholes de cadena corta, estos no se acumulan en el suelo ya que mayoritariamente se volatilizan tras hacer efecto, lo que también los hace no tóxicos para las plantas a las dosis recomendadas.

Además, la solución crioprotectora de la invención garantiza que los resultados sean homogéneos en toda la superficie del campo, ya sea en una zona de sombra o en una zona soleada.

35 Otro aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de eliminación de la escarcha de plantas que comprende dispersar la composición crioprotectora anteriormente descrita en forma de solución diluida con el 70-90 % de agua, preferiblemente el 80 %, sobre las plantas con escarcha.

40 En otras palabras, partiendo de la composición concentrada que, como se ha mencionado anteriormente, tiene una concentración de alcoholes entre el 20-99 %, preferiblemente el 98 %, se debe diluir lo necesario en agua hasta obtener una concentración de alcoholes de aproximadamente entre el 10 y el 30 %, preferiblemente el 20 %. Según estos parámetros de dilución, la composición crioprotectora de la invención muestra una alta capacidad para eliminar la escarcha no teniendo además efectos fitotóxicos sobre el césped.

45 Por otro lado, la composición de la invención se puede usar también en un procedimiento para evitar la aparición de escarcha en plantas que comprende pulverizar la composición crioprotectora de la invención en forma diluida con el 70-90 % de agua, preferiblemente el 80 %, sobre las plantas antes de la aparición de la escarcha.

50 En otras palabras, como en el caso de eliminación de la escarcha, la composición crioprotectora de la invención debe diluirse hasta una concentración de alcoholes de aproximadamente el 10-30 %, preferiblemente el 20 %. Cuando la aplicación de la composición crioprotectora es para su uso en un procedimiento para evitar la aparición de la escarcha es preferible que entre los alcoholes de la invención se incluya la glicerina lo que, como se ha mencionado anteriormente, favorece el efecto de adhesión de la composición a las cutículas de las plantas.

Como ya se ha mencionado anteriormente esta composición está especialmente adaptada para su aplicación en céspedes deportivos.

Un último aspecto de la invención se refiere al uso de la composición de la invención, composición crioprotectora de la invención, para la descongelación y/o crioprotección de plantas.

Ejemplos

Ejemplo 1: selección de la sustancia activa

Se realizaron una serie de ensayos con diferentes sustancias activas o con combinación de sustancias activas con el fin de determinar cuáles de ellas podrían ser más adecuadas para eliminar la escarcha de céspedes deportivos.

5 La Figura 1A muestra esquemáticamente los ensayos realizados como resultado de los que se pudieron determinar las sustancias activas que formarían la composición final.

10 Se ensayó como compuesto tensioactivo poliéter de trisiloxano en un porcentaje en volumen que nunca superaba el 0,4 %. Este tensioactivo se ensayó tanto como único ingrediente activo (cuadrantes 4 y 8) como en combinación con otros agentes (cuadrantes 1-2, 5-6 y 9-10). Se ensayaron resinas derivadas del ácido acrílico en un porcentaje en volumen nunca superior al 10 % tanto como único ingrediente activo (cuadrantes 11 y 12) como en combinación con poliéter de trisiloxano (cuadrantes 5 y 6). También se ensayó como crioprotector la bacteria *Pseudomonas fluorescens* en una concentración variable del caldo de cultivo diluido en agua (cuadrantes 3 y 7). Se ensayó también la combinación de vitamina E (nunca por encima del 1 % en solución) con poliéter de trisiloxano (cuadrantes 1 y 2). Por último, se ensayó una mezcla de alcoholes (glicerina y etanol) en la que las concentraciones no superaron el 1 % en volumen en combinación con poliéter de trisiloxano a distintas concentraciones.

15 La valoración de los resultados del ensayo que se exponen en la Figura 1B se realizó de forma visual. Los mejores resultados se obtuvieron de la combinación de alcoholes y tensioactivos, por tanto se hicieron sucesivos ensayos con esta combinación.

Ejemplo 2: ensayos de fitotoxicidad

20 Se usó siempre la composición crioprotectora seleccionada en el ejemplo 1, aunque a distintas concentraciones y diluciones, con el fin de averiguar qué tratamiento podía ser óptimo para utilizar en el césped deportivo.

25 La especie sobre la que se ensayaron los crioprotectores, fue *Agrostis stolonifera* var. "A4", una especie y variedad utilizada para los greens de los campos de golf. Se caracteriza por ser muy fina y corta, por tanto se utiliza con mucha frecuencia en campos de golf. Esta variedad se adapta bien al clima continental, al ambiente seco y soleado y además es más resistente al picado que otras variedades de la misma especie. El green de los campos de golf debe tener una altura de 3 mm, por tanto se corta una vez al día en verano y cada dos días el resto del año. No obstante una vez que comenzaron los ensayos, el green tratado no se cortó hasta la finalización de los mismos para comprobar que los tratamientos no afectaban al crecimiento y al ciclo vital de la planta.

30 La unidad de muestra ensayada fue una superficie de 1 m². En total se utilizaron 6 m² y sobre cada uno de ellos se aplicó, mediante pulverización en abanico, un tratamiento diferente. Cada cuadrado de muestra, estaba separado del siguiente por un pasillo de 20 cm, que sirvió como control y facilitó la comparación visual entre los distintos tratamientos.

35 El crioprotector utilizado para los ensayos resulta de una mezcla de glicerina y etanol con una proporción en volumen de 1 a 4 respectivamente. Se estimó que las soluciones óptimas deberían estar en un intervalo comprendido entre el 10 y el 30 % (p/p) de los alcoholes en dilución acuosa. Era previsible que cuanto más concentrado estuviera el producto, más eficiencia tendría, pero era necesario valorar la fitotoxicidad. La finalidad de los ensayos consistió en ajustar las dosis y concentraciones del producto para evitar estos problemas de fitotoxicidad, consiguiendo al mismo tiempo la eliminación rápida de la escarcha de la superficie del césped.

Ensayo 1: búsqueda de concentración de aplicación

40 Se hicieron tratamientos diarios, durante 10 días consecutivos, en las seis unidades de muestras, utilizando la composición a concentraciones del 20, el 25 y el 30 %, en una dosificación de 0,1 l (la dosis considerada como normal) o en 0,2 l (dos veces la dosis normal). La Figura 2A esquematiza las seis muestras y las soluciones que se aplican a cada una de ellas.

45 Todos los días se observó minuciosamente el green antes y después de realizar los tratamientos y pasada media hora de la aplicación se realizaba un análisis macroscópico y se palpaba la superficie para ver si había desaparecido la escarcha, o si había menos escarcha que en el control. La pérdida de color del green o amarilleamiento determinaba la existencia de fitotoxicidad.

Los resultados después de 10 días (véase Figura 2B) solo mostraron un cierto grado de amarilleamiento y por tanto de fitotoxicidad para la muestra al 30 % y en la cantidad de 0,2 l/m².

50 Ensayo 2: dosis de aplicación

El segundo ensayo de fitotoxicidad consistió en realizar tratamientos en las seis unidades de muestras (6 m²), utilizando el crioprotector (mezcla de etanol y glicerina) a una concentración que se encontraba en torno al 20 % aunque en dosis de 1 l o de 2 l (10 y 20 veces la dosis normal de tratamiento). En este caso, se descartó la posibilidad de utilizar concentraciones superiores al 25 % porque podían ocasionar problemas de fitotoxicidad. No

obstante el aumento de volumen de las dosis también podía ser perjudicial para el césped. La intención era averiguar la tolerancia de la planta a esta mezcla de crioprotectores.

La figura 3A detalla las seis muestras y las soluciones que se aplicaron a cada una de ellas.

- 5 En los resultados mostrados en la figura 3B se observa como la dosis también influye en la toxicidad en la planta. Con dosis de 2 l/m² existieron problemas incluso espaciando los tratamientos (unidades de muestras 4 y 6). Con dosis de 1 l/m², se vieron síntomas de toxicidad con tratamientos diarios pero no con tratamientos espaciados (unidades de muestras 3 y 5).

La dosis de aplicación nunca puede exceder por lo tanto la cantidad de 1 l/m² y se recomienda que no se repitan tratamientos sucesivos en estas dosis, convenientemente tratamientos en días alternos

10 **Ejemplo 3: efectividad del crioprotector seleccionado.**

La valoración de la efectividad del crioprotector seleccionado se realizó de una forma muy intuitiva y visual, es decir, si tras aplicar el crioprotector sobre la escarcha, ello a su vez es capaz de eliminar tal escarcha trascurrido un tiempo inferior a 30 minutos, el tratamiento es considerado como eficaz. La tabla 1 muestra los diferentes tratamientos realizados para la prueba de la efectividad.

15

Tabla 1

TRATAMIENTO	DOSIS (l/m ²)	TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LA APLICACIÓN (min.)
1	0,25	30
2	0,25	15
3	0,25	10
4	0,25	5
5	0,1	30
6	0,1	15
7	0,1	10
8	0,1	5

La figura 4 muestra el efecto de la efectividad del crioprotector seleccionado con dos dosis de aplicación de 0,1 l/m² y 0,25 l/m² tras diferentes tiempos desde la aplicación. Se observa que los mejores tratamientos, 5 y 1, se obtienen después de 30 minutos a partir de la aplicación.

20

REIVINDICACIONES

1. Composición acuosa crioprotectora que comprende dos o más alcoholes en una proporción entre el 20 % y el 99 % (p/p) y al menos un tensioactivo en una proporción entre el 0,001 y el 0,1 % (p/p).
- 5 2. Composición acuosa crioprotectora de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende el 98 % de alcoholes y el 0,01 % de tensioactivo.
3. Composición acuosa crioprotectora de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que los alcoholes se seleccionan entre alcoholes con un número de carbonos comprendido entre 1 y 6 y uno o más grupos hidroxilo.
4. Composición acuosa crioprotectora de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que los alcoholes son glicerol y etanol.
- 10 5. Composición acuosa crioprotectora de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el tensioactivo es poliéter de trisiloxano.
6. Composición acuosa crioprotectora de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente un aditivo tal como odorantes o colorantes.
- 15 7. Procedimiento de eliminación de la escarcha de plantas que comprende pulverizar una composición acuosa crioprotectora de acuerdo con las reivindicaciones 1-6 sobre las plantas con escarcha.
8. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la composición acuosa crioprotectora se pulveriza con un contenido de alcoholes de aproximadamente entre el 10 y el 30 %.
9. Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 7 u 8, en el que la composición acuosa crioprotectora es pulverizada en un césped.
- 20 10. Procedimiento para evitar la aparición de escarcha en plantas que comprende pulverizar una composición crioprotectora de acuerdo con las reivindicaciones 1-6 sobre las plantas antes de la aparición de la escarcha.
11. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la composición acuosa crioprotectora se pulveriza con un contenido de alcoholes de aproximadamente 10-30 %.
- 25 12. Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 10 u 11, en el que al menos uno de los alcoholes de la composición es glicerina.
13. Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 10-12, en el que la composición acuosa se pulveriza en un césped.
14. Uso de la composición crioprotectora de acuerdo con las reivindicaciones 1-6 para la descongelación y/o crioprotección de plantas.
- 30 15. Uso de acuerdo con la reivindicación 14, en el que la planta es un césped.

A)

T = Tensioactivos
 R = Resinas
 B = Bacterias
 V = Vitaminas
 A = Alcohol

V+T 1%+ 0.4%	V+T 1%+ 0.2%	B (100%)	T (0.2%)
1	2	3	4
R+T 1%+ 0.4%	R+T 1%+ 0.2%	B (10%)	T (0.4%)
5	6	7	8
A+T 1%+ 0.4%	A+T 1%+ 0.2%	R (10%)	R (2%)
9	10	11	12

B)

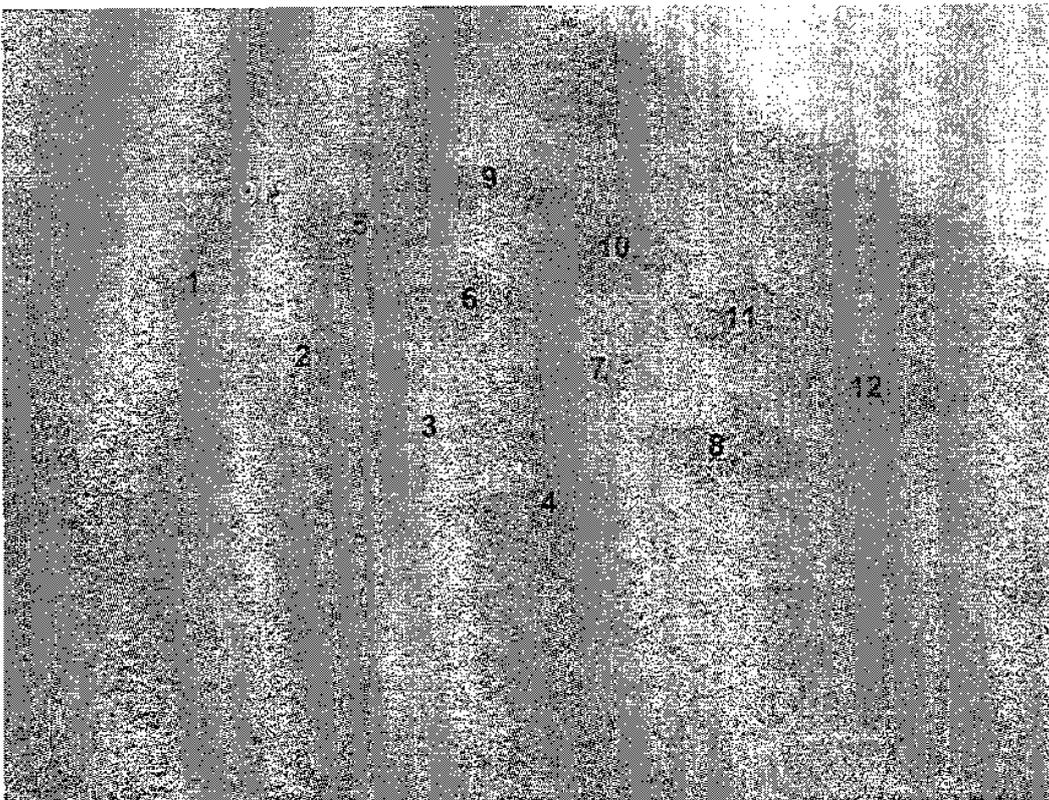


FIG. 1

A)



B)

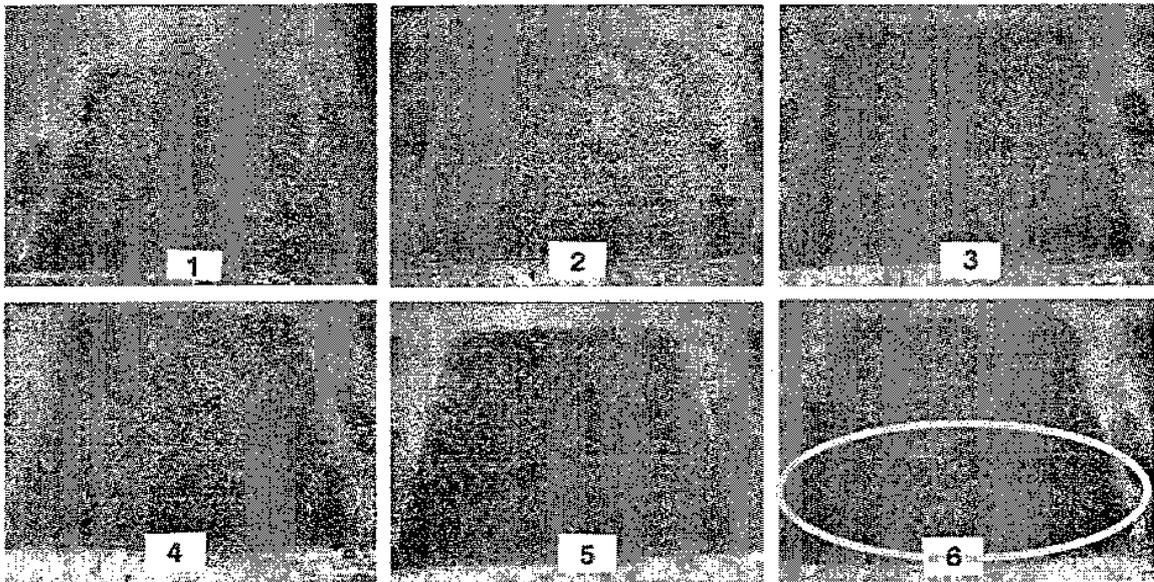
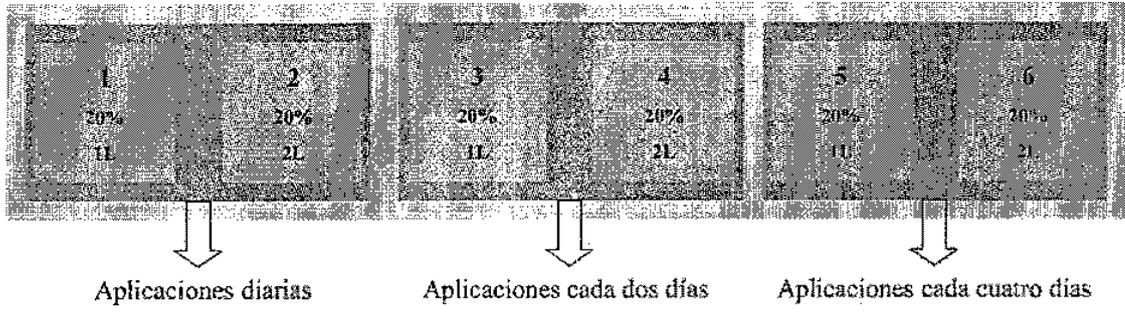


FIG. 2

A)



B)

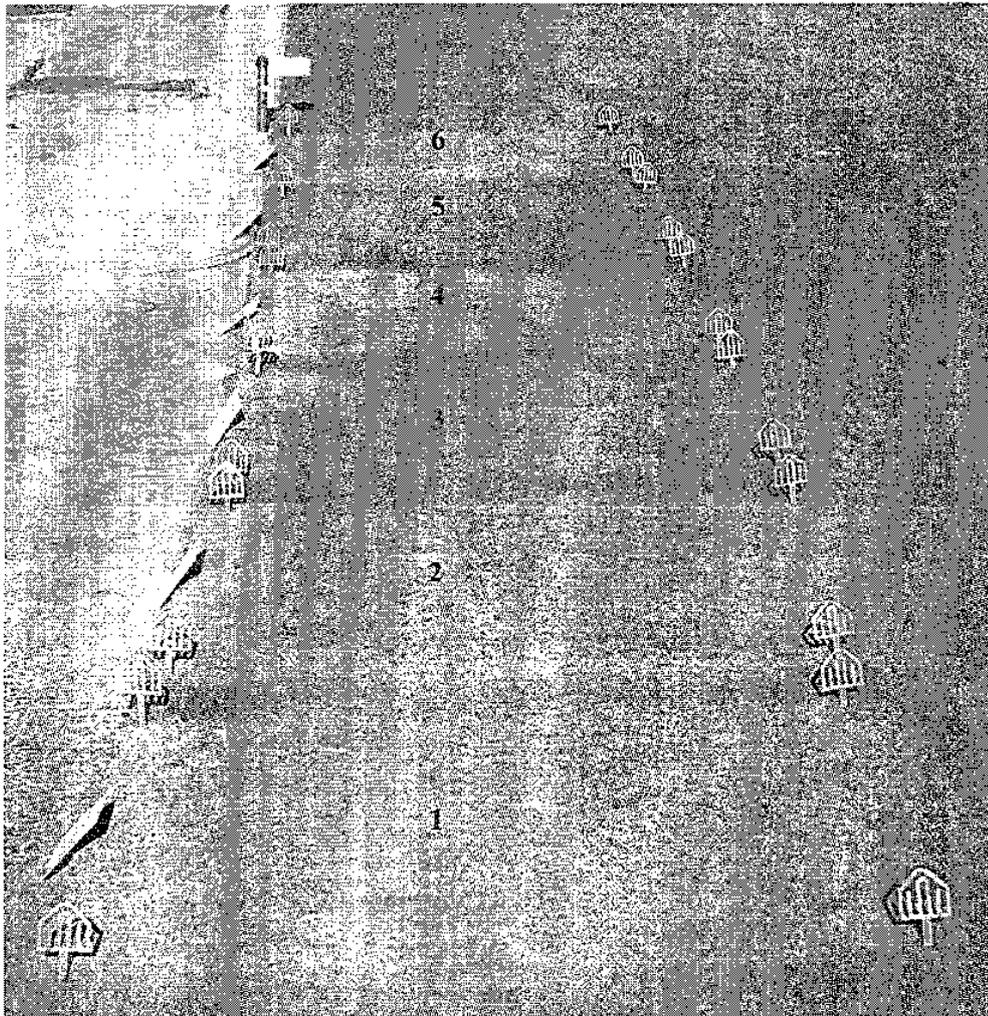


FIG. 3



FIG. 4