

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 518**

51 Int. Cl.:

A01N 31/02	(2006.01) A61Q 19/00	(2006.01)
A01N 35/02	(2006.01) C12N 1/14	(2006.01)
A01N 63/04	(2006.01) C12P 7/00	(2006.01)
A23B 4/20	(2006.01) C12R 1/645	(2006.01)
A23B 7/154	(2006.01) D06M 16/00	(2006.01)
A23L 3/3508	(2006.01) A01N 37/02	(2006.01)
A23L 3/3517	(2006.01) A01N 37/36	(2006.01)
A23L 3/3562	(2006.01)	
A61K 45/06	(2006.01)	
A61Q 11/02	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.04.2010 PCT/US2010/032587**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **11.11.2010 WO10129285**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2010 E 10772527 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.01.2018 EP 2424372**

54 Título: **Composiciones antimicrobianas y procedimientos de uso relacionados**

30 Prioridad:

02.11.2009 US 257319 P
27.04.2009 US 214752 P
19.03.2010 US 315611 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.04.2018

73 Titular/es:

JENEIL BIOSURFACTANT COMPANY, LLC
(100.0%)
400 North Dekora Woods Boulevard
Saukville, WI 53080, US

72 Inventor/es:

STROBEL, GARY, A.;
GANDHI, NIRANJAN RAMANLAL y
SKEBBA, VICTORIA, PALMER

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 665 518 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

Composiciones antimicrobianas y procedimientos de uso relacionados

5 Antecedentes de la invención.

Se han realizado muchos progresos hacia la identificación y desarrollo de biocidas para controlar diversos moldes, enfermedades de plantas y similares. Sin embargo, la mayoría de los biocidas o plaguicidas comerciales en uso son compuestos que se clasifican como cancerígenos o son tóxicos para la vida silvestre y otras especies no diana. Por ejemplo, el bromuro de metilo se usa ampliamente como fumigante de suelos y en el tratamiento postcosecha de infecciones microbianas. La toxicidad humana y los efectos perjudiciales para el medio ambiente resultarán en última instancia en el uso discontinuo de bromuro de metilo y diversos otros biocidas/plaguicidas sintéticos. Como resultado, los esfuerzos recientes se han dirigido a la identificación y desarrollo de composiciones naturales o biomiméticas que demuestren un efecto antimicrobiano o plaguicida comparable.

Un enfoque de este tipo se refiere a endófitos y subproductos volátiles asociados. Los endófitos se definen en la técnica como microorganismos que residen en los espacios intersticiales del tejido vegetal vivo, pero generalmente no se consideran parasitarios. En particular, los endófitos encontrados junto con las plantas de la selva tropical han generado considerable interés por razones relacionadas con el carácter antibiótico de sus subproductos volátiles. Se ha demostrado que varios miembros del género *Muscodor* (esto es, *M. albus*, *M. roseus* y *M. vitigenus*) producen subproductos volátiles que exhiben carácter antibiótico o insecticida. El uso de *Muscodor albus* se discute en "New endophytic isolates of *Muscodor albus*, a volatile-antibiotic-producing fungus" (Ezra et al; Microbiology, Society for General Microbiology, Reading, GB; vol. 150, no. Parte 12, 1 de diciembre del 2004, páginas 4023-4031).

Sin embargo, el subproducto respectivo de cada especie incluye diversos derivados de naftaleno y/o azuleno. Tales compuestos, junto con otros componentes del subproducto, pueden ser tóxicos o de otra manera no saludables, y las mezclas correspondientes se consideran inaceptables para diversas aplicaciones de uso final. De acuerdo con lo anterior, sigue habiendo una búsqueda continua en la técnica para identificar composiciones naturales y para desarrollar composiciones biomiméticas ausentes de tales compuestos, que son seguros para el uso humano y que demuestran propiedades antimicrobianas eficaces. El descubrimiento de un género *Muscodor* se describe en "*Muscodor crispans*, a novel endophyte from *Ananas ananassoides* in the Bolivian Amazon" (Mitchell et al; Fungal Diversity Press, Hong Kong, HK; Vol.31, 1 de julio de 2008, páginas 37- 43).

35 Resumen de la invención.

A la luz de lo anterior, es un objeto de la presente invención proporcionar aromatizantes que tengan composiciones antimicrobianas y/o procedimientos para su uso, superando así diversas deficiencias y limitaciones de la técnica anterior, que incluyen las delineadas anteriormente. Los expertos en el arte entenderán que uno o más aspectos de esta invención pueden cumplir ciertos objetivos, mientras que uno o más aspectos pueden cumplir ciertos otros objetivos. Cada objetivo puede no aplicarse por igual, en todos sus aspectos, a todos los aspectos de esta invención. Como tal, los siguientes objetos se pueden ver en la alternativa con respecto a cualquier aspecto de esta invención.

La presente invención proporciona una composición antimicrobiana que consiste en acetaldehído; acetato de etilo; 2 butanona; ácido propanoico, 2 metil, éster metílico; etanol; ácido acético, éster 2 metilpropílico; ácido propanoico, 2 metil, éster 2 metilpropílico; 1 propanol, 2 metil; 1 butanol, 3 metil, acetato; ácido propanoico, 2 metil, éster 2 metilbutílico; 1 butanol, 3 metil; ácido propanoico, 2 metil; y ácido acético, éster 2 feniletílico, junto con una metodología para la prevención, inhibición y/o erradicación de la infección microbiana.

Puede ser otro objeto de la presente invención proporcionar un sistema que comprenda una especie de *Muscodor* o una cepa del mismo y un subproducto volátil asociado junto con un medio o sustrato no nativo para usar contra la infección microbiana.

Puede ser otro objeto de la presente invención proporcionar dicho sistema y/o metodología relacionada para su uso, sin limitación, en el contexto de alimentos humano y animal, productos agrícolas, plantas, partes de plantas, semillas, cultivos agrícolas y otros materiales orgánicos, envases, materiales de construcción, fibras, telas, prendas de vestir y aplicaciones farmacéuticas y/o médicas.

Puede ser otro objeto de la presente invención proporcionar, en la alternativa o junto con la misma, una gama de composiciones biomiméticas hechas por el hombre que demuestran una actividad antimicrobiana comparable a dicha especie de *Muscodor*.

Puede ser un objeto de la presente invención proporcionar una o más de tales composiciones de componentes comestibles o de otra manera seguras para uso y consumo humano.

Puede ser otro objeto de la presente invención proporcionar un sistema, material compuesto o artículo que comprenda dicha composición biomimética no natural junto con un medio o sustrato para la prevención, inhibición y/o erradicación de la infección microbiana. Puede ser otro objeto de la presente invención proporcionar dicho sistema, material compuesto y/o artículo para su uso, en un contexto del tipo descrito anteriormente o ilustrado en otra parte en este documento.

También puede ser un objeto de la presente invención proporcionar un procedimiento para el tratamiento antimicrobiano y/o pesticida que comprende dicha composición, sin limitación en cuanto a medio, portador o sustrato.

Otros objetos, características, beneficios y ventajas de la presente invención serán evidentes a partir de este resumen y las siguientes descripciones de ciertas realizaciones, y serán fácilmente evidentes para los expertos en el arte que tengan conocimiento de diversas composiciones antimicrobianas y tratamientos relacionados. Tales objetos, características, beneficios y ventajas serán evidentes a partir de lo anterior, tomados en conjunto con los ejemplos, datos, figuras y todas las inferencias razonables que se extraerán de ellos, solos o con consideración de las referencias.

En parte, la presente invención se puede dirigir a un sistema que comprende al menos uno de una cepa de *M. crispans*, un subproducto volátil del mismo o vapor de dicho subproducto volátil y un medio o sustrato no nativo. Tales medios o sustratos pueden ser como se describen en este documento o que los expertos en el arte entenderían de otro modo. Independientemente, dicha cepa se puede proporcionar en forma de un cultivo biológicamente puro, opcionalmente junto con un componente de portador apropiado para el contacto medio/sustrato o aplicación de uso final, dicho cultivo suficientemente viable para la producción de un subproducto volátil. De acuerdo con esta invención, un subproducto o una modificación de un subproducto de *M. crispans*, o vapor correspondiente al mismo, se describe como composicionalmente en otra parte en este documento.

De acuerdo con lo anterior, la presente invención también se puede dirigir a usar dicho sistema y/o los subproductos fúngicos volátiles del mismo para proporcionar un efecto antimicrobiano. Dicho procedimiento puede comprender proporcionar un sustrato o medio no-nativo capaz de soportar actividad o crecimiento microbiano; y poner en contacto dicho sustrato o medio con un cultivo de una cepa de *M. crispans*, un subproducto volátil del mismo y/o vapor de dicho subproducto. En ciertas realizaciones, tal contacto puede comprender dicha cepa sobre, aproximadamente o aproximada a dicho medio o sustrato. En ciertas otras realizaciones, un subproducto volátil o modificaciones de un subproducto de *M. crispans*, o un vapor correspondiente, pueden infundir o poner en contacto de otro modo con dicho medio o sustrato.

Sin limitación en cuanto a dicho sistema o procedimiento, dicho sustrato se puede seleccionar de un alimento o artículo producido, un componente de empaque para un alimento u otro artículo perecedero, una fibra, ropa o prendas de vestir, un componente de edificación o construcción, una planta, superficie de la planta, suelo, basura o residuos. Tal contacto puede ser bioactivo con respecto a la presencia microbiana y/o profiláctico.

En parte, la presente invención se puede dirigir a una composición antimicrobiana que no se produce de manera natural, ya sea que los componentes de la misma sean derivados naturales, sintetizados químicamente o una combinación de los mismos. Dicha composición puede comprender compuestos seleccionados de componentes de alcohol, aldehído, cetona, ácido y/o éster de ácido de una composición biomimética de subproducto de *Muscodor* sp., que puede estar ausente de compuestos aromáticos condensados, compuestos aromáticos condensados sustituidos y derivados hidro de tales compuestos. En ciertas realizaciones no limitantes, dicha composición puede comprender un componente ácido seleccionado de ácido acético, ácido isobutírico, ácido propanoico y combinaciones de los mismos.

En ciertas realizaciones, la presente invención se puede dirigir a una composición antimicrobiana derivada de forma natural que comprende un componente ácido C₂ - aproximadamente C₅; un componente éster C₂-aproximadamente C₅; y al menos dos componentes C₂ - aproximadamente C₅ aislables a partir de un subproducto volátil de un cultivo aislado de *Muscodor crispans*, dicha composición tal que puede tener un perfil de actividad patógena diferente de un perfil de actividad patógena de un *Muscodor* sp., cultivado, aislado, un subproducto volátil del mismo y/o una mezcla sintética de dicho subproducto volátil. Dicho componente ácido se puede seleccionar entre ácido isobutírico, ácido propanoico y combinaciones de los mismos. Independientemente, dicho componente de éster se puede seleccionar entre un acetato de éster C₄, un acetato de éster C₅ y combinaciones de los mismos.

Sin limitación, en ciertas realizaciones, dicha composición puede comprender aproximadamente 8 - aproximadamente 10 componentes que de otro modo serían aislables de un subproducto volátil de *M. crispans*. En ciertas de dichas realizaciones, cada componente de dicha composición se puede aislar de dicho subproducto volátil. Como dicha composición se puede derivar de forma natural, cada uno de dichos componentes puede ser un producto de fermentación, y la fermentación se puede seleccionar a partir de fermentaciones bacterianas, de levadura y/o fúngicas. Independientemente, cada componente de dicha composición puede ser generalmente reconocido como seguro para el consumo humano bajo el capítulo 21 del United States Code of Federal Regulations y las secciones correspondientes y/o disposiciones de los mismos.

Independientemente, en ciertas realizaciones no limitantes, dicho componente aislable puede ser ácido isobutírico. En ciertas de tales realizaciones, el ácido propanoico puede ser al menos en parte sustituido por ácido isobutírico. En tal u otras realizaciones no limitantes, dicho componente aislable puede ser 2-butanona. En ciertas de tales realizaciones, el ácido acético, ácido propanoico o una combinación de los mismos puede al menos en parte sustituirse por 2-butanona. En tal o incluso otras realizaciones no limitantes, dicho componente aislable puede ser etanol. En ciertas de tales realizaciones, el ácido acético puede ser al menos en parte sustituido por etanol. Independientemente de la identidad o cantidad de cualquiera de dicho componente ácido, componente éster y/o componente aislable, dicha composición derivada naturalmente puede comprender un componente surfactante. En ciertas de tales realizaciones, se puede incorporar con este un biosurfactante. Sin limitación, un biosurfactante puede ser un componente de ramnolípido seleccionado entre un monorhamnolípido, un dirhamnolípido y combinaciones de los mismos.

Alternativamente, la presente invención se puede dirigir a una composición antimicrobiana derivada de forma no natural, sintética. Dicha composición puede comprender un componente ácido C₂ - aproximadamente C₅; un componente éster C₂ - aproximadamente C₅; y al menos dos componentes C₂ - aproximadamente C₅ aislables de un subproducto volátil de un cultivo aislado de *Muscodor crispans*, dicha composición que puede tener un perfil de actividad patógena diferente de un perfil de actividad patógena de un *Muscodor sp.* cultivado, aislado, o un subproducto volátil del mismo. Tales componentes de ácido, éster y/o aislables pueden ser como se describió anteriormente o se ilustran en otra parte en este documento. Independientemente, dicha composición antimicrobiana puede comprender un componente surfactante. En ciertas de tales realizaciones no limitantes, dicho surfactante puede ser un componente ramnolípido seleccionado entre un monorhamnolípido, un dirhamnolípido y combinaciones de los mismos.

En parte, la presente invención se puede dirigir a una composición antimicrobiana biomimética que comprende una mezcla líquida de compuestos seleccionados de alcoholes C₂ a aproximadamente C₅, aldehídos, cetonas, ácidos y ésteres de ácido y combinaciones y subcombinaciones de los mismos, dicha composición no aislada de *Muscodor sp.* Como se discute en otro lugar en este documento, dicha mezcla líquida puede ser volátil a temperatura ambiental y/o del entorno. Con respecto a dicha composición y los compuestos de la misma, el término "aproximadamente" puede significar, como entenderán los expertos en el arte, homólogos de carbono y/o metileno con el correspondiente peso molecular y/o isomería estructural limitados solo por la mezcla con uno o más de otros componentes, compuestos y al menos una volatilidad parcial de la temperatura ambiente/del entorno de la composición resultante. Con respecto a ciertas realizaciones no limitantes, dicha composición puede comprender compuestos de alcohol, aldehído, cetona, ácido y éster de ácido seleccionados entre componentes de una composición biomimética de subproducto de *M. crispans*, del tipo descrito a continuación.

Dicha composición puede comprender compuestos químicamente sintetizados, compuestos aislados de la fermentación bacteriana y combinaciones de tales compuestos. En ciertas de tales realizaciones, dicha composición puede comprender un componente ácido seleccionado entre ácido acético, ácido isobutírico, ácido propanoico y combinaciones de los mismos.

En parte, la presente invención también se puede dirigir a una composición antimicrobiana que no se produce naturalmente, ya sea derivada de forma natural y/o químicamente sintetizada, que comprende compuestos seleccionados de alcoholes C₂ a aproximadamente C₅, aldehídos, cetonas, ácidos y ésteres de ácidos y combinaciones y subcombinaciones de tales compuestos, tales compuestos seleccionados generalmente reconocidos como seguros ("GRAS") para el consumo humano, tal designación según lo dispuesto en el capítulo 21 del United States Code of Federal Regulations y las correspondientes secciones y/o disposiciones del mismo. En ciertas realizaciones no limitantes, tales compuestos se pueden seleccionar de componentes éster de alcohol, cetona, ácido y/o ácido de una composición biomimético del subproducto de *M. crispans*. En ciertas realizaciones, un perfil de actividad microbiana/mortalidad del mismo difiere del de ya sea *M. crispans* o *M. albus*, un subproducto volátil del mismo del mismo y/o composiciones de subproductos sintéticos correspondientes del mismo. Independientemente, en ciertas de tales realizaciones, dicha composición puede comprender un componente ácido seleccionado entre ácido acético, ácido isobutírico, ácido propanoico y combinaciones de los mismos.

En parte, la presente invención puede comprender una composición que comprende una composición de esta invención; y un componente surfactante, dicho componente surfactante solo o como se puede incorporar en un componente portador. En ciertas realizaciones, dicho surfactante puede ser un biosurfactante, ya que dicho biosurfactante, puede ser un componente de ramnolípido seleccionado de un monorhamnolípido, un dirhamnolípido y combinaciones de los mismos.

En parte, la presente invención también se puede dirigir a un sistema o material compuesto que comprende una composición de la invención y un sustrato o componente de medio. Dicha composición puede ser como se describe anteriormente o se ilustra en otra parte de este documento. Sin limitación, un sustrato se puede seleccionar de un alimento o artículo producido, un componente de empaque (por ejemplo, una película o envoltura) para un alimento u otro artículo perecedero, una fibra, tela o prendas de vestir, un componente de edificación o construcción, un tejido humano, una planta, superficie de la planta, suelo y basura o residuos. En ciertas realizaciones, dicha composición,

ya sea líquida o gaseosa, se puede incorporar o poner en contacto de otro modo con dicho medio, sustrato o superficie del sustrato.

De acuerdo con lo anterior, esta invención también se puede dirigir hacia un procedimiento de tratamiento microbiano o de insectos, prevención, inhibición, erradicación y/o afectar de otro modo la actividad microbiana o de insectos. Dicho procedimiento puede comprender proporcionar una composición de esta invención, que incluye, pero no se limita a, una o más composiciones del tipo ilustrado en este documento; y poner en contacto un microbio o insecto o un artículo/sustrato capaz de soportar actividad microbiana o de insectos con dicha composición en una cantidad al menos parcialmente suficiente para afectar la actividad microbiana o de insectos. Dicho microbio (por ejemplo, un hongo, bacteria o virus) o insecto puede estar en un medio, sobre o cerca de una superficie de un sustrato del tipo discutido anteriormente. De acuerdo con lo anterior, dicho contacto puede ser directo y/o por volatilización de dicha composición. Independientemente, dicho tratamiento puede ser activo con respecto a la presencia microbiana o de insectos y/o profiláctico. Como se ilustra en otra parte en este documento, el tratamiento se puede considerar en el contexto de muerte microbiana o de insectos y/o crecimiento o actividad inhibidos.

De acuerdo con ciertas realizaciones de esta invención, las composiciones que comprenden ciertos compuestos saborizantes y de alimentos (FFC) son especialmente inhibitoras y/o letales para ciertos hongos patógenos, bacterias y otros microbios de interés agrícola, medicinal o comercial o industrial. Tales composiciones se pueden distinguir sobre cualquier mezcla previa que contenga compuestos derivados biológicamente: por ejemplo, las presentes composiciones no contienen ninguna sustancia derivada de naftaleno o azuleno (compuestos que no sean GRAS). Por el contrario, tales composiciones pueden comprender una mezcla de compuestos orgánicos, cada uno de los cuales se considera de otra manera (esto es, GRAS) un alimento o sustancia saborizante.

La presente invención demuestra la naturaleza de tales composiciones, su preparación y aplicación a diversos artículos (por ejemplo, sin limitación, alimentos, fibras, implementos y superficies de construcción) para preservar su integridad y prevenir la destrucción por diversos hongos (mohos y otros microorganismos). Tales composiciones también se pueden aplicar a estructuras de construcción, partes de plantas e incluso prendas de vestir para su conservación. Además, como se demuestra a continuación, dicha composición puede afectar negativamente a *Mycobacterium tuberculosis*, el microorganismo que causa la tuberculosis, incluyendo al menos 3 cepas que son resistentes a los medicamentos.

Breve descripción de los dibujos.

Figura 1. Fotografías que ilustran el efecto aniquilador de los FFC contra cultivos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* resistente a fármacos después de la exposición durante 2 días.

Figura 2. Una serie de fotografías que ilustran la prevención del crecimiento de hongos (moho) en el queso por varios procedimientos que emplean los FFC.

Figura 3. El efecto protector de los FFC sobre batatas en almacenamiento en presencia de 0.2 ml de una composición de FFC, durante 2 días. Las batatas fueron fotografiadas después de 10 días. (La prueba está a la izquierda y el control está a la derecha).

Figura 4. El efecto protector de los FFC de la descomposición de la basura durante 10 días mantenida a 30 °C.

Figura 5. Demostración del efecto contra la pudrición/marchitez del tomate, a la izquierda está la placa de control de *C michiganense*, y a la derecha está la placa tratada con 20 microlitros y una composición de FFC de esta invención.

Figura 6. Efecto demostrativo de una composición de FFC de esta invención incorporada en un producto de crema para la piel.

Las figuras 7A-B y 8 ilustran estructuras de varios compuestos monorhamnolípidos y dirhamnolípidos no limitantes, representativos, de acuerdo con ciertas realizaciones no limitantes de esta invención.

La figura 9 proporciona dos realizaciones de un componente de ramnolípido, designado R1 y R2 para las respectivas estructuras de mono y dirhamnolípidos, que se pueden usar solos o en combinación de uno con el otro, como se describe en varios de los ejemplos siguientes, de acuerdo con ciertas realizaciones no limitantes de esta invención.

Descripción detallada de ciertas realizaciones.

Como se ilustra por varias realizaciones no limitantes, esta invención se refiere al uso de una nueva especie de *Muscodor* y/o sus subproductos volátiles y al desarrollo de composiciones biomiméticas no naturales, preparadas en laboratorio, que comprenden alimentos y compuestos aromatizantes comunes que, cuando se incorporan a diversos medios, se aplican a superficies o se introducen en una atmósfera, espacio o volumen, provocan la descontaminación del medio o volumen superficial deseado de microorganismos patógenos, nocivos, dañinos y/o

patógenos, incluidos hongos vegetales y el agente causal de la tuberculosis. La invención tiene implicaciones y aplicaciones extremadamente importantes para la agricultura moderna, la medicina humana, las ciencias de los alimentos y la industria. Las composiciones de esta invención no son obvias ya que tienen propiedades antimicrobianas dado el hecho de que ningún ingrediente individual, por sí mismo, es biológicamente activo. Una combinación sinérgica de ingredientes componentes manifiesta toda la actividad antimicrobiana potencial.

Con respecto al uso de dicha especie de *Muscodor*, un subproducto volátil del mismo o una composición biomimética que no se produce naturalmente que comprende FFC, el contacto puede ser directo o por exposición a un vapor asociado con dicha especie, subproducto de la composición biomimética. Como se ilustra a continuación, en el contexto de ciertas realizaciones, aunque la exposición al vapor puede inhibir el crecimiento, puede requerirse contacto microbiano directo para la muerte bacteriana o fúngica.

Independientemente del modo de contacto, las composiciones de esta invención se pueden fabricar en el laboratorio, comprendiendo componentes sintetizados químicamente, componentes derivados naturalmente o una combinación de tales componentes sintéticos y naturales. Independientemente, tales composiciones pueden ser biomiméticas con respecto al efecto de un subproducto de *Muscodor* sobre una especie bacteriana o fúngica particular. Alternativamente, dicha composición, por concentración relativa o selección de uno cualquiera o más de sus componentes de FFC, puede demostrar una actividad antimicrobiana variada o potenciada, en comparación con un subproducto de hongos de *Muscodor*.

En ciertas de tales realizaciones, dicha composición puede estar en, o se puede aplicar a, un sustrato o medio que comprende un componente proteínico o celulósico que puede, es capaz de soportar el crecimiento de microbios o no lo soporta. Sin limitación, ciertas realizaciones pueden comprender plantas, componentes de plantas (por ejemplo, raíces, tallos, hojas o follaje, productos agrícolas y similares) y cualquier brote o semilla de origen. En particular, sin limitación, tales composiciones pueden estar en cualquier producto de planta, ya sea que se denomine una fruta, vegetal, tubérculo, flor, semilla o nuez, ya sea antes o después de la cosecha. Algunas de tales plantas y/o productos a partir de las mismas se reconocen en la técnica, solos o colectivamente, como cultivos agrícolas. De acuerdo con lo anterior, en ciertas realizaciones, una composición de esta invención puede estar sobre o aplicarse a dicho cultivo en cualquier momento durante el desarrollo, antes y/o después de la cosecha. Del mismo modo, una composición de esta invención se puede aplicar o incorporar a una bebida, alimento (por ejemplo, humano, animal de compañía y/o animal) producto o artículo de fabricación que puede, es capaz de o soporta el crecimiento de microbios.

En ciertas otras realizaciones de esta invención, dicha composición puede estar en, o se puede aplicar a, un sustrato o superficie soportadora o de soporte de crecimiento de microbios (por ejemplo, levadura y/u hongos, bacterias y/o virus). De acuerdo con lo anterior, dicho sustrato o superficie puede comprender cualquier material que pueda, sea capaz de o soporte el crecimiento de microbios. Tales sustratos incluyen, pero no se limitan a, madera, cerámica, porcelana, piedra, yeso, paneles de yeso, cemento, telas, cuero, plásticos y similares.

En ciertas otras realizaciones, diversas composiciones de esta invención pueden estar en, en contacto con, o como aplicadas o administradas a un sustrato o superficie que comprende tejido humano o de mamífero, incluyendo, pero no limitado a, uñas, cabello, dientes o boca, piel y otro material celular, en el contexto de una formulación farmacéutica o de cuidado personal o higiene para el tratamiento o la prevención del crecimiento o infección microbiana. Las composiciones representativas se describen a continuación en términos, al menos en parte, aplicables a una o más otras realizaciones.

Se recuperó un hongo endofítico en el interior de los tejidos de una planta de piña silvestre (*Ananas ananassoides*) que crecía en la Amazonía boliviana. Finalmente, se demostró que producía una mezcla de compuestos volátiles que tenían actividades antimicrobianas. Usando técnicas moleculares, se descubrió que el hongo posee similitudes de secuencia con los miembros del género *Muscodor*. Se sabe que estos hongos producen compuestos orgánicos volátiles que pueden actuar como antimicrobianos que son eficaces contra los patógenos humanos y de plantas. Los miembros de las especies de *Muscodor* se han identificado usando procedimientos tales como el mapeo de caracteres filogenéticos empleando el análisis de secuencia de ADNr 18S más ADNr ITS-5.8S. Las secuencias encontradas en el hongo actual y otras *Muscodor* spp. fueron buscadas con BLAST en GenBank, y se compararon con otros hongos (Bruns et al., 1991; Reynolds and Taylor 1993; Mitchell et al., 1995; Guarro et al., 1999; Taylor et al., 1999). Finalmente, se determinó que estos aislados están relacionados con *Xylaria* (Worapong et al., 2001a&b). Todos los taxones aislados que pertenecen a *Muscodor* tienen características similares, tales como el crecimiento relativamente lento, la posesión de un micelio similar al fieltro, la producción de compuestos volátiles biológicamente activos, y no causar daño a las plantas en las que originalmente residían. Finalmente, comparten secuencias de ADNr muy similares (Ezra et al., 2004).

Aunque el hongo presente compartía todas las mismas características comunes mencionadas anteriormente, existían un número de aspectos diferentes del taxón que lo distinguían del resto de *Muscodor* spp. y aislados. Como se ilustra más completamente en los siguientes ejemplos, estas características únicas apoyan el establecimiento del hongo actual como una nueva especie. El nombre propuesto para este nuevo hongo endofítico es *Muscodor crispans*.

Como se analizó mediante GC/MS, el hongo aislado produjo alcoholes, ésteres y ácidos de peso molecular pequeño, en la fase gaseosa, cuando se cultivaron en agar de dextrosa de patata (PDA). Como se muestra en la tabla 1 a continuación, tales compuestos incluyen ácido propanoico, 2-metil-, 1-butanol, 3-metil-, acetato; 1-butanol y etanol. Este organismo no produjo derivados de naftaleno ni de azuleno (compuestos no GRAS) cuando se cultivaron en PDA, distinguiéndolo de todos los otros *Muscodor* spp. estudiados hasta ahora. El olor producido por el hongo se nota después de aproximadamente 1 semana y parece aumentar con el tiempo hasta, e incluyendo al menos, tres semanas. Como se ilustra a continuación, los volátiles de este hongo poseen bioactividad inhibitoria y letal contra un número de patógenos humanos y de plantas usando la técnica estándar de bioensayo (Strobel et al., 2001).

Tabla 1.

Tiempo de retención Min.	Compuesto	MW
2:05	Acetaldehído	44.03
3:40	Acetato de etilo	88.05
3:51	2-Butanona	72.06
4:08	Ácido propanoico, 2-metil-, éster metílico	102.07
4:18	Etanol	46.04
5:29	Ácido acético, éster 2-metilpropílico	116.08
6:39	Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilpropílico	144.12
6:46	1-Propanol, 2-metil-	74.07
6:52	2-Butenal, 2-metil-, (E)-	84.06
7:12	1-Butanol, 3-metil-, acetato	130.10
8:18	Hexano, 2,3-dimetil-	114.14
8:21	Ácido propanoico, éster 2-metil-, 2-metilbutílico	158.13
8:31	1-Butanol, 3-metil-	88.09
13:37	Ácido propanoico, 2-metil-	88.05
14:41	Formamida, N-(1-metilpropil)-	101.08
16:44	Ácido acético, éster 2-feniletílico	164.08
20:44	Ciclohexano, 1,2-dimetil-3,5-bis(1-metiletenil)-	192.19

Como se discutió anteriormente, la presente invención incluye el uso de *M. crispans* y/o un subproducto volátil del mismo junto con un medio, sustrato y/o volumen no nativo para el efecto antimicrobiano. Tal uso y/o aplicaciones pueden ser como se describen en este documento o que los expertos en el arte entenderían de otro modo, incluyendo, pero no limitando al, uso y aplicación del tipo descrito en la Patente de los Estados Unidos No. 6,911,338.

Alternativamente, se puede usar una amplia gama de composiciones biomiméticas naturales y sintéticas con un efecto comparable o potenciado o, como se evidencia por una o más realizaciones, para proporcionar resultados hasta ahora no disponibles mediante el uso de ya sea el hongo o su subproducto volátil. Como una salida de la técnica anterior y el subproducto de *M. crispans*, tales composiciones antimicrobianas pueden comprender compuestos saborizantes y de alimentos generalmente reconocidos como seguros para uso y consumo humano. Representante de la misma, varias composiciones biomiméticas no limitantes se proporcionan en las tablas 2-7, a continuación. Diversas otras composiciones pueden comprender combinaciones de compuestos seleccionados de una cualquiera o más de las tablas 2-7. Alternativamente, cualquiera de dicha composición puede comprender un compuesto componente además de o como reemplazo de cualquier compuesto enumerado, para mejorar la volatilidad o modificar cualquier otra propiedad de uso o rendimiento final. En ciertas de tales composiciones, dicho compuesto de reemplazo o adicional puede tener una designación GRAS y/o ser designado de ese modo en los niveles usados. Tales composiciones pueden, como alternativa, incluir un componente encontrado en un subproducto volátil de *M. crispans* y/o no en un subproducto volátil de otro *Muscodor* sp.

Cada uno de tales compuestos se puede proporcionar dentro de un intervalo de concentración o porcentaje eficaz y está ya sea disponible comercialmente o se puede preparar por los expertos en el arte. Con respecto a este último, las técnicas de fermentación se pueden usar para preparar y aislar naturalmente tales compuestos. Alternativamente, tales compuestos se pueden sintetizar químicamente. Con respecto a varias realizaciones no limitantes de esta invención, cada compuesto de las tablas 2-7 se puede obtener como un producto de fermentación, tales productos y composiciones correspondientes que están disponibles bajo la marca comercial Flavorzon de Jeneil Biotech, Inc. of Saukville, Wisconsin.

Tabla 2. Una composición biomimética de esta invención que comprende:

Compuesto
Acetaldehído
Acetato de etilo
2-Butanona
Ácido propanoico, 2-metil-, éster metílico
Etanol

Ácido acético, éster 2-metilpropílico
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilpropílico
1-Propanol, 2-metil-
1-Butanol, 3-metil-, acetato
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilbutílico
1-Butanol, 3-metil-
Ácido propanoico
Ácido acético, éster 2-feniletílico

Tabla 3. Una composición biomimética de esta invención que comprende:

Compuesto
Acetaldehído
Acetato de etilo
2-Butanona
Ácido propanoico, 2-metil-, éster metílico
Etanol
Ácido acético, éster 2-metilpropílico
Ácido propanoico, éster 2-metil-, 2-metilpropílico
1-Propanol, 2-metil-
1-Butanol, 3-metil-, acetato
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilbutílico
1-Butanol, 3-metil-
Ácido propanoico, 2-metil-
Ácido acético, éster 2-feniletílico
Ácido propanoico

Tabla 4. Una composición biomimética de esta invención que comprende:

Compuesto
Acetaldehído
Acetato de etilo
2-Butanona
Ácido propanoico, 2-metil-, éster metílico
Ácido acético
Ácido acético, éster 2-metilpropílico
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilpropílico
1-Propanol, 2-metil-
1-Butanol, 3-metil-, acetato
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilbutílico
1-Butanol, 3-metil-
Ácido propanoico, 2-metil-
Ácido acético, éster 2-feniletílico

Tabla 5. Una composición biomimética de esta invención que comprende:

Compuesto
Acetaldehído
Acetato de etilo
Ácido acético
Ácido propanoico, 2-metil-, éster metílico
Etanol
Ácido acético, éster 2-metilpropílico
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilpropílico
1-Propanol, 2-metil-
1-Butanol, 3-metil-, acetato
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilbutílico
1-Butanol, 3-metil
Ácido propanoico, 2-metil-
Ácido acético, éster 2-feniletílico

Tabla 6. Una composición biomimética de esta invención que comprende:

Compuesto
Acetaldehído
Acetato de etilo
Ácido propanoico
Ácido propanoico, 2-metil-, éster metílico
Etanol
Ácido acético, éster 2-metilpropílico
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilpropílico
1-Propanol, 2-metil-
1-Butanol, 3-metil-, acetato
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilbutílico
1-Butanol, 3-metil-
Ácido propanoico, 2-metil-
Ácido acético, éster 2-feniletílico

5 Tabla 7. Una composición biomimética de esta invención que comprende diversas combinaciones de compuestos seleccionados entre y que comprenden los siguientes compuestos:

%	Compuesto
aproximadamente 0.1 - aproximadamente 10	Acetaldehído
aproximadamente 0.5 - aproximadamente 25	Acetato de etilo
aproximadamente 0.1 - aproximadamente 15	2-Butanona
aproximadamente 4 - aproximadamente 99	Ácido propanoico, 2-metil-, éster metílico
aproximadamente 1.5 - aproximadamente 40	Etanol
aproximadamente 0.1 - aproximadamente 10	Ácido acético, éster 2-metilpropílico
aproximadamente 0.1 - aproximadamente 15	Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilpropílico
aproximadamente 0.1 - aproximadamente 10	1-Propanol, 2-metil
aproximadamente 0.5 - aproximadamente 25	1-Butanol, 3-metil-, acetato
aproximadamente 0.5 - aproximadamente 25	Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilbutílico
aproximadamente 2 - aproximadamente 50	1-Butanol, 3-metil
aproximadamente 10 a aproximadamente 99	Ácido propanoico, 2-metil
aproximadamente 0.1 - aproximadamente 10	Ácido acético, éster 2-feniletílico

10 Con respecto a cualquier composición de FFC de esta invención, se contempla que cualquier componente compuesto de la misma, incluyendo cualquier componente de compuesto descrito o inferido en este documento, tal como, pero no limitado a, cualquier componente en las tablas 1-7 y 10 e isómeros estructurales y/u homólogos de carbono y metileno de los mismos - pueden estar presentes en una cantidad o un intervalo por separado y aparte de cualquier otro componente de la composición. De acuerdo con lo anterior, sin limitación, cada uno de tales componentes del compuesto puede estar presente en una cantidad de o un intervalo de aproximadamente 0.1 % en peso. (o menos) aproximadamente 0.2 % en peso, aproximadamente 0.3 % en peso, o aproximadamente 0.4 % en peso, ... o/a aproximadamente 1.0 % en peso, aproximadamente 1.1 % en peso, aproximadamente 1.2 % en peso, aproximadamente 1.3 % en peso, o aproximadamente 1.4 % en peso ... o/a aproximadamente 2.0 % en peso, aproximadamente 2.1 % en peso, aproximadamente 2.2 % en peso, aproximadamente 2.3 % en peso, o aproximadamente 2.4 % en peso ... o/a aproximadamente 3.0 % en peso, aproximadamente 3.1 % en peso, aproximadamente 3.2 % en peso, aproximadamente 3.3 % en peso, o aproximadamente 3.4 % en peso ...o/a aproximadamente 4.0 % en peso, aproximadamente 4.1 % en peso, aproximadamente 4.2 % en peso, aproximadamente 4.3 % en peso, o aproximadamente 4.4 % en peso ... o/a 5.0 % en peso, aproximadamente 5.1 % en peso, aproximadamente 5.2 % en peso, aproximadamente 5.3 % en peso, o aproximadamente 5.4 % en peso ... o/a aproximadamente 6.0 % en peso, aproximadamente 6.1 % en peso, aproximadamente 6.2 % en peso, aproximadamente 6.3 % en peso, o aproximadamente 6.4 % en peso ... o/a aproximadamente 7.0 % en peso, aproximadamente 7.1 % en peso, aproximadamente 7.2 % en peso, aproximadamente 7.3 % en peso, o aproximadamente 7.4 % en peso ... o/a aproximadamente 8.0 % en peso, aproximadamente 8.1 % en peso, aproximadamente 8.2 % en peso, aproximadamente 8.3 % en peso, o aproximadamente 8.4 % en peso ... o/a aproximadamente 9.0 % en peso, aproximadamente 9.1 % en peso, aproximadamente 9.2 % en peso, aproximadamente 9.3 % en peso, o aproximadamente 9.4 % en peso ... o/a aproximadamente 10.0 % en peso; y o/a aproximadamente 10.1 % en peso ... o/a aproximadamente 20.0 % en peso, de acuerdo con tal variación incremental; o/a aproximadamente 20.1 % en peso ... o/a aproximadamente 30.0 % en peso, de acuerdo con tal variación incremental; o/a aproximadamente 30.1 % en peso ... o/a aproximadamente 40.0 % en peso, de acuerdo con tal variación incremental; o/a aproximadamente 40.1 % en peso ... o/a aproximadamente 50.0 % en peso, de acuerdo con tal variación incremental; o/a aproximadamente 50.1 % en peso ... o/a aproximadamente 60.0 % en peso, de acuerdo con tal variación incremental; o/a aproximadamente 60.1 % en peso ... o/a aproximadamente 70.0 % en peso, de acuerdo con tal variación incremental; o/a aproximadamente 70.1 % en peso ... o/a aproximadamente

80.0 % en peso, de acuerdo con tal variación incremental; o/a aproximadamente 80.1 % en peso ... o/a aproximadamente 90.0 % en peso, de acuerdo con tal variación incremental; o/a aproximadamente 90.1 % en peso ... o/a aproximadamente 99.9 % en peso (o más), de acuerdo con tal variación incremental. Del mismo modo, sin limitación, cualquier composición de esta invención, independientemente de la identidad o cantidad de cualquier componente o combinación de compuesto particular, puede estar presente en cantidad (% en peso) o un intervalo de % en peso incrementalmente variable, como se describe anteriormente, desde 0.1 % en peso a 99.9 % en peso de cualquier composición o medio (por ejemplo, dentro de cualquier intervalo desde aproximadamente 0.1 % en peso a aproximadamente 1.0 % en peso, aproximadamente 2.0 % en peso, aproximadamente 4.0 % en peso o a aproximadamente 10.0 % en peso) incorporado en el mismo o el artículo o sustrato sobre el mismo aplicable.

A menos que se indique lo contrario, se debe entender que todos los números que expresan cantidades, concentraciones o cantidades de componentes o ingredientes, propiedades tales como peso molecular, condiciones de reacción, etc., usados en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones están modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". De acuerdo con lo anterior, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se pretende obtener mediante la presente invención. Como mínimo, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de equivalencias al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico se debe interpretar al menos a la luz del número de dígitos significativos informados y mediante la aplicación de técnicas de redondeo ordinarias.

A pesar de que los rangos numéricos y los parámetros que establecen el amplio alcance de esta invención son aproximaciones, los valores numéricos expuestos y los ejemplos se informan de la manera más precisa posible. Sin embargo, cualquier valor numérico puede contener un cierto error resultante de la desviación estándar encontrada en una medición de prueba respectiva.

Las composiciones y procedimientos de esta invención pueden adecuadamente comprender, consistir en o consistir esencialmente en cualquier componente compuesto o cantidad/concentración del mismo divulgada, referenciada o deducida en este documento, que incluye, pero no se limita a, cualquier componente compuesto en las tablas 1-7 y 10, junto con cualquier isómero estructural de los mismos, homólogos de carbono y/o metileno de cualquiera de dichos componentes de alcohol, componente de aldehído, componente de cetona, componente de ácido y/o componente de éster, ya sea la unidad estructural derivado de ácido y/o derivado de alcohol del mismo. Independientemente de la cantidad/concentración, cada uno de tales componentes del compuesto o unidades estructurales/sustituyentes del mismo se puede distinguir composicionalmente, se contrasta de forma característica y se puede usar junto con las presentes composiciones y procedimientos separados y aparte de otra dicha cantidad/concentración de componente u otro componente compuesto (o unidad estructural/sustituyente) o cantidad/concentración. De acuerdo con lo anterior, se debe entender que las composiciones y/o procedimientos de la invención, como se describe en este documento ilustrativamente, se pueden poner en práctica o utilizar con cambio en la cantidad o concentración en ausencia de cualquier un compuesto componente (o unidad estructural y/o sustituyente del mismo), tal compuesto (o unidad estructural/sustituyente del mismo) o cantidad/concentración del mismo que puede o no ser descrita, referenciada o inferida específicamente en este documento, el cambio o la ausencia del mismo pueden o no ser específicamente descritos, referenciados o inferidos en este documento.

En realizaciones preferidas, una composición biológicamente eficaz de tales FFC (preparada como una mezcla líquida) se volatiliza fácilmente a temperatura ambiente y se difunde a lo largo de un espacio cerrado para inhibir y/o matar hongos contaminantes (mohos) no deseados en superficies que se desea que estén libres de tales microbios dañinos. La mezcla se puede aplicar como una pulverización (por ejemplo, la lata con ingredientes a presión) o simplemente colocarse en un recipiente y dejar que se evapore en el recipiente cerrado o la bolsa sellada.

Independientemente, las composiciones de FFC de esta invención se pueden incorporar en una variedad de composiciones de uso final, limitadas solo por aplicación. Tales composiciones incluyen, pero no se limitan a, aquellas dirigidas a alimentos o nutrientes humanos/animales, higiene personal, cuidado de la salud, aplicaciones agrícolas, industriales, residenciales, médicas y de consumo. En ciertas realizaciones no limitantes, una composición de FFC y/o componente(s) de la misma pueden estar presentes a aproximadamente el 0.1% en peso o menos a aproximadamente el 99.9% en peso o más de una composición de uso final particular. Tal nivel de incorporación está limitado solo por el efecto antimicrobiano deseado y/o consideraciones de formulación.

Las presentes composiciones de FFC, bajo niveles de dosis eficaces, son eficaces para matar muchos patógenos de plantas, hongos que pueden causar deterioro de alimentos, microbios que pueden causar enfermedades humanas importantes y microbios que pueden ensuciar superficies de trabajo, hogares y otros edificios. Una lista no exclusiva de tales aplicaciones está a continuación:

1. Para el tratamiento de quesos almacenados o en preparación para controlar la contaminación de las superficies con moho antiestético y el posible deterioro de los bloques de queso.

2. Para el tratamiento de diversas partes de plantas almacenadas, incluidas raíces, tubérculos, tallos, semillas y otros órganos, que eventualmente se pueden utilizar para la preparación de alimentos para la siembra y la reforestación o para fines agrícolas.

5 3. Para su uso en la descontaminación de edificios que pueden tener superficies ya sea con moho o estar infestados hasta el punto de que se puede desarrollar un problema de moho.

10 4. Para su uso en la conservación de basura mientras está en el envío a través de largos viajes marítimos de un puerto a otro para la eventual fermentación en productos relacionados con la energía.

5. Para la descontaminación de suelos que pueden albergar microbios que son patógenos de plantas potenciales.

6. Para el tratamiento de pacientes con tuberculosis y otras infecciones por micobacterias.

15 7. Para el tratamiento para controlar las infecciones nasales y limpiar las vías de paso nasal.

8. Para combinar con polímeros específicamente diseñados que se pueden usar para envolver y así preservar materiales que incluyen alimentos, fibras y otros artículos para un almacenamiento seguro a más largo plazo.

20 Más generalmente, las composiciones de esta invención se pueden usar para inhibir el crecimiento o matar un organismo seleccionado del grupo que consiste en un hongo, una bacteria, un microorganismo y una gama de otros microbios o plagas. Usando procedimientos bien conocidos para los expertos en el arte, dicha composición se pone en contacto con el organismo en una cantidad al menos parcialmente eficaz para matar o inhibir el crecimiento del organismo. Alternativamente, se puede usar para tratar desechos humanos o animales, por ejemplo, como un
25 componente de un tratamiento o gestión de aguas residuales o sólidos. Tales composiciones también son útiles para descontaminar desechos humanos y animales, por ejemplo, disminuir o eliminar la contaminación bacteriana y fúngica. Aún más, dicha composición se puede usar para tratar o prevenir moho en materiales de construcción y en edificios poniendo en contacto el edificio, los materiales de construcción o los espacios entre los materiales de construcción con una cantidad eficaz de los mismos o vapores de los mismos. Con el único fin de ilustrar, una
30 cantidad eficaz de dicha composición se puede usar sola o en combinación con otros fumigantes o agentes activos en una habitación o, alternativamente, durante fumigaciones de edificios enteros.

35 Cuando se usa en aplicaciones agrícolas, la invención proporciona un procedimiento para tratar o proteger frutas, semillas, plantas o el suelo que rodea las plantas de una infestación por un organismo tal como un hongo o una bacteria, poniendo en contacto el microorganismo con una cantidad eficaz de una o más composiciones del tipo descrito en este documento.

40 Como se discutió anteriormente, la presente invención proporciona un procedimiento para prevenir, tratar, inhibir y matar una infección microbiana bacteriana, fúngica, viral y/u otra infección microbiana. Dicho procedimiento puede comprender la administración a un artículo, animal/mamífero o sustrato de planta, que tenga dicha infección o crecimiento o que sea capaz de soportar dicha infección o crecimiento, una cantidad eficaz de una composición de la invención - sola o como se pueda incorporar en una composición o formulación. De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona una o más composiciones para uso farmacéutico, personal (por ejemplo, sin limitación, cosmético), industrial y/o agrícola.

45 El tratamiento microbiano se puede lograr poniendo en contacto una bacteria, hongo, virus y/u otro microbio con una cantidad eficaz de una composición de la invención. El contacto puede tener lugar in vitro o in vivo. El "contacto" significa que dicha composición de esta invención y dicho microbio se juntan de una manera suficiente para prevenir, inhibir y/o eliminar la infección microbiana y/o el crecimiento. Las cantidades de dicha composición eficaz para tal
50 tratamiento se pueden determinar empíricamente, y hacer tales determinaciones está dentro de la experiencia en la técnica. La inhibición incluye tanto la reducción como la eliminación del crecimiento/actividad microbiana.

55 Las composiciones de esta invención se pueden administrar o poner en contacto con una superficie de sustrato humano, animal o vegetal, o de un artículo mediante cualquier ruta apropiada, que incluye, pero no se limita a vía oral o nasal (por ejemplo, para aplicaciones farmacéuticas o de cuidado personal), y por vía tópica, como por polvos, gránulos, líquidos, aerosoles, ungüentos, lociones o cremas. De acuerdo con lo anterior, las composiciones de la invención pueden comprender los compuestos componentes respectivos en mezcla con uno o más portadores aceptables y, opcionalmente, con uno o más compuestos u otros materiales. Dicho portador debería ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros componentes/ingredientes de la formulación y no ser perjudiciales para
60 el efecto o aplicación deseados.

65 Independientemente de la ruta de administración, tratamiento o administración seleccionada, las composiciones de la invención se pueden formular para proporcionar concentraciones o formas de dosificación aceptables por procedimientos convencionales conocidos para los expertos en el arte. La cantidad o concentración de cualquiera de dichos composiciones o componentes de las mismas, con o sin un portador, variará dependiendo del microbio /sustrato/artículo diana que se está tratando, el modo particular de administración/suministro y todos los demás

factores descritos anteriormente. La cantidad combinada con un material portador generalmente será aquella cantidad de dicha composición que proporcione la concentración más baja o mínima eficaz para producir un efecto antimicrobiano deseado.

5 Las cantidades o concentraciones relativas de una composición de FCC y otro componente opcional en las composiciones de la presente invención pueden variar ampliamente dentro de los intervalos eficaces, como se demuestra en los ejemplos que siguen. Las concentraciones y/o dosis usadas se seleccionan preferiblemente para lograr una actividad aumentada o incrementada con respecto a los componentes individuales de la técnica anterior solos y/o para maximizar la actividad de la composición a la(s) concentración(es) eficaz(ces) más baja(s) del componente. De acuerdo con lo anterior, las proporciones en peso y/o concentraciones porcentuales que producen tal actividad potenciada dependen no solo de la composición de FCC específica usada, sino de la aplicación específica de uso final de la composición que incluye, pero no se limita a, clima, composición del suelo, naturaleza del sustrato, artículo y/o huésped microbiano que se va a tratar y/o exposición potencial a un microbio particular.

15 Los procedimientos de preparación de formulaciones o composiciones incluyen la etapa de llevar una composición de esta invención, o uno o más compuestos componentes, en asociación con un portador y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo dicha composición/componente en asociación con un portador (por ejemplo, un portador líquido o sólido finamente dividido) y, si se desea, dando forma al producto.

20 Las formulaciones relacionadas con la invención, ya sea una composición de esta invención o cualquier artículo de fabricación que incorpore dicha composición, pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, polvos, gránulos, pasta o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como lavados (por ejemplo, neblinas, pulverización o boca) y similares, que contienen cada uno una cantidad predeterminada de una composición de la invención o componentes de la misma.

30 En otros sólidos, tales formulaciones (por ejemplo, cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), una composición de esta invención se puede mezclar con uno o más de otros ingredientes activos y/o portadores aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o espesantes, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la solución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones también pueden comprender agentes reguladores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

45 Un comprimido se puede hacer mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos se pueden preparar usando un aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, almidón glicolato de sodio o carboximetil celulosa de sodio reticulada), surfactante o agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina apropiada una mezcla del (los) ingrediente(s) activo(s) en polvo humedecidos con un diluyente líquido inerte.

50 Los comprimidos y otras formas sólidas de tales composiciones o artículos que incorporan tales composiciones, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, se pueden puntuar o preparar opcionalmente con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en el arte de formulación. También se pueden formular para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente o ingredientes activos en el mismo usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices de polímeros, liposomas y/o microesferas. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición en la que liberan el (los) ingrediente (s) activo (s) solo (s), o preferencialmente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de forma retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El (los) ingrediente(s) activo(s) también pueden estar en forma microencapsulada.

65 Las formas líquidas para uso o administración de esta invención incluyen emulsiones, mezclas, microemulsiones, soluciones farmacéuticamente o de otro tipo aceptables (incluyendo aquellas en agua destilada o purificada), suspensiones, nieblas, jarabes y elixires. Además de una composición de la invención o componente(s) del compuesto (s) de la misma, una forma líquida puede contener diluyentes inertes u otros usados comúnmente en la

técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, maní, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos.

5 Además de diluyentes inertes, tales composiciones y/o artículos relacionados también pueden incluir adyuvantes tales como, pero sin limitación, agentes humectantes, emulsionantes y de suspensión (por ejemplo, agentes adhesivos y esparcidores para aplicaciones agrícolas), colorantes, perfumantes y uno o más otros agentes conservantes. Las suspensiones pueden comprender agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

15 Las formulaciones de composiciones de esta invención y/o artículos o productos que incorporan tales composiciones de la invención para administración/suministro de sustrato o tópico (por ejemplo, en el contexto de un producto de higiene o para el cuidado personal) de esta invención, incluyen polvos, aerosoles, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. Tales ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de una composición inventiva de esta invención, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto y otras gomas, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas., bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos. Del mismo modo, los polvos y aerosoles pueden contener excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles pueden contener además propelentes habituales tales como hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano, o se pueden suministrar bajo presión positiva de aire.

25 Ejemplos de portadores acuosos y no acuosos apropiados que se pueden emplear en las composiciones de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas apropiadas de los mismos, aceites vegetales, tal como aceite de oliva, y ésteres orgánicos, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de surfactantes.

35 Las formas de depósito de artículos o productos que incorporan una composición de esta invención se pueden preparar formando matrices de microcápsulas de un ingrediente o ingredientes activos en polímeros biodegradables tales como polilactido-poliglicólido. Dependiendo de la proporción del (los) ingrediente (s) activo (s) con el polímero, y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del (los) ingrediente (s) activo (s). Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli (ortoésteres) y poli (anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el ingrediente o los ingredientes activos en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

40 Además, las composiciones de la presente invención y/o los artículos o productos que incorporan dicha composición pueden comprender agentes químicos y/o biológicos, antimicrobianos o antifúngicos, antibacterianos y antimicrobianos, multisitio y/o de sitio único adicionales, de un tipo similar y/o diferentes modos de acción, como será bien conocido para los expertos en el arte. Tales agentes pueden incluir, pero no se limitan a, bicarbonato de potasio, sílice, cobre o compuestos basados en azufre y/o aceites botánicos (por ejemplo, aceite de neem). Además, tales agentes pueden incluir, pero sin limitación, azoles; polienos, tales como anfotericina B y nistatina; inhibidores de nucleótidos de purina o pirimidina, tales como flucitosina; polioxinas, tales como nikomicinas; otros inhibidores de quitina, inhibidores del factor de elongación, tales como sordarina y análogos de los mismos; inhibidores de la respiración mitocondrial, inhibidores de la biosíntesis de esteroides y/o cualquier otra composición fungicida o biocida conocida para los expertos en el arte apropiada para tratar o prevenir levaduras o infecciones fúngicas, bacterianas, virales y/u otras infecciones microbianas de plantas, otros sustratos, animales y/o humanos, o como se puede encontrar en o en cualquier artículo de fabricación.

55 En ciertas realizaciones, los artículos o productos que incorporan las composiciones de la presente invención también pueden incluir uno o más componentes conservantes conocidos en la técnica, incluyendo, pero no limitando a, ácido sórbico o benzoico; las sales de sodio, potasio, calcio y amonio de ácido benzoico, sórbico, hidroximetilglicólico y propiónico; y metil, etil, propil y butil parabeno y combinaciones de los mismos.

60 Las composiciones de esta invención pueden contener un compuesto que comprende un grupo funcional ácido o básico y, de este modo, son capaces de formar sales farmacéuticamente o de otro modo aceptables con ácidos y bases farmacéuticamente o de otro modo aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales de adición de ácido y base inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de tales compuestos. Independientemente, tales sales se pueden preparar haciendo reaccionar dicho compuesto con un ácido o base apropiado. Las bases apropiadas incluyen el hidróxido, carbonato o bicarbonato de dicho catión metálico aceptable, amoníaco o dicha amina primaria, secundaria o terciaria orgánica aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérricas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilamina, dietilamina,

etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares. Las sales de adición de ácido representativas incluyen el bromhidrato, clorhidrato, sulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftalato, mesilato, las sales de glucoheptonato, lactobionato, y laurilsulfonato y similares.

Las composiciones de la presente invención se pueden usar como dispersiones o emulsiones acuosas y están disponibles en forma de un concentrado que contiene una alta proporción de una composición de FFC (con o sin un surfactante), como se puede diluir (por ejemplo, agua u otro componente fluido) antes de su uso. Se pueden preparar concentrados emulsificables o emulsiones disolviendo una composición de la presente invención, junto con cualquier otro ingrediente activo deseado, en un solvente que contiene opcionalmente un agente humectante o emulsionante y luego añadiendo la mezcla a agua que también puede contener un agente humectante o emulsionante. Los solventes orgánicos apropiados incluyen alcoholes y éteres de glicol. Estos concentrados deberían ser capaces de soportar el almacenamiento durante periodos prolongados y después de dicho almacenamiento ser capaces de dilución con agua para formar preparaciones acuosas que permanezcan homogéneas durante un tiempo suficiente para permitir su aplicación mediante un equipo de pulverización convencional.

Dependiendo del tipo de aplicación de uso final, los artículos o productos que incorporan composiciones de la presente invención también pueden comprender cualquier otro componente requerido que incluye, pero no se limita a, portadores sólidos o líquidos para facilitar la aplicación, surfactantes que incluyen biosurfactantes, coloides protectores, adhesivos, espesantes, agentes tixotrópicos, agentes de penetración, estabilizadores, secuestrantes, agentes de textura, agentes aromatizantes (por ejemplo, para aplicaciones de alimentos/bebidas procesadas o después de la cosecha), azúcares, colorantes, etc., como será bien conocido para los expertos en el arte

Por ejemplo, tales composiciones y/o artículos o productos relacionados se pueden usar para fines agrícolas y formularse con dicho portador o diluyente. Las composiciones se pueden aplicar, formular o no formular, directamente al follaje de una planta, a las semillas o a otro medio en el que las plantas se cultivan o se sembrarán, o se pueden pulverizar, espolvorear o aplicar como una crema o pasta de formulación, o se pueden aplicar en forma de vapor o como gránulos de liberación lenta. La aplicación puede ser a, o cerca de, cualquier parte de la planta incluyendo el follaje, tallos, ramas o raíces, o al suelo que rodea las raíces, frutas o vegetales (antes o después de la cosecha) o a la semilla antes de sembrar, o al suelo en general, al agua de riego o a los sistemas de cultivo hidropónico. Las composiciones de la invención también pueden inyectarse en plantas o pulverizarse sobre la vegetación (incluyendo frutas y verduras) usando técnicas de pulverización electrodinámica o de bajo volumen o presión, o cualquier otro procedimiento de tratamiento conocido en la técnica o la industria.

En ciertas realizaciones, ya sean o no agrícolas o relacionados con el procesamiento de alimentos, las composiciones y/o artículos o productos que incorporan composiciones de esta invención pueden estar en forma de gránulos o polvos para espolvoreo que comprenden un diluyente o portador sólido, por ejemplo, rellenos (también tal como arena para gatos o animales), caolín, bentonita, tierras de diatomeas, dolomita, carbonato de calcio, talco, magnesia en polvo, tierra de batán, yeso, tierra de diatomeas y arcilla de porcelana. Tales gránulos pueden ser gránulos preformados apropiados para aplicación sin tratamiento adicional. Estos gránulos se pueden preparar ya sea impregnando pellas de carga con una composición de la invención u otro ingrediente activo o peletizando una mezcla de ingrediente activo y carga en polvo. Por ejemplo, las composiciones para preparar semillas pueden incluir un agente (por ejemplo, un aceite mineral) para ayudar a la adhesión de la composición a la semilla; alternativamente, el ingrediente activo puede formularse para fines de preparar semillas usando un solvente orgánico. Las composiciones también pueden estar en forma de polvos humectables o gránulos dispersables en agua que comprenden agentes humectantes o dispersantes para facilitar la dispersión en líquidos. Los polvos y gránulos también pueden contener cargas y agentes de suspensión. Alternativamente, las composiciones se pueden usar en una forma microencapsulada. También se pueden formular en formulaciones poliméricas biodegradables para obtener una liberación lenta y controlada de la sustancia activa.

Independientemente, tales formulaciones sólidas que comprenden dicha composición de la invención se pueden proporcionar en una gama de productos o artículos en formas, figuras o molduras variables, incluyendo, pero no limitando a, cilindros, varillas, bloques, cápsulas, comprimidos, píldoras, pellas (por ejemplo, también alimentos para mascotas), tiras, espinas y similares. Alternativamente, el material granulado o en polvo se puede prensar en comprimidos o se puede usar para llenar una gama de cápsulas o armazones. Como se discutió anteriormente, cualquiera de dicha composición de esta invención, ya sea formulada o no, se puede usar sola, aplicada a un sustrato o incorporada en un producto o artículo de fabricación para una amplia gama de aplicaciones de uso final, que incluyen, pero no se limitan a composiciones farmacéuticas, personales, industriales y agrícolas y procedimientos de uso relacionados.

Ejemplos de la invención

Los siguientes ejemplos y datos no limitantes ilustran diversos aspectos y características relacionados con las composiciones y/o procedimientos de la presente invención, que incluyen la preparación y el uso de composiciones antimicrobianas que comprenden diversos compuestos componentes, como se describe en este documento. En

comparación con la técnica anterior, las presentes composiciones y procedimientos proporcionan resultados y datos que son sorprendentes, inesperados y contrarios a los mismos. Aunque la utilidad de esta invención se ilustra mediante el uso de varias composiciones y compuestos componentes que se pueden usar con esta, los expertos en el arte entenderán que se pueden obtener resultados comparables con varias otras composiciones y compuestos componentes, que son proporcionales al alcance de esta invención.

Ejemplo 1a

Aislamiento fúngico. En marzo de 2007, se tomaron varios tallos pequeños de *Ananas ananassoides* de una planta que crecía en la Amazonía boliviana. Se recolectaron en una región de sabana contigua a la selva a 12°40'07" S y 68°41'58" O y, fueron inmediatamente transportados para el análisis. Varias piezas pequeñas (2-5 pulgadas) de los tallos se cortaron y se colocaron en etanol al 70% durante 30 segundos bajo una campana de flujo laminar. Se usó un par de pinzas estériles para sostener los tallos por separado en la llama para eliminar el exceso de alcohol. A continuación, se cortaron pequeños trozos de tejido interno (debajo de la corteza) y se colocaron en agar de dextrosa de patata (PDA) con un aislado 620 de *M. albus* activamente en crecimiento, en un lado de la placa que tenía un pocillo central eliminado de este. Efectivamente, esta técnica se puede usar para seleccionar otros aislados de *Muscodor* (Worapong et al., 2001a&b). Durante un período de incubación de dos semanas, las placas de Petri se examinaron periódicamente para detectar cualquier crecimiento fúngico. Una vez que se observaron las hifas, las puntas de hifas se cortaron asépticamente del agar y se colocaron en PDA nuevo. El aislado se encontró de esta manera. Se usaron varias placas de Petri (PDA) para determinar si el hongo producía antibióticos volátiles. Este procedimiento incluyó eliminar una sección de 1 pulgada del agar del centro de la placa, colocar un tapón del aislado en un lado y dejar que crezca durante varios días, y luego colocar los organismos de prueba en el otro lado del espacio.

Ejemplo 1b

Taxonomía fúngica. El hongo en la naturaleza está asociado con *A. ananassoides* y es un deuteromicetos que pertenece a mycelia sterilia. Las colonias fúngicas blanquecinas en todos los medios analizados cuando se dejan fuera de la luz solar directa. Las colonias fúngicas rosadas en todos los medios probados cuando se los expone a la luz solar directa. Las esporas u otros cuerpos fructíferos no se observaron bajo ninguna condición. Las hifas (0.6-2.7 μm) comúnmente crecen por ramificación, a veces formando espirales perfectas (ca. 40 μm) y teniendo cuerpos similares a la coliflor (3.5-14 μm) asociados a ellas. La *Hyphae*, de reciente desarrollo, crecen en un patrón ondulado cuando se observan en todas las condiciones con todos los medios probados. El *Mycelium* en PDA cubre la placa en 3-4 semanas y produce un olor afrutado.

Holotipo: endofítico en *A. ananassoides*. Las colecciones se hicieron en la Amazonía boliviana en el área del río Heath. El holotipo proviene de un solo tallo de *A. annisoides*, recolectado en el país del río Heath. Un cultivo vivo se deposita como *Muscodor crispans* en la colección micológica viva de la Montana State University como número de adquisición 2347 (2/29/2008). Ambas secuencias de 18S ADNr e ITS de *M. crispans* (B-23) han sido enviadas al GenBank con el número de serie asignado-EU195297.

Telomorfo: El telomorfo de este hongo se puede encontrar en *Xylariaceae*, basándose en la similitud de los datos de la secuencia del gen 18S ADNr entre *M. crispans* y la familia *Xylariaceae* en la base de datos GenBank (Bruns et al., 1991; Reynolds and Taylor 1993; Mitchell et al., 1995; Guarro et al., 1999; Taylor et al., 1999). Los datos moleculares de las secuencias del gen 18S ADNr de *M. crispans* muestran una homología del 100% con aislado *M. albus* 620.

Etimología: El nombre del género, *Muscodor*, está tomado de la palabra latina que significa mohoso. Esto es consistente con la calidad del olor producido por los primeros tres aislados del género. El nombre de la especie es *crispans*, del latín que significa "rizado, ondulado". Las hifas crecen en patrones ondulados regulares.

Ejemplo 2a

Microscopía electrónica de barrido. La microscopía electrónica de barrido se realizó en el aislado del ejemplo 1 después de los procedimientos descritos por Castillo et al. (2005). Las piezas de agar y las piezas de plantas huésped que soportan el crecimiento fúngico se colocaron en paquetes de papel de filtro, luego se colocaron en glutaraldehído al 2% en solución reguladora de cacodilato de sodio 0.1 M (pH 7.2 – 7.4) con Triton X 100, un agente humectante, se aspiró durante 5 minutos y se dejó durante la noche. Al día siguiente, las piezas se lavaron seis X cambios de 15 minutos en solución reguladora de agua 1: 1, seguidos de un cambio de 15 minutos en etanol al 10%, un cambio de 15 minutos en etanol al 30%, un cambio de 15 minutos en 50% etanol, cinco X cambios de 15 minutos en etanol al 70%, y luego se dejaron durante la noche o más en el etanol al 70%. Luego se enjuagaron seis veces durante 15 minutos en un 95% y luego tres cambios de 15 minutos en etanol al 100%, seguidos por tres cambios de 15 minutos en acetona. El material microbiano se secó en puntos de manera crítica, se recubrió mediante recubrimiento con pulverización de oros y las imágenes se registraron con un XL30 ESEM FEG en el modo de alto vacío usando el detector Everhart-Thornley. Las hifas se midieron usando el software Image J disponible en línea.

Ejemplo 2b

Biología fúngica. El hongo produjo un micelio blanco en un medio a base de agua. No se han encontrado estructuras de fructificación o esporas de ningún tipo bajo ninguna condición de laboratorio. Las hifas tienden a entrelazarse para formar espirales. Otras especies de *Muscodor* también tienen esta tendencia (Worapong et al., 2001a). Las hifas de reciente desarrollo tienden a crecer de forma ondulante en lugar de a un patrón recto típico y comúnmente se entrelazan para formar estructuras similares a cuerdas. Este patrón de crecimiento puede demostrar ser útil como herramienta de diagnóstico para identificar este organismo en estudios de inoculación in vivo. El hongo también produce estructuras parecidas a la coliflor que parecen estar conectadas a las hifas por pequeños filamentos. Estos cuerpos no germinan bajo ninguna condición y, de este modo, parecen no ser esporas. Esta observación parece ser única para *Muscodor* spp. y no se ha observado que esté presente en ninguna otra especie fúngica en general.

Ejemplo 3a

Crecimiento y almacenamiento fúngico. Se determinó que el aislado no produjo esporas ni ningún otro cuerpo fructífero cuando varias piezas de hojas de clavel se colocaron encima de un aislado de crecimiento activo para estimular la producción de esporas, y no se observaron tales estructuras después de una semana de incubación a 23 °C. El hongo también se sembró en varios medios diferentes, incluyendo Agar de celulosa (CA), Agar de malta (MA) y Agar de harina de maíz (CMA) para determinar si se mostraría la producción de esporas. Con la excepción de una tasa de crecimiento más lenta en algunos de los medios, ninguna otra característica del hongo parece ser diferente, y no se observaron cuerpos fructíferos o esporas.

Se usaron varios procedimientos para almacenar el hongo aislado como un cultivo puro, uno de los cuales fue la técnica de papel de filtro. El hongo también se dejó crecer en PDA, y luego se cortó en pequeños cuadrados que se colocaron en viales que contienen 15% de glicerol y se almacenaron a -70 °C. El hongo también se almacenó a 4 °C por un procedimiento similar, usando agua destilada en lugar de glicerol. Sin embargo, el procedimiento más eficaz de almacenamiento fue en semillas de cebada estériles infestadas a -70°C.

Ejemplo 3b

Se examinaron también otras características más clásicas de *M. crispans* aislada y se compararon con *M. albus*. *Muscodor crispans* produjo un micelio de crecimiento lento, denso y de color blanco en todos los medios probados, a menos que se colocara bajo la luz solar directa, lo que causó que el micelio desarrollara un color rosa claro. Esto contrasta con *M. albus* que produce un micelio blanquecino en todos los medios y condiciones comparables evaluadas (Worapong et al., 2001a). Las hifas jóvenes también crecieron de forma ondulante, en lugar de la característica forma de tipo cable recta que comúnmente se observa con *M. albus* (Strobel et al., 2001). No se forman esporas en ningún medio, incluidos los que contienen el material de la planta huésped o las hojas de clavel. Las hifas variaban en diámetro (0.8-3.6 µm) y a menudo se entrelazaban para formar estructuras más complejas e incluso bobinas de hifas (Figuras 1-3). Estas hifas generalmente eran más grandes que las de *M. albus* (Worapong et al., 2001a).

Ejemplo 4

Análisis cualitativo de compuestos volátiles. El procedimiento usado para analizar los gases en el espacio aéreo sobre un cultivo de 10 días de micelio que crece en placas de Petri fue comparable al usado en el aislado original de la cepa cz-620 de *M. albus* (Strobel et al., 2001). Primero, se colocó una jeringa cocida "Solid Phase Micro Extraction" (Supelco) que consistía en divinilbenceno/carbureno 50/30 sobre polidimetilsiloxano sobre una fibra flexible estable a través de un pequeño orificio perforado en el costado de la placa de Petri que presentaba el crecimiento fúngico. La fibra se expuso a la fase de vapor del hongo durante 45 minutos. La jeringa se insertó luego en el puerto de inyección sin división de un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890 que contenía una columna capilar ZB Wax LD de 30 m X 0.25 mm. con un espesor de película de 0.50 mm. La temperatura de la columna se programó de la siguiente manera: 30 °C, durante 2 min seguido de 220 °C a 5 °C/min. El gas portador era helio de ultra alta pureza (distribuidor local), y la presión inicial del cabezal de columna era de 50 kPa. Antes de atrapar los volátiles, la fibra se acondicionó a 240 °C, durante 20 minutos bajo un flujo de gas de helio. Se utilizó un tiempo de inyección de 30 segundos para introducir la fibra de muestra en el GC. El cromatógrafo de gases se conectó a un detector selectivo de masas Hewlett Packard 5973 (espectrómetro de masas) que funciona a resolución de la unidad. La adquisición de datos y el procesamiento de datos se realizaron en el sistema de software Hewlett Packard ChemStation. La identificación inicial de los compuestos en la mezcla volátil producida por el hongo se realizó a través de la comparación de bibliotecas usando la base de datos NIST.

Ejemplo 5a

Aislamiento de ADN fúngico y adquisición de información de secuencia de ADN de ITS-5.8S. Un cultivo de 10 días del hongo presente, que crece en PDA, se usó como fuente de ADN después de la incubación a 25 °C usando la homogeneización rápida: kit de amplificación de ADN de hoja de Planta (Cartagen, Washington, EE. UU.). Algunas de las técnicas usadas fueron comparables a las usadas para caracterizar genéticamente otros aislados de *M. albus*

de Australia (Ezra et al., 2004). Se cortaron cuadrados de los micelios cultivados (0.5 cm²) a partir de cultivos de una semana. El agar se raspó desde el fondo de las piezas, con el fin de excluir la mayor cantidad de agar posible. Las piezas se colocaron en viales de Eppendorf de 1.5 ml y se incubaron durante aproximadamente 10 minutos a -80 °C. El ADN se extrajo después de acuerdo con las instrucciones del fabricante del kit. El ADN extraído se diluyó (1: 9) en agua estéril de doble destilación y se usaron muestras de 1 µl para la amplificación por PCR. La secuencia de ADN de ITS1, 5.8S ITS2 se amplificó mediante la reacción en cadena de la polimerasa usando los cebadores ITS 1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGGG) y ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC). El procedimiento de PCR se llevó a cabo en una mezcla de reacción de 14 µl que contenía 1 µl de ADN extraído del cultivo fúngico (dilución 1: 9), 0.5 µl de cebador ITS1 y 0.5 µl de cebador ITS4, 7 µl de mezcla RedMix™ más PCR con MgCl₂ 1.5 mM (GeneChoice, Inc., Maryland, EE. UU.) y 5 µl de ddH₂O grado PCR (Fisher Scientific, Wembley, Western Australia, Australia). La amplificación por PCR se realizó en un ciclador personal Biometra (Goettingen, Alemania): 96 °C, durante 5 minutos seguido de 35 ciclos de 95 °C, durante 45 segundos, 50 °C, durante 45 segundos y 72 °C, durante 45 segundos, seguido de un ciclo de 72 °C, durante 5 minutos. Los productos de PCR se examinaron usando electroforesis en gel, en un gel de agarosa al 1.3%, durante 30 minutos a 100 V con solución reguladora TAE (GelXLUltra V-2 de Labnet International, Inc., Woodbridge, NJ, EE. UU.) o sistema de células Wealtec GES, de (Wealtec Inc., Georgia, EE. UU.). Los geles se remojaron en una solución de 0.5 µg ml⁻¹ de bromuro de etidio durante 5 minutos y luego se lavaron en agua destilada durante 5 minutos. La imagen del gel se realizó bajo luz UV en un sistema Bio-Imaging (modelo 202D; DNR-Imaging Systems, Kiryat Anavim, Israel). Un producto de PCR de ~500 pb se purificó usando el kit de purificación de ADN UltraClean PCR Clean Up (MO BIO Laboratories, Inc., California, EE. UU.). Los productos purificados se enviaron para la secuenciación directa de PCR. La secuenciación se realizó en ambas hebras del producto de PCR usando cebadores ITS1 e ITS4. La secuenciación se realizó usando terminadores DYEnamic ET en un sistema de análisis MegaBACETM1000 (Danyl Biotech Ltd., Rehovot, Israel). Las secuencias se enviaron al GenBank en el sitio web de NCBI. Las secuencias obtenidas en este estudio se compararon con la base de datos GenBank usando el software BLAST en el sitio web de NCBI.

25 Ejemplo 5b

Biología molecular de *Muscodora crispans*. Se ha demostrado que las secuencias parciales de 18S ADN, ITS1, 5.8S e ITS2 son regiones altamente conservadas de ADN y, por lo tanto, muy útiles en la clasificación de organismos (Mitchell et al., 1995). Estas secuencias parciales molecularmente diferenciadoras de *M. crispans* se obtuvieron y compararon con los datos en GenBank. Después de buscar las secuencias de ADN 18S, se sometieron 525 pb de *M. crispans* a una búsqueda avanzada de BLAST. Los resultados mostraron 100% de identidad con 525 pb de *M. albus* (AF324337). El análisis comparativo de las secuencias parciales de ADN ITS 1&2 y 5.8S de *M. crispans* afecta ITS 1 y 2 de *M. albus* (AF324336), *M. roseus* (AY034664), *X. enteroleuca* CBS 651.89 (AF163033), *X. arbuscula* CBS 452.63 (AF163029) e *Hypoxylon fragiform* (HFR246218) a 95, 95, 90, 90 y 91% de homologías, respectivamente.

40 Ejemplo 5c

Aunque esta invención se describe, en parte, junto con hongos nuevos aislados, se entenderá que las variantes y mutantes de dichos hongos, como se entendería en la técnica, también se contemplan en el contexto de la presente invención. Los términos "variante" y "mutante" se pueden definir como se proporciona en la Patente de los Estados Unidos No. 6,911,338. De acuerdo con lo anterior, esta invención se puede dirigir a cepas variantes o mutantes de *M. crispans* y composiciones correspondientes de las mismas.

45 Ejemplo 6a

Pruebas de bioensayo para *M. crispans* contra patógenos de plantas. El vapor del subproducto volátil de *M. crispans* se probó para la actividad inhibidora microbiana usando una prueba relativamente simple, como se describió previamente en la literatura (Strobel, et al., 2001). Se eliminó una tira de agar (2 cm de ancho) en una placa de Petri PDA estándar y se inocularon *M. crispans* y se dejaron crecer en un lado de la placa durante aproximadamente una semana. El hongo o bacteria de prueba se inocularon en el otro lado de la placa de Petri, usando pequeños tapones de agar para los hongos. Las bacterias y levaduras se extendieron sobre el agar (1.5 cm de longitud). La placa se envolvió luego con una pieza de Parafilm y se incubó a 23°C, durante 48 horas. El efecto de *M. crispans* sobre el crecimiento de los organismos de prueba y se determinó primero mediante la verificación de la presencia o ausencia de crecimiento donde se habían producido las inoculaciones. Si se observó crecimiento, se tomaron medidas del diámetro en dos ubicaciones de las hifas fúngicas. La actividad biológica del vapor en bacterias y levaduras se evaluó mediante la estimación del grado en que su crecimiento se vio afectado como porcentaje de crecimiento en una placa de control (Strobel et al., 2001). Si no se observó crecimiento, el organismo de prueba se eliminó asépticamente de la placa de prueba y se inoculó en una placa de PDA fresca en algún momento después de la exposición al vapor con el fin de determinar la viabilidad del organismo de prueba.

Usando la metodología anterior, cuando se cultivó *M. crispans* durante 7-10 días a 23 °C en PDA, el subproducto volátil del hongo demostró ser letal para varios hongos y bacterias. Las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, así como las levaduras y cada una de las principales clases de hongos, se utilizaron como organismos de prueba.

La mayoría de los organismos de prueba se inhibieron al 100% y murieron después de una exposición de 2 días al subproducto de *M. crispans*. (Véase Tabla 8). Algunos de los organismos de prueba no sucumbieron a los volátiles de *M. crispans* después de una exposición de dos días, pero su crecimiento fue inhibido significativamente por el subproducto volátil, y se mataron después de una exposición de cuatro días. Tales organismos incluyen *Penicillium roquefortii*, *Bipolaris sorokiniana*, *Stagonospora* sp., y *Fusarium oxysporum*, entre otros.

Tabla 8. Efectos del subproducto volátil de *M. crispans* en muchos patógenos fúngicos de plantas y algunas bacterias surtidas. Los valores de inhibición se calcularon como % de inhibición del crecimiento en comparación con un organismo de prueba de control no tratado. Las pruebas se repitieron al menos 3 veces con resultados comparables. La inhibición de los organismos de prueba se registró 48 horas después de la exposición al hongo y el vapor del subproducto de hongos volátiles.

Organismo de prueba	(%) de inhibición después de 48 horas de exposición	Vivo después de 48 horas de exposición	Vivo después de 96 horas de exposición
<i>Alternaria helianthi</i>	100	N	N
<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	Y	N
<i>Bacillus subtilis</i> *	100	N	N
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	100	Y	N
<i>Botrytis cinerea</i>	100	N	N
<i>Candida albicans</i> *	100	N	N
<i>Cephalosporium gramineum</i>	100	N	N
<i>Ceratocystis ulmi</i>	100	Y	N
<i>Cochliobolus carbonum</i>	100	N	N
<i>Colletotrichum lagenarium</i>	100	N	N
<i>Curvularia lunata</i>	100	Y	N
<i>Drechslera teres</i>	100	N	N
<i>Drechslera tritici-repentis</i>	100	N	N
<i>Drechslera portulacae</i>	100	N	N
<i>Escherichia coli</i> *	100	N	N
<i>Fusarium avenaceum</i>	100	N	N
<i>Fusarium culmorum</i>	100	N	N
<i>Fusarium oxysporum</i>	100	Y	N
<i>Fusarium solani</i>	50	Y	Y
<i>Ganoderma</i> sp.	100	Y	N
<i>Geotrichum candidum</i>	100	Y	N
<i>Mycosphaerella fijiensis</i>	100	N	N
<i>Penicillium roquefortii</i>	100	Y	N
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	100	N	N
<i>Phytophthora palmivora</i>	100	N	N
<i>Pythium ultimum</i>	100	N	N
<i>Rhizoctonia solani</i>	100	N	N
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> *	90-95	N	N
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	100	N	N
<i>Stagonospora</i> sp.	100	Y	N
<i>Tapesia yallundae</i>	100	N	N
<i>Trichoderma viridae</i>	10	Y	Y
<i>Verticillium dahliae</i>	100	Y	N
<i>Xanthomonas axonipodis</i> p.v. <i>citri</i> *	100	N	N

* Indica que estos organismos fueron estriados en la placa de prueba, y se hizo una indicación de crecimiento si el desarrollo de la colonia finalmente se produjo. Después de una exposición apropiada al subproducto volátil de *M. crispans*, el área estriada se comparó con el crecimiento en la placa de control y se estimó el % de inhibición. Finalmente, cada organismo se volvió a colocar en una placa de PDA para probar la viabilidad.

Ejemplo 6b

Con referencia a la tabla 8, el efecto del vapor del subproducto volátil de *M. crispans* en *Botrytis* es bastante notable, especialmente en *B. cinerea*, la causa del moho gris de diversas plantas. Los efectos inhibidores y asesinos también son aplicables a *Botrytis allii*, que causa la pudrición de cuello de moho gris de la cebolla. Sin limitación, tales resultados sugieren que la presente invención se puede usar eficazmente para modificar la superficie del producto o la atmósfera de almacenamiento después de la cosecha para evitar el moho y problemas relacionados. Del mismo modo, tales resultados apoyan el uso de una composición de FFC de esta invención para tratar cebolla (por ejemplo, cebollas *Vidalia*), chalote y ajo producidos para prevenir o controlar el crecimiento fúngico.

Ejemplo 6c

El vapor de los volátiles de *M. crispans* también es eficaz contra muchos de los hongos que causan la descomposición y el crecimiento fúngico en el grano (por ejemplo, maíz, trigo, cebada, arroz, etc.), y esta invención se puede usar junto con diversas frutas y verduras tal como papas, remolachas, zanahorias, batatas, tales como granos, frutas o vegetales, ya sea antes o después de la cosecha, en almacenamiento o envío. De acuerdo con lo anterior, las composiciones y procedimientos de esta invención se pueden aplicar a algunos de los principales problemas relacionados con hongos en los campos de agricultura y procesamiento de alimentos, y se pueden usar para atacar organismos diana tales como, pero no limitados a, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Diplodia*, *Fusarium* y *Gibberella*. (Véase, por ejemplo, Tabla 8.)

Ejemplo 6d

El vapor del subproducto de *M. crispans* fue eficaz contra el hongo *Mycosphaerella fijiensis*. (Véase la tabla 8). De acuerdo con lo anterior, la invención se puede usar como tratamiento para la enfermedad de la Sigatoka Negra asociada a los hongos de bananas y plátanos.

Ejemplo 6e

La enfermedad del cancro cítrico amenaza la propia existencia de la industria de los cítricos en los Estados Unidos. Como se muestra en la tabla 8, el vapor del subproducto de *M. crispans* mata eficazmente al patógeno causante del cancro *Xanthomonas axonipodis* p.v. *citri*. Tales resultados sugieren que las composiciones de FFC y los procedimientos relacionados de la presente invención se pueden usar eficazmente para tratar semillas, plántulas, huertos, equipos o aparatos (incluyendo, por ejemplo, equipo y ropa de trabajo) y/o fruta cosechada para prevenir, inhibir o controlar la enfermedad de cancro.

Ejemplo 7

Como seguimiento de las pruebas y resultados del ejemplo 6, se realizaron pruebas de bioensayo con el vapor del subproducto volátil de *M. crispans* frente a diversos otros hongos y bacterias patógenos de plantas y humanos. (Véase, la tabla 9, a continuación). El hongo se cultivó en placas X con PDA en un cuadrante y se incubó durante 3-5 días a temperatura ambiente antes de la inoculación con uno o más organismos de prueba. Las placas de control se hicieron al mismo tiempo de la inoculación y se cultivaron en el mismo medio que era óptimo para el organismo de prueba individual. Los organismos de prueba, *Staphylococcus aureus* 6538, *Salmonella choleraesuis* 10708, *Escherichia coli* 11229, *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), y *Vibrio cholerae* ATCC 14035, se cultivaron en agar de soja Trypticase (TSA) en los tres cuadrantes restantes de la placa X. Tres placas de cada organismo, con controles apropiados, se expusieron al vapor del subproducto del hongo durante aproximadamente dos, cuatro y seis días a temperatura ambiente. Para verificar la viabilidad del microbio de prueba, el hongo se retiró físicamente y las placas de control y prueba se colocaron en una incubadora a 35 ± 1 °C, durante un mínimo de tres a cuatro días, con la excepción del *Mycobacterium* spp. que fueron incubadas por aproximadamente un mes adicional. Esto se hizo con el fin de determinar si el vapor del subproducto había inhibido o eliminado el organismo de prueba, y se evaluó la viabilidad del organismo. Este mismo protocolo se siguió para *Yersinia pestis* y *Bacillus anthracis*, excepto que los tiempos de exposición se cambiaron a 3 y 5 días, y *pestis* se incubó a 28 ± 1 °C y en 5% de CO₂ después de la exposición al hongo. El *Mycobacterium marinum* ATCC 927 se cultivó en agar 7H11 (Difco Co) en los tres cuadrantes restantes, usando el protocolo establecido anteriormente, y se incubó a 33 ± 1 °C. Las tres repeticiones en las pruebas con cada organismo se comportaron de manera idéntica.

Para todas las cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, también cultivadas en 7H11, se separó una sección de agar de la placa y se insertó el hongo B-23 (en PDA). Las placas se inocularon luego de un caldo de cultivo. Las placas de control, donde no había hongos presentes, también se inocularon. En cada intervalo de tiempo designado, se extrajo una sección de agar de las placas y se transfirió a una placa separada y vacía y se colocó en una incubadora a 35 ± 1 °C para determinar la viabilidad del microbio. Las placas se colocaron en una bolsa de plástico con toallas de papel humedecidas para evitar la desecación.

Se cultivaron ambas *Pseudomonas aeruginosa* 15442 y *Burkholderia thailandensis* 70038 en agar TSA. Se dejaron a temperatura ambiente durante el tiempo de crecimiento óptimo para el organismo y luego se trasladaron a una incubadora a 35 ± 1 °C y se observaron. Cabe señalar que todas las pruebas que utilizan patógenos humanos se llevaron a cabo bajo condiciones de bioseguridad estrictas y aprobadas por el gobierno federal. Todas las pruebas sobre patógenos humanos se repitieron al menos dos veces.

Tabla 9. Efectos del subproducto volátil de *M. crispans* en diversas especies de bacterias Gram + y Gram -. Los tiempos de exposición se variaron de acuerdo con el organismo particular de interés, y la viabilidad del organismo de prueba se determinó después de ese período (enumerados como crecimiento o no crecimiento).

Organismo	Tipo de pared celular	Tiempo de exposición	Crecimiento/ No crecimiento (en la presencia de <i>M. crispans</i>)	Comentarios
<i>S. aureus</i> 6538	Gram +	2, 4 y 6 días	No crecimiento	
<i>S. choleraesuis</i> 10708	Gram -	2, 4 y 6 días	No crecimiento	
<i>P. aeruginosa</i> 15442	Gram -	2 días	Crecimiento	No hay diferencia visible entre las placas expuestas y de control.
<i>M. marinum</i> ATCC 927	Acidorresistentes	2, 4 y 6 días	No crecimiento	
<i>B. thailandensis</i> 70038	Gram -	2 días	Crecimiento	No hay diferencia visible entre las placas expuestas y de control.
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Gram +	2, 4 y 6 días	Crecimiento	No se formaron colonias reales, solo un crecimiento ligeramente transparente.
<i>E. coli</i> 11229	Gram -	2, 4 y 6 días	Crecimiento	No hay diferencia visible entre las placas expuestas y de control.
<i>V cholerae</i> ATCC 14035	Gram -	2, 4 y 6 días	Crecimiento	Crecimiento a 4 y 6 días de exposición parece estar ligeramente inhibido en comparación con las placas de control
<i>Y. pestis</i> 91-3365	Gram -	3 y 5 días	No crecimiento	
<i>B. anthracis</i> A2084	Gram +	3 y 5 días	Crecimiento	Solo unas pocas colonias quedaron después de la exposición y cuando se incubaron, más crecieron.
<i>M. tuberculosis</i> 3081 (resistente a isoniacida)	Acidorresistentes	2, 4, 7 y 14 días	No crecimiento	
<i>M. tuberculosis</i> 50001106 (resistente a estreptomycin)	Acidorresistentes	2, 4, 7 y 14 días	No crecimiento	
<i>M. tuberculosis</i> 59501228 (resistente a estreptomycin/etambutol)	Acidorresistentes	2, 4, 7 y 14 días	No crecimiento	
<i>M. tuberculosis</i> 59501867 (sensible)	Acidorresistentes	2, 4, 7 y 14 días	No crecimiento	

5

10

Como se muestra en la tabla 9, las cuatro bacterias acidorresistentes (cepas de *Mycobacterium tuberculosis*) se destruyeron después de 2, 4, 7 y 14 días de exposición a *M. crispans* en crecimiento activo (cultivo de 6-10 días). Otras bacterias que se destruyeron después de al menos 2 días de exposición a *M. crispans* fueron: *Staphylococcus aureus* 6538, *Mycobacterium marinum*, *Yersinia pestis*, y *Salmonella choleraesuis*. Relativamente algo o completamente no afectadas por la exposición a *M. crispans* fueron los siguientes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia thailandensis*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, y *Bacillus anthracis*. Sin embargo, el crecimiento de *S. aureus* (MRSA) fue solo una película viscosa en lugar de colonias distintas y, de este modo, se vio afectada por los VOC de *M. crispans*. Además, la placa de *B. anthracis* tenía solo unas pocas colonias quedaron en la placa de exposición, pero crecieron más colonias después de la eliminación de *M. crispans* y la

posterior incubación. Por lo tanto, se sospecha que el vapor de *M. crispans* del subproducto solo es eficaz contra las células vegetativas de *B. anthracis*, pero no contra las esporas. Un mes después del último tiempo de observación (14 días), no se observó crecimiento en ninguna de las placas expuestas al hongo, y se observó crecimiento en todas las placas de control.

5 Los experimentos de los siguientes ejemplos ilustran diversas realizaciones de las composiciones de la invención y la utilidad de las mismas. En la tabla 10 se proporciona una composición representativa, sin limitación en cuanto a la cantidad, concentración o proporción del componente. En ciertas realizaciones, una cantidad de ácido isobutírico se puede reemplazar con ácido propanoico en o aproximadamente el mismo nivel. En ciertas de tales u otras
10 realizaciones, el etanol se puede reemplazar con ácido acético y/o 2-butanona se puede reemplazar con ya sea ácido acético o ácido propanoico. También, diversos ésteres se pueden reemplazar con isómeros u homólogos (por ejemplo, sin limitación, un éster 3-metilbutílico, de ácido propanoico, para un éster 2-metilbutílico del mismo) de los ésteres enumerados. Los resultados observados en los siguientes ejemplos se obtuvieron con una composición de los compuestos enumerados en la tabla 10. En coherencia con esto, se pueden usar otras composiciones diferentes
15 con un efecto comparable.

Tabla 10. Una composición de compuestos saborizantes y de alimentos útiles en el control de microorganismos dañinos.

Compuesto* en una serie de FFCs
Acetaldehído
Acetato de etilo
2-Butanona
Ácido propanoico, 2-metil-, éster metílico
Etanol
Ácido acético, éster 2-metilpropílico
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilpropílico
1-Propanol, 2-metil-
1-Butanol, 3-metil-, acetato
Ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilbutílico
1-Butanol, 3-metil-
Ácido propanoico, 2-metil-
Ácido acético, éster 2-feniletílico
* Cada uno de estos compuestos ocurre como un líquido a temperatura ambiente y se puede usar uno con otro para proporcionar una composición líquida que se volatilice fácilmente a temperatura ambiente o temperaturas y presiones que de otro modo permitirían la volatilización.

20 Una composición de FFC usada para el control de enfermedades de las plantas.

Ejemplo 8a

25 Se midió la capacidad relativa de los FFC para inhibir y matar organismos de prueba. Las soluciones de prueba se prepararon colocando compuestos en viales, en las proporciones relativas dadas en la tabla 10. La mezcla de prueba (20 microlitros) se colocó en una microtaza (4x6 mm) preesterilizada localizada en el centro de una placa de Petri que contenía PDA. Cuando no se usaba, la mezcla se almacenaba a 0 °C. Los organismos de prueba (como se menciona en la tabla 9), recién cultivados y extirpados en bloques de 3 mm³ de agar (al menos 3 bloques de agar por hongo de prueba), se colocaron 2-3 cm de la micro taza y la placa envuelta con dos capas de parafilm. Las mediciones se realizaron sobre el crecimiento micelial desde el borde de los bloques de agar después de un período de tiempo determinado. Sin embargo, en el caso de *Geotrichum candidum*, se sembraron en estrías y se verificaron para determinar su nuevo crecimiento y viabilidad visibles al retirar desde el área original de la placa de agar que se había inoculado. También se establecieron controles apropiados en los que no se colocó ninguna solución de prueba en la microtaza. Se realizaron pruebas en 20 µl de la mezcla de FFC al menos dos veces con resultados comparables.
35

Ejemplo 8b

40 La viabilidad de los microbios de prueba se realizó eliminando asépticamente el bloque de agar pequeño y colocándolo en una placa de PDA y observando el crecimiento después de 1-3 días, o volviendo a sembrar en estrías el *Geotrichum candidum* en una placa de PDA fresca. De esta manera, la viabilidad de los microbios se podría evaluar. Los resultados mostrados en la tabla 11a indican que los organismos enumerados a continuación son todos inhibidos por la composición particular de FFC y en la mayoría de los casos destruidos por la exposición a ellos. Estos incluyen *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. en el queso, *Cercospora beticola*, *Verticillum dahaliae*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora palmivora*, *Mycophaeraella fijiensis*, T *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus fumigatus*, *Geotrichum candidum* *Trichoderma viridi*, *Ganoderma* sp., *Curvularia* sp., y *Botrytis alli*. De este modo, cuando se aplica apropiadamente, una composición de FFC tiene la capacidad de controlar estos microbios patógenos. Dichos resultados indican que muchos otros microbios patógenos pueden ser inhibidos o destruidos por esta mezcla.
45

Tabla 11a. Una breve lista de diversos microbios patógenos de plantas y sus sensibilidades a una composición de FFC representativa de esta invención, con una exposición a 20 microlitros de la mezcla durante 2 días a 23 °C en agar de dextrosa de patata (PDA) en una placa de Petri sellada con parafilm. Los tapones de agar con el microbio de prueba eventualmente se probaron para determinar la viabilidad después de la eliminación y la colocación en una placa de Petri regular de PDA.

5

Organismo de prueba	Efecto en el crecimiento	Vivo o Muerto después de 48 h
<i>Aspergillus niger</i>	No crecimiento	Muerto
<i>Penicillium</i> sp. en el queso	95% de inhibición	Vivo
<i>Cercospora beticola</i>	No crecimiento	Muerto
<i>Verticillium dahliae</i>	No crecimiento	Muerto
<i>Pythium ultimum</i>	No crecimiento	Muerto
<i>Phytophthora palmivora</i>	No crecimiento	Muerto
<i>Mycophaeraella fijiensis</i>	No crecimiento	Muerto
<i>Rhizoctonia solani</i>	No crecimiento	Muerto
<i>Aspergillus fumigatus</i>	No crecimiento	Muerto
<i>Geotrichum candidum</i>	No inhibición	Vivo
<i>Trichoderma viridi</i>	60% de inhibición	Vivo
<i>Ganoderma</i> sp	No crecimiento	Muerto
<i>Curvularia</i> sp	No crecimiento	Vivo
<i>Botrytis alli</i>	No crecimiento	Muerto

Ejemplo 8c

10 Con referencia a los datos de la tabla 11a, el perfil de actividad de la composición de FFC usada indica, en varios casos, un efecto antimicrobiano diferente y/o potenciado, en comparación con *M. crispans* y los vapores del subproducto volátil del mismo.

Ejemplo 8d

15 Con referencia al ejemplo anterior y usando técnicas y procedimientos comparables, los mismos patógenos se trataron con vapores de ácido propanoico. Los resultados comparativos se muestran en la tabla 11b, a continuación, con los datos de la tabla 11a reproducidos en las columnas A y B, y los efectos observados del ácido propanoico, solo, proporcionados en la columna C (% de inhibición). A 20 µl, la cantidad de ácido propanoico es comparable a un nivel de ácido propanoico en ciertas realizaciones de esta invención. El ácido propanoico es representativo de diversos compuestos solos de la técnica anterior conocidos por tener cierto efecto antimicrobiano. Sin embargo, como se demuestra por los datos comparativos de la tabla 11b, las presentes composiciones proporcionan resultados nuevos y sinérgicos más allá de lo esperado independientemente de un único componente de la técnica anterior fuera del contexto de esta invención. Como se muestra en este documento, aunque la técnica anterior es, en el mejor de los casos, simplemente inhibidora, las composiciones de la invención eliminan (esto es, matan) muchos patógenos probados. Se pueden obtener resultados similares en comparación con otros compuestos/composiciones de la técnica anterior solos.

Tabla 11b. Resultados comparativos que muestran una mejor actividad antimicrobiana sobre el ácido propanoico.

Organismo de prueba	Efecto en el crecimiento (A)	Vivo o Muerto después de 48 h (B)	Ácido propanoico solo a 20µl Después de 24 h (C)
<i>Aspergillus niger</i>	No crecimiento	Muerto	0% Vivo
<i>Penicillium</i> sp. en el queso	95% de inhibición	Vivo	
<i>Cercospora beticola</i>	No crecimiento	Muerto	75% Vivo
<i>Verticillium dahliae</i>	No crecimiento	Muerto	
<i>Pythium ultimum</i>	No crecimiento	Muerto	80% Vivo
<i>Phytophthora palmivora</i>	No crecimiento	Muerto	100% ND*
<i>Mycophaeraella fijiensis</i>	No crecimiento	Muerto	
<i>Rhizoctonia solani</i>	No crecimiento	Muerto	80% Vivo
<i>Aspergillus fumigatus</i>	No crecimiento	Muerto	0% Vivo
<i>Geotrichum candidum</i>	No inhibición	Vivo	0% Vivo
<i>Trichoderma viridi</i>	60% de inhibición	Vivo	
<i>Ganoderma</i> sp	No crecimiento	Muerto	
<i>Curvularia</i> sp	No crecimiento	Vivo	
<i>Botrytis alli</i>	No crecimiento	Muerto	0% Vivo

* 100% de inhibición, pero la viabilidad no está determinada (ND).

30

Uso de composiciones de FFC para tratar la tuberculosis y otros patógenos humanos Ejemplo 9a

Se expusieron cuatro cepas clínicas resistentes a fármacos de aislados de *M. tuberculosis* (5901867, 50001106, 59501228 y 3081) a una composición de FFC. Para cada aislado, 10 µL del cultivo se colocaron en el medio de una placa de agar 7H11 y luego se extendieron uniformemente por toda la superficie de la placa con un asa de plástico estéril. Se cortaron tapas de tubos de microcentrifuga de 0.65 ml (microcaps) y se sometieron a la autoclave a 121 °C, durante 15 minutos dentro de un tubo de autoclave con una tapa con tapa de rosca. Se utilizaron fórceps estériles para retirar un microtapa que se colocó en el centro de la placa inoculada. Las placas de control (una para cada aislado) no recibieron una microtapa. Se hicieron tres placas para cada aislamiento y se colocaron 5, 10 o 20 µL de los FFC en cada una de las tres microtapas de las placas respectivas. A continuación, las placas se colocaron en una bolsa de plástico sellada con cierre hermético con una toalla de papel húmeda y se incubaron a 36 °C a ± 1 °C, durante aproximadamente 28 días. Después de aproximadamente 48 horas de exposición, se extrajo el microtapa y se desechó y las placas se devolvieron a la incubadora. Las toallas de papel se revisaron con frecuencia y se volvieron a humedecer para evitar la deshidratación de los medios. Todas las placas de control tuvieron crecimiento. Todas las placas que estuvieron expuestas a 5 y 10 µL de volátiles tuvieron crecimiento. Solo un aislado (50001106) expuesto a 20 µL de volátiles tuvo crecimiento. Se debe observar que cada aislado de *M. tuberculosis* es una cepa resistente a fármacos clínicos de este organismo. Todos los experimentos se llevaron a cabo en condiciones de laboratorio de bioseguridad aprobadas por el gobierno de los EE. UU.

Las placas de control y las placas expuestas a 5 y 10 µl de compuestos volátiles se sembraron el 4/14/08. Las placas expuestas a 20 µL de volátiles se sembraron en placas el 22/4/08. Todas las placas fueron verificadas varias veces. La verificación final se realizó el 19/05/08 y los organismos que no sobrevivieron se indican en la tabla 12 como "-".

Tabla 12. Efectos inhibidores de los FFC en el crecimiento de *M. tuberculosis* resistente a los medicamentos

Aislado de <i>M. tuberculosis</i>	5 µL	10 µL	20 µL
5901867	+	+	--
50001106	+	+	+
59501228	+	+	--
3081	+	+	--

Los efectos reales de una composición de FFC de esta invención sobre otra cepa de TB se muestran en la figura 1: El efecto aniquilador de los FFC sobre una cepa (110107) de *M. tuberculosis*. La placa de la izquierda es una placa de control que no se había tratado con 20 microlitros de los FFC, durante 48 horas, mientras que la placa de la derecha se trató durante 48 horas, ambas placas se incubaron durante 28 días a 36 °C. Es obvio a partir de estos experimentos que los FFC pudieron matar al % de los aislados de *M. tuberculosis* resistentes a los medicamentos. La perspectiva ahora existe para ensayos con animales y eventualmente humanos que usan tales composiciones de FFC en el tratamiento de la tuberculosis.

Ejemplo 9b

De acuerdo con los datos del ejemplo anterior, se pueden demostrar aspectos más amplios de esta invención. Se preparan cultivos viables y medios apropiados usando materiales y técnicas bien conocidos para los expertos en el arte. Por ejemplo, la exposición a una composición de FFC de esta invención (por ejemplo, por contacto directo de una composición líquida o por vapores de la misma) puede provocar la inhibición del crecimiento o la muerte de las siguientes bacterias coliformes (tinción de Gram y morfología): *Escherichia coli* (gram negativa, varilla), *Salmonella enteritidis* (gram negativa, varilla), *Pseudomonas aeruginosa* (gram negativa, varilla), *Staphylococcus aureus* (gram positiva, cocci) y *Listeria monocytogenes* (gram positiva, varilla).

De manera similar, tales resultados también se pueden obtener y demostrar con otras diversas bacterias gram-negativas y/o grampositivas, tales como, pero sin limitación, *Bacillus cereus* (gram positiva, varilla) y *Clostridium botulinum* (gram positivo, varilla).

Ejemplo 10

Se calculó la IC₅₀ para algunos de los organismos de prueba que se ensayaron frente a una composición artificial para imitar el subproducto volátil de *M. crispans*. (Véase, la tabla 1). Con referencia a la tabla 12, todos los organismos de prueba se inhibieron al 100% con el uso de 15 µl de la mezcla artificial, y varios de ellos se destruyeron con tan solo 10 µl. *Verticillium dahliae*, *Botrytis cinerea* y *Aspergillus fumigatus* no fueron destruidos ni siquiera por el mayor volumen de la mezcla (30 µl), pero los tres fueron inhibidos al 100% con 10 o 15 µl de la mezcla de prueba. El organismo más sensible fue *Pythium ultimum*, que se destruyó con 10 µl y 100% inhibido con 2.5 µl, de este modo es el caso que los valores IC₅₀ no reflejan necesariamente la capacidad de eliminación de los volátiles, ya que tanto *P. ultimum* como *Botrytis cinerea* poseen virtualmente los mismos IC₅₀ pero uno se destruye y el otro no (Tabla 13).

Tabla 13. Las IC50 de la mezcla artificial de los componentes del subproducto volátil de *M. crispans* en diversos patógenos de plantas. Las cantidades de la mezcla, que van desde 1 µL a 30 µL, se añadieron a un pocillo de plástico estéril en el centro de la placa de prueba, y los organismos patógenos se colocaron alrededor del borde de la placa. La viabilidad se evaluó después de 48 horas y se comparó con una placa de control sin mezcla añadida, pero con el pocillo estéril en su lugar. Se determinó que cualquier organismo que no mostrara crecimiento después de ese período era 100% inhibido, mientras que aquellos que no mostraron crecimiento después de las 48 horas y ningún crecimiento después del aislamiento en PDA inmediatamente después de la evaluación de 48 horas se consideraron muertos. El cálculo de IC50 se determinó dividiendo la cantidad de la mezcla artificial requerida para causar 50% de inhibición (en µL) por el espacio de aire total en la placa de Petri (50 ml).

Organismo de prueba	Volumen mínimo para causar 100% de inhibición (µL)	Volumen para causar la muerte (µL)	50 (mL µL ⁻¹)
<i>Pythium ultimum</i>	2.0	10.0	0.030 ± 0.004
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	5.0	30.0	0.056 ± 0.009
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	n/a	>30	0.15 ± 0.016
<i>Botrytis cinerea</i>	10.0	>30	0.035 ± 0.004
<i>Rhizoctonia solani</i>	20.0	15.0	0.039 ± 0.006
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2.0	20	0.031 ± 0.003
<i>Verticillium dahliae</i>	5.0	>30	0.062 ± 0.004
<i>Phytophthora palmivora</i>	1.0	5.0	<0.02

Uso de una composición de FFC para el tratamiento de la basura para controlar la descomposición microbiana.

Ejemplo 11

Una mezcla artificial de artículos, que normalmente se consideraría como basura, se ensambló en dos cajas de cartuchos de munición. Estos artículos consistían en desechos de artículos de cereal, partes de flores, desechos de carne, fibra de periódico y otros desechos varios. En una caja se colocó un pequeño vaso de precipitados que contenía 0.2 ml de la composición de FFC antes mencionada. En la otra caja se colocó un vaso de precipitados sin FFC. Ambas cajas se incubaron durante 10 días a 80 °F. Al final de ese tiempo, las cajas se abrieron y examinaron. Era obvio que no se había producido ninguna descomposición en la caja con los FFC. Por otro lado, la caja de control se había convertido en una gran cantidad de descomposición. El uso de la composición de FFC para el tratamiento de basura es una oportunidad para salvar que la basura intacta forme la descomposición durante el tránsito a las instalaciones en todo el mundo que fermentan la basura en productos relacionados con la energía tal como el metano. La figura 4 ilustra que la composición de FFC protegió la basura de la descomposición microbiana bajo las condiciones de este experimento.

Uso de una composición de FFC para el tratamiento del queso para controlar el deterioro fúngico

Ejemplo 12

Se incorporó un vial que contenía 10 ml de la composición de FFC antes mencionada en o con y/o se usó para empapar una pieza de envoltura de Saran® de plástico transparente de 10 x 10 pulgadas. La envoltura de plástico se remojó en la composición de FFC, durante 6 días, se secó por goteo y luego se usó como una envoltura sobre la pieza de queso inoculada completamente con una cepa de queso de *Penicillium* sp. En otro experimento, la pieza de queso se inoculó con el hongo, luego se envolvió con una envoltura regular de Saran® y luego se inyectó con 10 microlitros de los FFC. Los controles apropiados están indicados en la ilustración anterior con *Penicillium* sp. solo, envoltura tratada sola, los FFC solos y control (sin tratamiento). Las piezas experimentales de queso se incubaron durante 1 semana a temperatura ambiente y luego porciones de cada artículo de queso fueron probadas por el personal de laboratorio. Cabe señalar que no hubo efectos adversos de almacenamiento de esta manera con una prostitución del sabor del queso en comparación con un trozo de queso recién cortado que se había almacenado en el refrigerador. El trozo de queso infestada de hongos no se comió. Es obvio a partir de la figura 2 que el uso de una composición de FFC bajo la envoltura o con la envoltura tratada causó una protección prácticamente completa del trozo de queso contra la descomposición y la colonización del queso por *Penicillium* sp. Esto fue cierto con la envoltura tratada y con la inyección de 10 microlitros de FFC bajo el solo queso envuelto solo con Saran.

Uso de una composición de FFC para el tratamiento de alimentos y partes de plantas (por ejemplo, productos de plantas) para controlar el deterioro fúngico

Ejemplo 13a

Se obtuvieron varias batatas para estos experimentos. Se pensó que los microbios contaminantes de la superficie que causan la descomposición eventual serían lo suficientemente abundantes para el inóculo. De este modo, dos

piezas de batata se colocaron en una caja de plástico con la tapa sellada en presencia de un pequeño vaso de precipitados que contenía 0.2 ml de los FFC. La caja de control contenía un vaso de precipitados sin FFC. A continuación, las cajas selladas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 10 días y luego se examinaron. Era obvio que no se desarrollaba contaminación superficial y más profunda de las piezas de batata tratadas, mientras que batatas de control desarrollaron múltiples áreas de manchas superficiales y descomposición insipiente como se ilustra en la figura 3: la batata no tratada está a la izquierda y el de la derecha ha sido tratado con los FFC. Tenga en cuenta la gran área de descomposición de hongos en el extremo superior de la batata de la izquierda.

Ejemplo 13b

Como una aplicación de uso final relacionada, una composición de FFC y/o un componente de la misma se puede aplicar a frutas y verduras cosechadas para compensar la eliminación de cualquier recubrimiento natural, ceroso o protector sobre estas. Por ejemplo, la calabaza cosechada y productos similares, con tallos cortados, se pueden tratar con una composición de FFC (por ejemplo, con aplicación por pulverización) para controlar/inhibir el crecimiento microbiano, mejorar la comerciabilidad y prolongar la vida útil.

Ejemplo 14

Una composición sintética de FFC de esta invención, de acuerdo con composiciones del tipo descrito en las tablas 2-7 y 10, se comparó favorablemente con el uso de *M. albus* vivo para el control de enfermedades de plántulas de remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) causada por *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* AG 2-2 y *Aphanomyces cochlioides*, y el nematodo del nudo de la raíz, *Meloidogyne incognita*, en tomate (*Lycopersicon esculentum*). La composición sintética proporcionó el control de la amortiguación igual a una formulación a base de almidón del hongo vivo para los tres patógenos de la remolacha azucarera, y redujo significativamente el número de agallas del nudo de la raíz en raíces de tomate. Los estudios de tasas con la composición de FFC usada mostraron que las concentraciones de 2 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ y 0.75 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ de un componente portador de suelo/medio proporcionaron un buen control de damping-off por *Rhizoctonia* y *Pythium*, respectivamente, de remolacha azucarera. Una concentración de arena de 5 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ proporcionó una mortalidad del 100% en 24 h para *M. incognita*. En comparación, usando estudios in vitro, esta misma tasa de biorracional proporcionó menos agallas en el nudo de la raíz que una formulación de cebada molida infestada con *M. albus* aplicada a 5 g/l de arena.

Ejemplo 15

Corynebacterium michiganense causa una pérdida grave de tomate a través del marchitamiento y la putrefacción del tejido. Se sembró un cultivo auténtico de esta bacteria en agar de caldo nutritivo y se colocó un tapón pequeño en el medio de la placa. En el tapón se colocaron 20 microlitros de una composición de FFC artificial de esta invención preparada en laboratorio. Una placa de control no contenía composición de FFC. Las placas se incubaron durante 24 horas y luego se examinaron. No hubo crecimiento de la bacteria en la placa tratada con FFC. (Véase, la figura. 5.) Como tal, una composición de FFC de esta invención se puede usar, sin limitación, para tratar semillas, plantas o productos de tomate. Alternativamente, una composición de FFC se puede mezclar con agua como un empapado previo del suelo del lecho.

Ejemplo 16

Con referencia a lo anterior y consistente con varios de los ejemplos anteriores, una gama de composiciones de FFC de esta invención se puede usar profilácticamente o en el tratamiento de estados activos de enfermedad, incluyendo dicha enfermedad, sin limitación, enfermedades que afectan a la remolacha azucarera, tomate, cebolla, grano, banana y plátano, y cultivos de cítricos, entre otros.

De manera más general, las presentes composiciones y procedimientos se pueden dirigir al tratamiento y la viabilidad mejorada de semillas, plantas, productos agrícolas y/o productos alimenticios relacionados, ya sea profilácticamente o en presencia de microbios fúngicos o bacterianos, independientemente de la etapa del ciclo de vida (por ejemplo, zoospora, etc.), desarrollo, crecimiento o extensión de la infección. De acuerdo con lo anterior, como entenderán los expertos en el arte, tales composiciones pueden comprender y/o aplicarse, independientemente de su forma (por ejemplo, polvo, gránulos, líquido, neblina, suspensión, vapor, pastas, geles, recubrimientos, etc.), en la superficie de, o en contacto con, una semilla, plántula o planta (por ejemplo, raíces, tallos, hojas, etc.) o producida a partir de la misma (por ejemplo, ya sea antes o después de la cosecha).

Ejemplo 17

Las composiciones de FFC y/o sus componentes, ya sea solos o como se pueden incorporar en otras diversas composiciones, se pueden emplear en una variedad de aplicaciones de uso final en las industrias avícolas, de productos agrícolas y de procesamiento de alimentos relacionadas. Varias de tales aplicaciones no limitantes se proporcionan en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 17a

Una composición de FFC de esta invención, de acuerdo con composiciones del tipo descrito en las tablas 2-7 y 10, se usa para tratar una gama de productos de huevo, incluyendo, pero no limitando a, huevo entero, y huevo entero líquido, huevo entero fortificado y huevo entero líquido enriquecido, huevo entero con sal y huevo entero líquido con sal, huevo entero con azúcar y huevo entero líquido con azúcar, y mezclas de tales productos, sean o no líquidos, con azúcar, jarabes sólidos, jarabes, dextrosa y/o gomas y agentes espesantes, junto con mezclas de huevos revueltos y mezclas de huevos revueltos líquidos, productos de huevo con reducido colesterol y productos líquidos y mezclas de los mismos, y productos relacionados que contienen menos de aproximadamente 10% de huevos sólidos, huevos de cáscara y componentes de huevos incluyendo, pero no limitando a yema de huevo descolesterolizada. Tales términos serán entendidos por los expertos en el arte y tienen significados estándar de acuerdo con la industria aceptada y el uso reglamentario.

Ejemplo 17b

De manera similar, diversas composiciones de FFC de esta invención, incluyendo, pero no se limitan a las que utilizan ácido propanoico en sustitución al menos parcial de ácido isobutírico, se pueden usar en la preparación y/o empaquetado de productos de huevo líquidos de larga duración (ESL), incluidos, entre otros, huevos enteros, mezclas revueltas, yema de huevo y productos líquidos de clara de huevo.

Ejemplo 17c

Del mismo modo, diversas composiciones de FFC de esta invención se pueden usar en el procesamiento de cáscaras de huevo vacías y agrietadas. Como se entendería en la técnica, usando técnicas disponibles y equipos de procesamiento, una composición de FFC y/o un componente de la misma -solo o incorporado como parte de otra composición- se puede aplicar (por ejemplo, pulverizar) a cáscaras vacías antes del procesamiento posterior, por ejemplo, en un producto nutracéutico. Del mismo modo, una o más composiciones de esta invención se pueden aplicar o incorporarse con, o utilizarse de otro modo para tratar cadáveres de aves de corral, carne o un producto cárnico relacionado, usando aparatos y técnicas conocidas en la técnica. Por extensión, un experto en el arte entenderá que la presente invención también se puede utilizar con otros tipos de cadáveres de animales, carne, productos cárnicos procesados y todas las demás formas de carne de animales (por ejemplo, mamíferos, aves, peces, caracoles, almejas, crustáceos, mariscos y otras especies comestibles), como también se ilustra en uno o más de los siguientes ejemplos.

Ejemplo 17d

Como una extensión del ejemplo anterior, dicha composición de FFC se puede incorporar en dicho producto nutracéutico procesado (por ejemplo, cápsulas o comprimidos de hierbas y especias) para inhibir el crecimiento bacteriano/fúngico.

Ejemplo 17e

Mientras que los ejemplos precedentes ilustran diversas aplicaciones de procesamiento aguas abajo, la presente invención se puede utilizar más ampliamente en el contexto de la producción de huevos y aves de corral. Sin limitación, las composiciones de FFC o los componentes relacionados de esta invención se pueden introducir en cualquier instalación de producción de aves de corral u huevo y/o aplicarse a cualquier equipo o maquinaria asociada con estas. Por ejemplo, el tratamiento del aire o de la superficie de una cooperativa o instalación de crecimiento/instalación puede controlar, reducir y/o inhibir los contaminantes transportados por el aire y depositados en la superficie y el posterior crecimiento microbiano sobre los mismos.

Ejemplo 18

Una composición de FFC o uno o más componentes de la misma se puede incorporar en una variedad de otros productos alimenticios procesados, que incluyen productos alimenticios que tienen una actividad de agua que de otro modo sería favorable para el crecimiento microbiano. Por ejemplo, dicha composición o componente se puede incorporar en humus, mantequilla de maní y tales otros productos para untar, salsas y mezclas. En relación con las industrias de cultivo y procesamiento de maní, las composiciones y componentes relacionados de esta invención se pueden aplicar a los cacahuets antes y después de que las cáscaras se rajen, después de un lavado inicial de maní, a un producto procesado relacionado (por ejemplo, mantequilla de maní) y/o equipos de empaque y materiales de empaque.

Ejemplo 19

Del mismo modo, una composición/componente de FFC de esta invención (por ejemplo, una o más de, o composiciones de las tablas 2-7 y 10 anteriores, o variaciones del tipo descrito en ellas) se puede usar como o

incorporarse en una variedad de productos para el cuidado o tratamiento de la piel, independientemente de la formulación (por ejemplo, loción, pomada, crema, etc.).

Ejemplo 19a

5 Por ejemplo, el acné es comúnmente causado por una o más especies bacterianas que invaden folículos de la piel. Demostrando un uso adicional de esta invención, se preparó una formulación acuosa de una composición de FFC sustituida con ácido propanoico de esta invención y se usó para tratar un sujeto varón adolescente que presentaba acné relacionado con la edad. Una aplicación cada tres días durante tres semanas redujo significativamente, por observación visual, el número y la intensidad de las lesiones de acné.

Ejemplo 19b

15 Demostrando otro uso de esta invención en el contexto de un consumidor y/o producto para el cuidado de la salud, se incorporó una composición de FFC de esta invención (a aproximadamente al 2% en peso) en una preparación de crema para la piel representativa sin receta. Con referencia a la figura 6, se preparó una placa de PDA y se incubó durante un día con una crema de control (sin componente o composición de FFC), arriba a la izquierda; una crema de control contaminada con células bacterianas, arriba a la derecha; crema "tratada" con composición de FFC, abajo a la izquierda; y crema tratada con contaminación bacteriana, abajo a la derecha. Como se muestra, el crecimiento bacteriano en dicho producto de crema para la piel se previno incorporando una modesta concentración de una composición de FFC de esta invención.

Ejemplo 20

25 Del mismo modo, esta invención se puede usar junto con una gama de productos de higiene oral, cuidado y tratamiento. Sin limitación, los siguientes ejemplos demuestran tal uso de una composición de FFC sustituida con ácido propanoico del tipo descrito anteriormente. Alternativamente, se pueden usar otras diversas composiciones de FFC, de acuerdo con las composiciones de las tablas 2 - 7 y 10 anteriores, o variaciones de las mismas como se describe en otra parte de este documento.

Ejemplo 20a

35 Por ejemplo, ilustrando uno de tales productos de higiene/cuidado bucal, se formuló un producto de enjuague /lavado bucal usando aproximadamente 1% de dicha composición de FFC. Dicho producto se preparó mediante la incorporación de dicha composición de FFC en un producto de enjuague/lavado bucal, listo para usar, disponible comercialmente. Las composiciones de FFC de esta invención, independientemente de la concentración o el nivel de dosis, también se pueden incorporar en una pasta/gel dental o producto relacionado de la encía, la boca, el cuidado oral o dental.

Ejemplo 20b

40 El liquen plano (LP) es una enfermedad autoinmune de la piel que puede ocurrir dentro de la boca o en otras membranas mucosas. A medida que las membranas se vuelven inestables, las bacterias u hongos pueden establecer su residencia en estas áreas y causar dolor, enrojecimiento, infección, sangrado e hinchazón de los tejidos. Con el fin de reducir la causa de la participación extraña de bacterias en esta enfermedad, se preparó un producto de lavado bucal que contenía una solución acuosa al 1% de dicha composición de FFC. La boca del paciente se enjuagó dos o tres veces al día durante al menos 3-4 minutos y luego se escupió. Las fotos se tomaron antes de aplicar los tratamientos y después de tres semanas de tratamiento. Después de 3 semanas, los resultados mostraron una reducción casi total del enrojecimiento de las encías, acompañado de una reducción casi total del dolor de boca y encías, así como un retorno al color casi normal de las encías y otro color de la membrana mucosa. El paciente informó un cese casi total del dolor/sangrado y el mayor alivio del LP, en comparación con la experiencia previa.

Ejemplo 20c

55 Se usó una solución al 1% de la composición de FFC antes mencionada en un enjuague bucal listo para usar para reducir la placa dental y tratar otros problemas que surgen de bacterias asociadas con problemas orales. El uso diario, con 3-4 enjuagues bucales/día, durante dos meses dio como resultado poca o ninguna acumulación de placa dental. Las encías que inicialmente se registraron como rojas, hinchadas y sangraron fácilmente (a partir de notas realmente tomadas por el dentista) ahora parecían tener un color normal y no sangraron al sondear con el instrumento "explorador".

Ejemplo 20d

65 Para confirmar la efectividad de dicha composición de FFC, se colocó saliva de la boca resultante del ejemplo anterior en un lado de una placa de agar nutriente, se colocó saliva de un enjuague bucal comercial sin FFC en el

otro lado de la misma placa, y la saliva sin enjuague se colocó en otra placa. Las salivas se incubaron luego durante dos días. En comparación: la saliva sin enjuague tenía una alta carga bacteriana; la saliva de enjuague sin FFC tenía, como se esperaba, una carga bacteriana reducida; pero la saliva de enjuague con FFC no tenía bacterias detectables.

5

Ejemplo 20e

En otro ejemplo, un cirujano oral probó una composición de FFC (por ejemplo, como 1% de un producto de enjuague/lavado comercial) antes de la cirugía oral. El paciente colocó saliva no tratada en una placa de agar (agar nutriente), se enjuagó con la solución de enjuague con FFC y se colocó esa saliva sobre otra placa de agar. Después de dos-tres días de incubación, no hubo colonias bacterianas en la placa tratada con enjuague con FCC, lo que indica el uso antes y después de la cirugía oral para tratar o inhibir infecciones dentales u otras orales.

10

Ejemplo 21

15

La mastitis en las vacas lecheras es causada por un complejo de bacterias asociadas con la ubre. De acuerdo con diversas realizaciones no limitantes de esta invención, una composición de FFC o una composición de FFC modificada con ramnolípido del tipo descrito a continuación se puede aplicar en la ubre en el momento del ordeño para reducir la posibilidad de infecciones bacterianas y contaminación del producto lácteo.

20

Ejemplo 22

Se pueden usar diversas composiciones de FFC de esta invención para reducir las cargas microbianas en las biopelículas industriales/médicamente importantes. Con respecto a este último, los artículos que van desde la prótesis dental hasta articulaciones artificiales, se pueden tratar con una composición de FFC de esta invención antes de la implantación quirúrgica.

25

Ejemplo 23

Las composiciones de FFC de esta invención se pueden usar para controlar la descomposición fúngica y bacteriana de prendas de vestir, especialmente aquellas expuestas a ambientes húmedos (esto es, cueros, zapatos, botas, correas, ataduras, cinturones). Por ejemplo, la aplicación de 0.2 ml de una composición de FFC al 1% del tipo descrito anteriormente se colocó en botas que se habían vuelto totalmente húmedas. Las botas se encerraron para mantener los vapores resultantes durante unas horas y luego se expusieron al aire seco. Los resultados no mostraron descomposición, y las botas se secaron sin un olor residual a moho.

30

35

Ejemplo 24

Las composiciones de la presente invención pueden comprender diversos componentes de FFC y se pueden formular como entenderán los expertos en el arte que conozcan esta invención. Sin limitación, independientemente de la aplicación o tratamiento de uso final, uno o más de los presentes componentes de FFC y/o composiciones relacionadas se pueden incorporar en diversas composiciones antibacterianas o antimicóticas. Sin limitación, dicha composición puede comprender un componente surfactante ramnolípido, ya sea solo o junto con un componente antibacteriano y/o antimicótico del tipo conocido en la técnica. Con respecto a este último, tales composiciones pueden comprender un componente de siringomicina y/o pseudomicina.

40

45

Más específicamente, como entenderán los expertos en el arte, un componente de ramnolípido puede comprender uno o más compuestos del tipo descrito las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,455,232 y 5,767,090. Dicho compuesto de ramnolípido, ya sea conocido actualmente en la técnica o en lo sucesivo aislado y/o caracterizado, puede ser de una estructura descrita en el mismo o variada, como también lo entenderán los expertos en el arte. Por ejemplo, sin limitación, ya sea derivado sintéticamente o de origen natural (por ejemplo, de una especie de *Pseudomonas* o una cepa del mismo) en una forma ácida y/o como una sal ácida correspondiente, dicho compuesto puede ser alquil- y/o acil- sustituidos (por ejemplo, metilo y/o acetilo, respectivamente, y homólogos superiores de los mismos) en una o más de las posiciones de hidroxilación. Del mismo modo, ya sea en forma mono y/o dirhamno, cualquiera de dicho compuesto se puede variar mediante unidad estructural hidrofóbica. Como un ejemplo no limitante, con referencia a las figuras 7A y 7B, m y n pueden variar independientemente de aproximadamente 4 a aproximadamente 20, independientemente de si tales unidades estructurales son saturadas, monoinsaturadas o poliinsaturadas, si la unidad estructural hidrofoba está protonada, presente como la base conjugada con cualquier contraión o derivado de otro modo. De acuerdo con aspectos más amplios de esta invención, un ramnolípido útil en tales composiciones está limitado estructuralmente solo por la función superficial activa resultante y/o el efecto antimicrobiano junto con una composición de FFC de esta invención. De acuerdo con lo anterior, las variaciones estructurales del tipo descrito en la Publicación Internacional WO 99/43334 también se consideran en el contexto de esta invención. Véanse, también los componentes/estructuras de ramnolípidos no limitantes de las figuras 8-9.

50

55

60

65

Sin tener en cuenta la identidad antimicrobiana o de ramnolípidos, un componente de portador de las composiciones de la invención puede comprender un fluido seleccionado entre, pero no limitado a, agua, un alcohol, un aceite, un

gas y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, aunque tales composiciones son ilimitadas con respecto a la cantidad o concentración (por ejemplo, % en peso) de cantidades antimicrobianas o de ramnolípidos, se puede usar un portador que comprende agua y/o un alcohol para facilitar la formulación deseada, envío, almacenamiento y/o propiedades de la aplicación, así como concentración eficaz y actividad resultante.

Tales componentes surfactantes de ramnolípidos, componentes antimicóticos y/o composiciones relacionadas incluyen, pero no se limitan a, los descritos en la solicitud en tramitación, número de serie no. 11/351,572, en particular los ejemplos 9-15 de los mismos, tal aplicación presentada el 10 de febrero de 2006. Tales componentes surfactantes de ramnolípidos, componentes antimicóticos y/o composiciones relacionadas se pueden incorporar o usar junto con uno o más componentes de FFC y/o composiciones de FFC de la presente invención. Tales componentes antibacterianos y/o antimicóticos son conocidos para los expertos en el arte y están disponibles comercialmente. Diversas composiciones de componentes de ramnolípidos y surfactantes relacionadas están disponibles en Jeneil Biosurfactant, LLC, bajo la marca comercial Zonix.

15 Ejemplo 25

Por ejemplo, que ilustra tales variaciones relacionadas con ramnolípidos, se puede preparar una gama de composiciones con uno o más componentes de ramnolípidos y una o más composiciones de FFC de esta invención (y/o uno o más de sus componentes de FFC), para usar como o junto con un lavado postcosecha o tratamiento de una amplia gama de frutas y verduras. Sin limitación, en dicha composición, un componente de ramnolípidos (por ejemplo, como se describe en la solicitud 572 mencionada anteriormente) puede estar presente en una cantidad que varía desde aproximadamente 0.1% en peso a aproximadamente 99.9% en peso, y una composición/componente de FFC. (por ejemplo, las composiciones de las tablas 2-7 y 10, anteriores) pueden estar presentes en una cantidad que varía desde aproximadamente 99.9% en peso a aproximadamente 0.1% en peso. Con referencia a las regulaciones EPA aplicables, no hay límite de tolerancia para los surfactantes Zonix ramnolípidos mencionados anteriormente. Del mismo modo, no hay límite de tolerancia para las composiciones/componentes de FFC de esta invención. De acuerdo con lo anterior, los alimentos tratados con tales composiciones de ramnolípidos/FFC se pueden consumir sin lavado adicional.

30 Ejemplo 25a

De acuerdo con lo anterior, se puede usar una composición de ramnolípidos/FFC para lavar cítricos. Una de tales composiciones de lavado/baño se preparó usando una solución de ramnolípidos al 8.5% (en agua) y una solución de FFC al 5% (por ejemplo, la composición de la tabla 10 en agua). Un galón de una mezcla 95: 5 (v/v) se diluyó a 425 galones. Usando protocolos de procedimientos conocidos en la industria o requeridos de otro modo según las regulaciones estatales o federales aplicables, la composición se usó eficazmente para limpiar y penetrar la cáscara de los cítricos, matando tanto bacterias como hongos de superficie como interiores. Aunque se demostraron resultados eficaces con cítricos, esta y las composiciones de ramnolípidos/FFC relacionadas se pueden usar de manera comparable junto con el lavado postcosecha o el tratamiento de cualquier fruta o vegetal (por ejemplo, sin limitación arándanos, tomates, uvas, cebollas, remolacha azucarera, batatas, manzanas, peras, piñas y diversos otros productos tropicales tales como, pero no limitando a, fruta de noni y acai, etc.). Las frutas/verduras lavadas o tratadas con las composiciones de FFC de este ejemplo se reconocerían como seguras e higiénicas para el consumo humano.

45 Ejemplo 25b

Independientemente de que tenga o no un componente de ramnolípidos incorporado, diversas composiciones de FFC de esta invención se pueden usar para tratar diversas frutas y verduras (por ejemplo, sin limitación, peras, melocotones, manzanas, tomates, albaricoques, mangos y similares) antes o al empaquetar o enlatar para reducir las cargas bacterianas/fúngicas.

Ejemplo 26

Abastecimiento de compuestos componentes de FFC. Los compuestos componentes para usar en las composiciones de esta invención se pueden obtener comercialmente o prepararse usando técnicas sintéticas del tipo bien conocido o descrito de otro modo en la bibliografía. (Véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 6,911,338

Alternativamente, como se puede preferir junto con ciertas realizaciones, incluyendo, pero no se limitan a alimentos y bebidas para animales y humanos, productos para el cuidado personal y cosméticos y técnicas de procesamiento y fabricación relacionadas, compuestos de componentes de GRAS y composiciones de FFC relacionadas de esta invención se puede derivar naturalmente a través de técnicas de fermentación, y están disponibles bajo la marca comercial Flavorzon de Jeneil Biotech, Inc. of Saukville, Wisconsin. De acuerdo con lo anterior, diversas composiciones de esta invención, dependiendo del uso final o la aplicación, pueden comprender compuestos derivados de la fermentación bacteriana, compuestos químicamente sintetizados y diversas mezclas de compuestos de origen fermentativo y sintético.

Con referencia a lo anterior, los siguientes ejemplos ilustran el uso no limitante o la incorporación de una o más composiciones de esta invención, tal uso o incorporación como entenderán los expertos en el arte que conocen esta invención, y describen en el contexto de varias patentes anteriores.

5 Ejemplo 27

Ilustrando otras realizaciones, se pueden formular diversas composiciones de esta invención para usar como un aditivo para una bebida de frutas, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 6,566,349.

10 Por ejemplo, las composiciones de esta invención se pueden añadir a un zumo en combinación con o como un sustituto de un compuesto flavonoide y/o un antioxidante, o se puede se pueden aplicar a frutas y verduras antes del procesamiento, para aumentar la vida útil del producto. Como entenderán los expertos en el arte, tales composiciones de la Patente '349 se pueden modificar para incluir una o más composiciones de la presente invención en una cantidad que se puede determinar para cualquier aplicación de uso final, de una manera directa sin excesiva experimentación.

15 Ejemplo 28

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para usar en la conservación de bebidas de mezcla de té y té/fruta, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 5,866,182. Por ejemplo, las composiciones de la presente invención se pueden usar en combinación con o en sustitución de K-sorbato y/Na-benzoato, ácido ascórbico y dimetil-dicarbonato. Como comprenderán los expertos en el arte, tales bebidas de la Patente '182 (por ejemplo, su ejemplo 1) se pueden modificar para incluir una o más composiciones de la presente invención, una cantidad de la cual para cualquier aplicación particular se puede determinar de una manera directa sin excesiva experimentación.

25 Ejemplo 29

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para usar en la conservación y/o mejora del efecto antimicrobiano de antitranspirantes y desodorantes, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 5,176,903. Por ejemplo, las composiciones de la presente invención se pueden usar en combinación con o como reemplazo de parabenos, imidazolidinil urea, quaternium-15, alcohol bencílico, fenoxietanol y otros diversos conservantes apropiados (por ejemplo, como se describe en los ejemplos 1-3 de los mismos) y añadido a dicho antitranspirante/desodorante para proteger contra la degradación, prolongar la vida útil y/o mejorar la eficacia, una o más de tales composiciones en una cantidad de las cuales se pueden determinar de una manera directa sin excesiva experimentación por alguien que tenga una destreza ordinaria en el arte.

35 Ejemplo 30

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para usar en antitranspirantes, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 4,548,808. Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden añadir a los productos antitranspirantes no alcohólicos sustancialmente anhidros descritos en la Patente '808 (por ejemplo, ejemplos 1-6 de la misma) en cantidades eficaces fácilmente determinadas sin excesiva experimentación por un experto en el arte – para prologar la vida útil y mejorar el efecto antimicrobiano.

45 Ejemplo 31

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para su uso en alimentos para animales/mascotas, por ejemplo, alimentos para perros, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 3,119,691. Un experto en el arte reconocería que una o más de las presentes composiciones se pueden añadir a alimentos para perros de baja hidratación, alimentos para perros con alta humedad y alimentos para perros rehidratables (por ejemplo, a las formulaciones de productos descritas en el mismo) para prolongar la vida de los productos descritos en la Patente 691, tal(es) composición (es) en una cantidad determinada fácilmente sin excesiva experimentación.

55 Ejemplo 32

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para su uso en arena para gatos, tal como se describe en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,060,598 y 4,721,059. Diversos materiales absorbentes, que incluyen, por ejemplo, arcilla, alfalfa, astillas de madera y polvo de serrín, y materiales absorbentes incrementados que incluyen material de relleno similar a arcilla (Patente '059) y turba (Patente '598) se usan para absorber la orina y controlar el olor. Una o más composiciones de la presente invención se pueden usar junto con estos materiales (por ejemplo, pulverizados o incorporados de otro modo) para reducir o eliminar la actividad microbiana y controlar el olor después del uso de las arenas, tal(es) composición (es) en una cantidad fácilmente determinada sin excesiva experimentación.

65

Ejemplo 33

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para uso en aplicaciones de desinfectante por pulverización, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 6,250,511. La Patente '511 describe incluir una solución de tratamiento en la botella de pulverización que comprende entre aproximadamente 25% y 75% de al menos un compuesto de glicol, entre 0.2% y 60% de un componente antimicrobiano, entre aproximadamente 5% y 45% de un surfactante, y cantidades opcionalmente eficaces de fragancias, colorantes y otros aditivos (en la columna 3 de los mismos). Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden usar junto con un desinfectante de la Patente '511 como un reemplazo del componente antimicrobiano, o como un aditivo al mismo, tal (es) composición (es) en una cantidad fácilmente determinada por uno experto en el arte sin excesiva experimentación.

Ejemplo 34

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para limpiar y/o desinfectar equipos de procesamiento de alimentos y bebidas, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. RE 40,050. Mientras que la Reedición 050 enseña una composición de dióxido de halógeno, un experto en el arte podría modificar dicha formulación para sustituir una o más composiciones de la presente invención, tal(es) composición (es) en una cantidad fácilmente determinada sin excesiva experimentación y en contacto con o aplicado a dicho equipo de procesamiento usando aparatos y técnicas del tipo descrito en la Reedición 050 (por ejemplo, como se describe en las columnas 3-4 de la misma).

Ejemplo 35

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para uso en la conservación de madera, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 4,988,576 (y para materiales compuestos lignocelulósicos descritos en la Patente de los Estados Unidos incorporada No. 7,449,130). La Patente '576 enseña la impregnación de madera con una solución de una composición conservante que comprende un copolímero de injerto de lignosulfonato, alcohol hidroxibencílico y una sal metálica o una mezcla de sales metálicas, o alternativamente de al menos una sal metálica de un copolímero de injerto de lignosulfonato, siendo el copolímero un producto de reacción de lignosulfonato y monómeros acrílicos. Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden usar solos o en combinación con tales conservantes enseñados por la Patente '576 (o la Patente '130), como se describe, respectivamente, en los ejemplos 1-4 y 1-2 de la misma, para impregnar y conservar madera, tal (es) composición (es) en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin excesiva experimentación.

Ejemplo 36

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para su uso con toallitas sanitizantes y/o desinfectantes, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 4,575,891, que enseña una almohadilla parcialmente saturada con un desinfectante (por ejemplo, la columna 2 de la misma). La Patente '891 describe desinfectantes apropiados como soluciones alcohólicas y otras soluciones antisépticas. Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden usar solos o en combinación con tales desinfectantes e incorporados en tal material de toallita, tales composiciones en una cantidad fácilmente determinada e incorporada por un experto en el arte sin excesiva experimentación.

Ejemplo 37

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para su uso con una loción sanitizante para manos, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 6,187,327. Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden formular para ser añadida y trabajada junto con la loción de la Patente '327 o para reemplazar cualquiera de los ingredientes activos de la loción para mejorar el efecto antimicrobiano. La Patente '327 también describe otros diversos sanitizantes de manos conocidos (por ejemplo, un surfactante catiónico anfótero, un surfactante catiónico, un agente humectante y un agente de regresión no iónico). Independientemente, una composición de la presente invención se puede incorporar como un reemplazo o uso junto con cualquiera de los ingredientes activos en cualquiera de dicho sanitizante de manos, tal (es) composición (es) en una cantidad fácilmente determinada sin excesiva experimentación.

Ejemplo 38

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para usar en el tratamiento de semillas comestibles o de cultivo, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 4,581,238, que enseña el contacto con semillas con vapor que tiene un sorbato dispersado en estas (por ejemplo, en las columnas 2-5 de la misma). Por ejemplo, usando técnicas y aparatos descritas en la misma, una o más composiciones de la presente invención se pueden volatilizar o aplicar de otro modo a tales semillas, tal (es) composición (es) en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin excesiva experimentación.

Ejemplo 39

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para usar en la prevención o inhibición del crecimiento de organismos de desechos, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 4,356,204, que enseña el contacto de alimentos con una cantidad inhibidora de crecimiento eficaz de un ácido cetohexanoico (por ejemplo, en las columnas 2-3 de la misma). Una o más composiciones de la presente invención se pueden usar solas o con dicho ácido cetohexanoico para inhibir y/o matar adicionalmente organismos de descomposición. Del mismo modo, la Patente de los Estados Unidos No. 2,711,976 sugiere el uso de aminoácidos para aumentar la resistencia de los alimentos de natillas a los organismos de descomposición y las especies de Staphylococcus. De nuevo, una o más composiciones de la presente invención se pueden usar solos o en combinación con o como un sustituto de tales aminoácidos. Del mismo modo, la Patente de los Estados Unidos No. 2,866,819 sugiere el uso de ácido sórbico como conservante en los alimentos. De nuevo, una o más composiciones de la presente invención se pueden usar solos o en combinación o como un sustituto del ácido sórbico. Del mismo modo, la Patente de los Estados Unidos No. 2,910,368 describe el uso de EDTA con ácido sórbico para aumentar la vida útil de los vegetales. De nuevo, una o más composiciones de la presente invención se pueden usar solos o en combinación con EDTA y/o ácido sórbico. En cada caso, dicha (s) composición (es) de la presente invención se pueden usar en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin una excesiva experimentación.

Ejemplo 40

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para uso en el tratamiento de frutas, semillas, granos y legumbres, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 5,273,769, que enseña la colocación de cualquiera de los artículos a tratar en un recipiente y luego se introduce dióxido de carbono y amoníaco. Por ejemplo, usando aparatos y técnicas descritas en el mismo (por ejemplo, ejemplos 1-4), una o más composiciones de la presente invención se pueden utilizar de manera eficaz como se entendería en la técnica sin una excesiva experimentación.

Ejemplo 41

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para su uso en el tratamiento de artículos/dispositivos dentales y médicos e implantes, el último como se describe más específicamente en la Patente de los Estados Unidos No. 6,812,217, que enseña una película de polímero antimicrobiano aplicada a la superficie exterior de un dispositivo médico implantable. Por ejemplo, usando técnicas del tipo descrito en esta, una o más composiciones de la presente invención también se pueden depositar o incorporar de otro modo con dicho dispositivo o artículo (ya sea médico o dental) o una película de polímero sobre el mismo (por ejemplo, como se describe en las columnas 5-6) para proporcionar un efecto antimicrobiano, dicha (s) composición (es) en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin excesiva experimentación.

Ejemplo 42

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para uso en el tratamiento de textiles, tal como en la Patente de los Estados Unidos No. 5,968,207, que enseña la aplicación de éster de triclosán a fibras textiles o tejidos mediante difusión o impregnación. Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden formular para uso sola o en combinación con tal compuesto para mejorar las propiedades antimicrobianas de un material textil o fibras del mismo, ya sean artificiales o naturales, o una mezcla (por ejemplo, como se describe en las columnas 2-3 de la Patente 207), dicha (s) composición (es) en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin una excesiva experimentación.

Ejemplo 43

Las composiciones de la presente invención se pueden formular para el tratamiento de superficies de una instalación de procesamiento de alimentos, equipos relacionados y productos alimenticios, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 7,575,744. Por ejemplo, usando técnicas y aparatos del tipo descrito en ellos, una o más composiciones de la presente invención se pueden formular y disponer en equipos y superficies de productos alimenticios en una amplia gama de instalaciones de procesamiento de alimentos para reducir o eliminar la actividad microbiana, tales instalaciones/equipos incluyen pero no se limitan a, aperitivos, aves, cítricos, cacahuets e instalaciones/equipo de procesamiento de alimentos relacionados (véase, por ejemplo, la columna 20). Dicha (s) composición (es) se puede (n) emplear en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin excesiva experimentación.

Ejemplo 44

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con microbios (esto es, mastitis, pezuñas y boca, etc.) en animales de granja y ganado, y para inhibir el crecimiento microbiano en cultivos, plantas, granos y otros productos alimenticios, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 7,192,575, que enseña la aplicación de una composición que

comprende aceite de clavo de olor, aceite de eucalipto, aceite de lavanda, árbol de té y aceite de naranja. Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden formular para uso sola o en combinación con el de la Patente '575 (por ejemplo, ejemplos 1-2 de la misma), tal (es) composición (s) en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin excesiva experimentación.

5

Ejemplo 45

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para su uso en la conservación de productos alimenticios tales como aderezos, salsas, adobos, condimentos, productos para untar, mantequilla, margarina, alimentos a base de productos lácteos y similares a partir de la descomposición microbiana, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 6,156,362, que enseña una combinación de componentes antimicrobianos. Una o más composiciones de la presente invención se pueden formular para uso sola o en combinación con uno o más de los componentes de la Patente 362 (por ejemplo, ejemplos 1-4 de la misma), dicha (s) composición (es) o en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin excesiva experimentación.

10

15

Ejemplo 46

Las composiciones de la presente invención se pueden formular para su incorporación en una amplia gama de pinturas con base orgánica y con base acuosa, tintes y recubrimientos superficiales relacionados, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 7,659,326 y las autoridades enumeradas en la misma (por ejemplo, Kirk-Othmer-Paint, pp. 1046-1049, Vol. 17, 1996, por Arthur A. Leman). Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden formular para usar o solas en combinación con otro componente antimicrobiano descrito en la descripción detallada y los ejemplos 1 y 3 de la Patente 326, tal (es) composición (s) en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin excesiva experimentación.

20

25

Ejemplo 47

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para uso o incorporación en productos para después del afeitado, tales como los descritos en la Patente de los Estados Unidos No. 6,231,845. Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden usar junto con componentes del tipo descrito en los ejemplos 1-6 de la Patente '845, para proporcionar un efecto antimicrobiano a dichos productos para después del afeitado de la técnica anterior. Tales composiciones pueden estar presentes en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin una excesiva experimentación.

30

35

Ejemplo 48

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para uso o incorporación en un producto para el tratamiento de un cadáver, carne o producto cárnico (por ejemplo, de mamíferos, aves, peces, almejas, crustáceos y/u otras formas de mariscos, y otras especies comestibles), tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos número 7,507,429. Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden formular para uso sola o en combinación con otro componente antimicrobiano, para incorporación en un producto del tipo descrito en la Patente '429. Tal (s) composición (es) puede(n) estar presente(s) en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin excesiva experimentación, y los productos correspondientes se pueden aplicar o utilizar de otro modo con las técnicas y aparatos descritos en la Patente '429 o de otra manera ser entendido por los expertos en el arte que conozcan esta invención. (Véase, por ejemplo, el procesamiento de carne, pulverización, inmersión y tratamiento, y las secciones de composición y componentes de la descripción detallada de la Patente '429).

40

45

50

Ejemplo 49

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular para uso o incorporación en un material (por ejemplo, un material para un recubrimiento u otra incorporación) para un producto alimenticio, tales productos que incluyen, pero no se limitan a aperitivos, alimentos de cereal y otros componentes alimenticios, tales como alimentos y materiales para aperitivos y alimentos de cereales del tipo descrito en la Patente de los Estados Unidos número 7,163,708. Sin limitación en cuanto a cómo se pueden aplicar dichos materiales, una o más composiciones de la presente invención se pueden usar solos o junto con uno o más de los componentes antimicrobianos o conservantes de tales materiales, como se describe en la descripción detallada de productos alimenticios y materiales de recubrimiento, de la Patente '708. De acuerdo con lo anterior, como entenderá un experto en el arte, dicha composición puede estar presente en una cantidad fácilmente determinada sin excesiva experimentación.

55

60

Ejemplo 50

Las composiciones de la presente invención se pueden formular para su incorporación con una variedad de composiciones para untar comestibles, incluyendo, pero no limitando a, composiciones de mantequilla de maní, tales como las descritas en la Patente de los Estados Unidos número 7,498,050. Por ejemplo, como entenderá un experto

65

en el arte, una o más composiciones de la presente invención se pueden usar junto con dichos productos para untar comestibles para proporcionar o de otro modo potenciar el efecto antimicrobiano, como se describe en los ejemplos 1-2 de la Patente '050, tal(es) composición (es) que puede(n) estar presente(s) en una cantidad fácilmente determinada sin excesiva experimentación.

5

Ejemplo 51

Las composiciones de la presente invención se pueden formular para su incorporación en una amplia gama de composiciones para el control de plagas, tales como las descritas en la Patente de los Estados Unidos No. 6,720,450 (por ejemplo, en las secciones 2-3 de la descripción detallada de la misma). Por ejemplo, una o más composiciones de la presente invención se pueden formular para uso sola o en combinación con otro componente antipesticida, tal como el descrito en la Patente '450. Del mismo modo, una o más composiciones de esta invención se pueden formular como se describe en este documento, con un componente portador apropiado, para usar contra diversos insectos que ingerirán sangre, incluyendo, pero no se limitan a diversos tipos de mosquitos y plagas de insectos de cultivos agrícolas. Las presentes composiciones se pueden usar como se describe en las mismas para contacto directo, inhibición y/o eliminación de mosquitos, que incluyen larvas, crisálidas y/o formas adultas de los mismos. Alternativamente, las presentes composiciones se pueden usar y/o formular para la acción repelente. Independientemente, tal (s) composición (es) puede (n) estar presente (s) en una cantidad fácilmente determinada por un experto en el arte sin una excesiva experimentación y puede incluir opcionalmente un componente surfactante. Dicho surfactante puede ser un biosurfactante. Sin limitación, dicho biosurfactante se puede seleccionar entre monorhamnolípidos, dirhamnolípidos y combinaciones de los mismos.

10

15

20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición antimicrobiana que consiste en acetaldehído; acetato de etilo; 2-butanona; ácido propanoico, 2-metil-, éster metílico; etanol; ácido acético, éster 2-metilpropílico; ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilpropílico; 1-propanol, 2-metil-; 1-butanol, 3-metil-, acetato; ácido propanoico, 2-metil-, éster 2-metilbutílico; 1-butanol, 3-metil-; ácido propanoico, 2-metil-; y éster 2-feniletílico del ácido acético.
2. La composición de la reivindicación 1 incorporada con un artículo de fabricación.
- 10 3. La composición de la reivindicación 1, en la que la composición es apropiada para aplicarse a un sustrato vegetal.
4. La composición de la reivindicación 3, en la que dicho sustrato se selecciona de frutas, nueces y verduras después de la cosecha.
- 15 5. La composición de la reivindicación 1, en la que la composición es apropiada para aplicarse mediante vaporización de dicha composición.
6. Una formulación que comprende la composición de la reivindicación 1 y que comprende un componente de ramnolípido.
- 20 7. Una formulación que comprende la composición de la reivindicación 1 y agua.

Figura 1

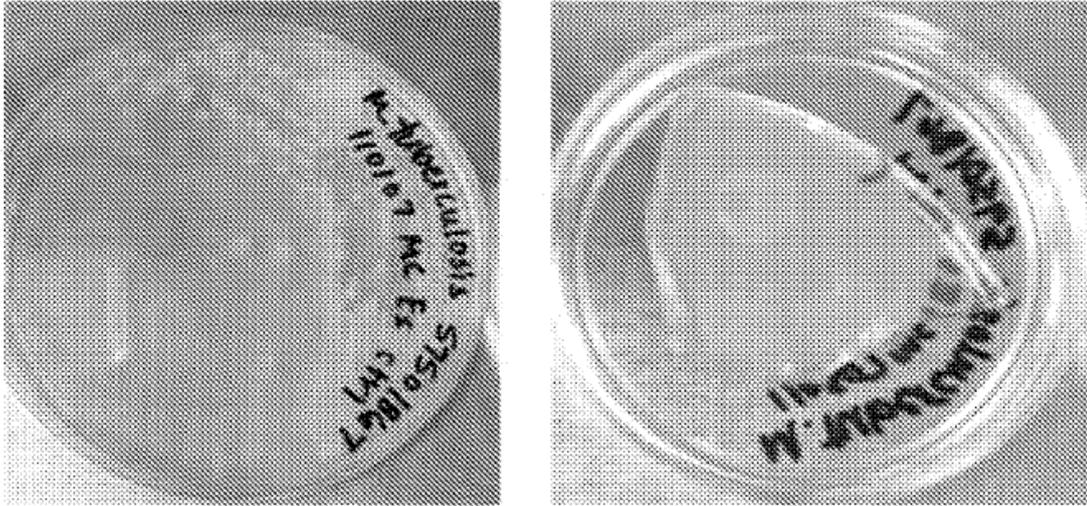


Figura 2

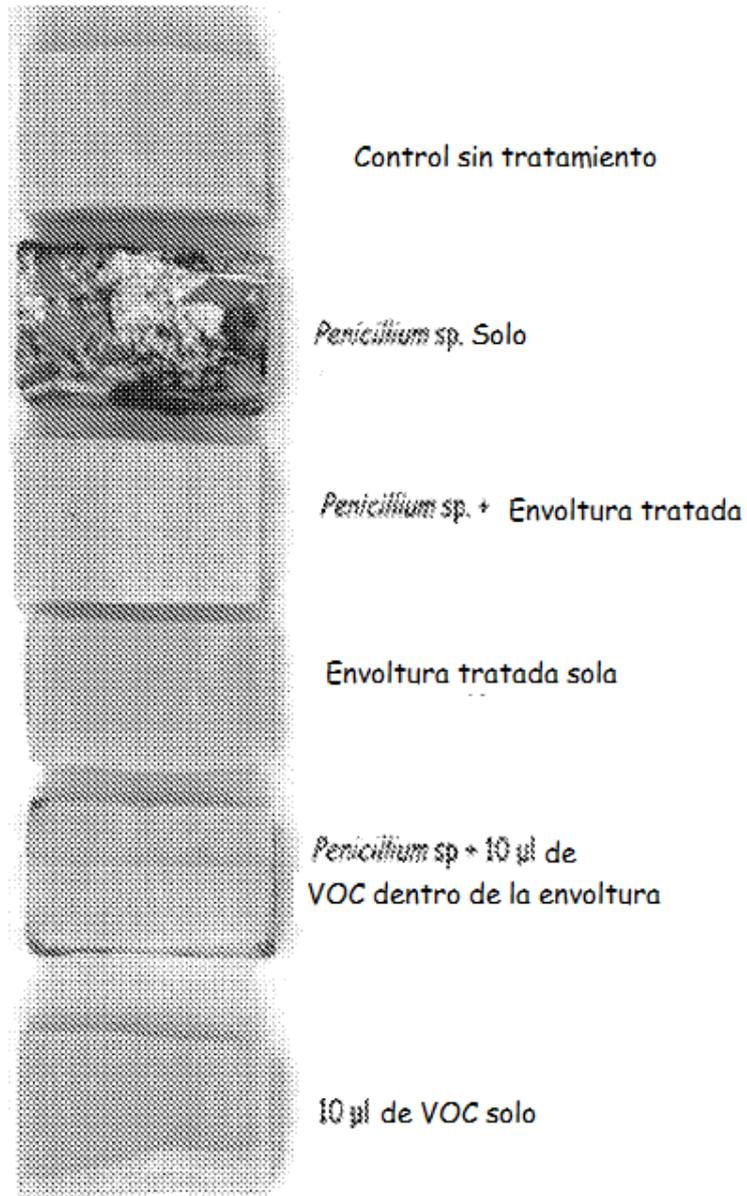


Figura 3

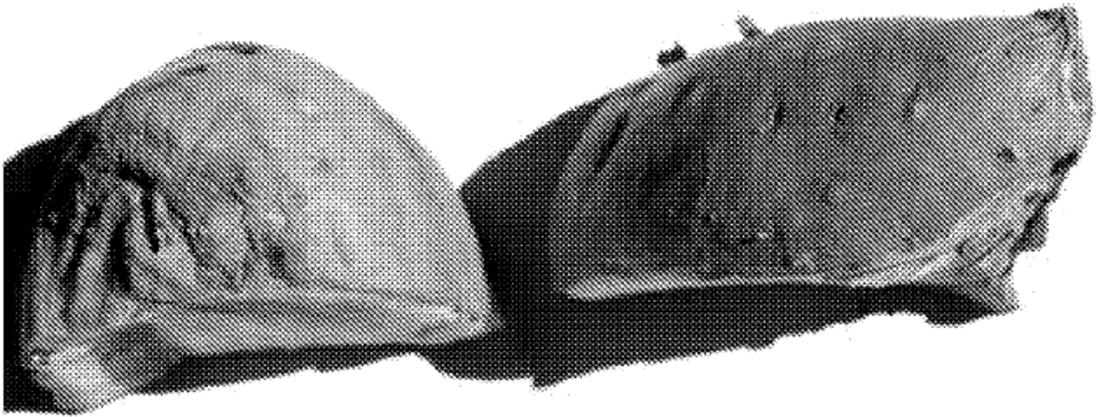


Figura 4

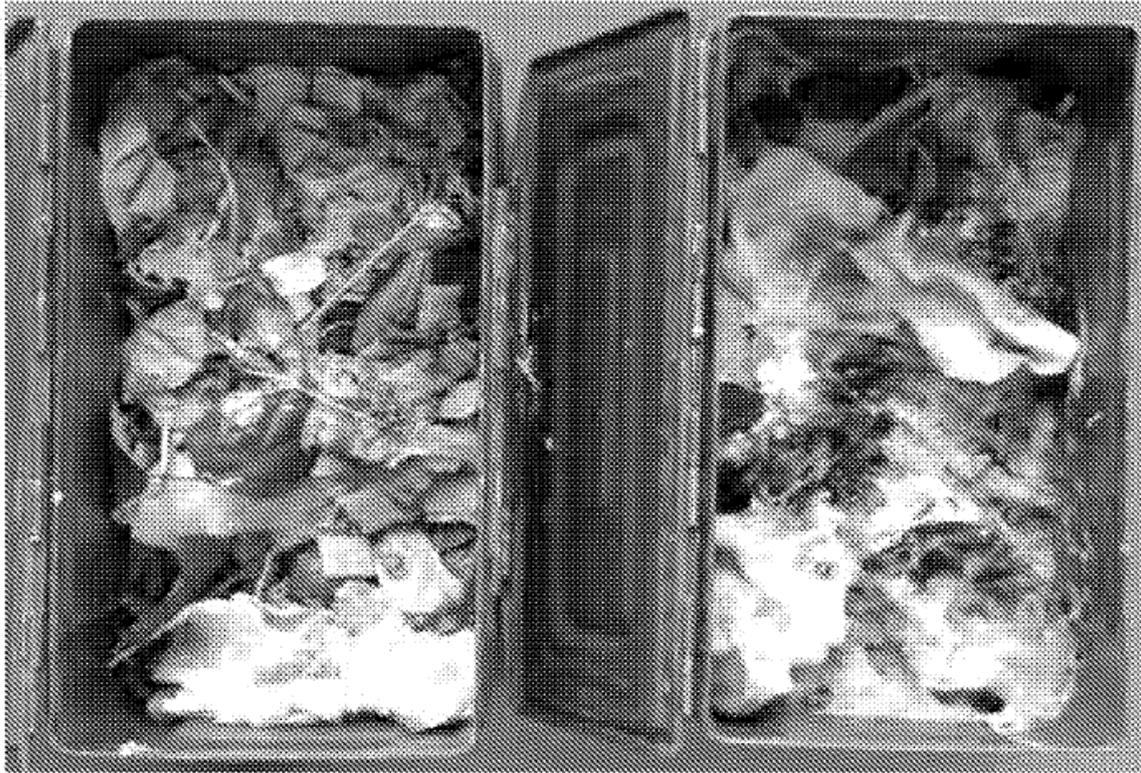


Figura 5

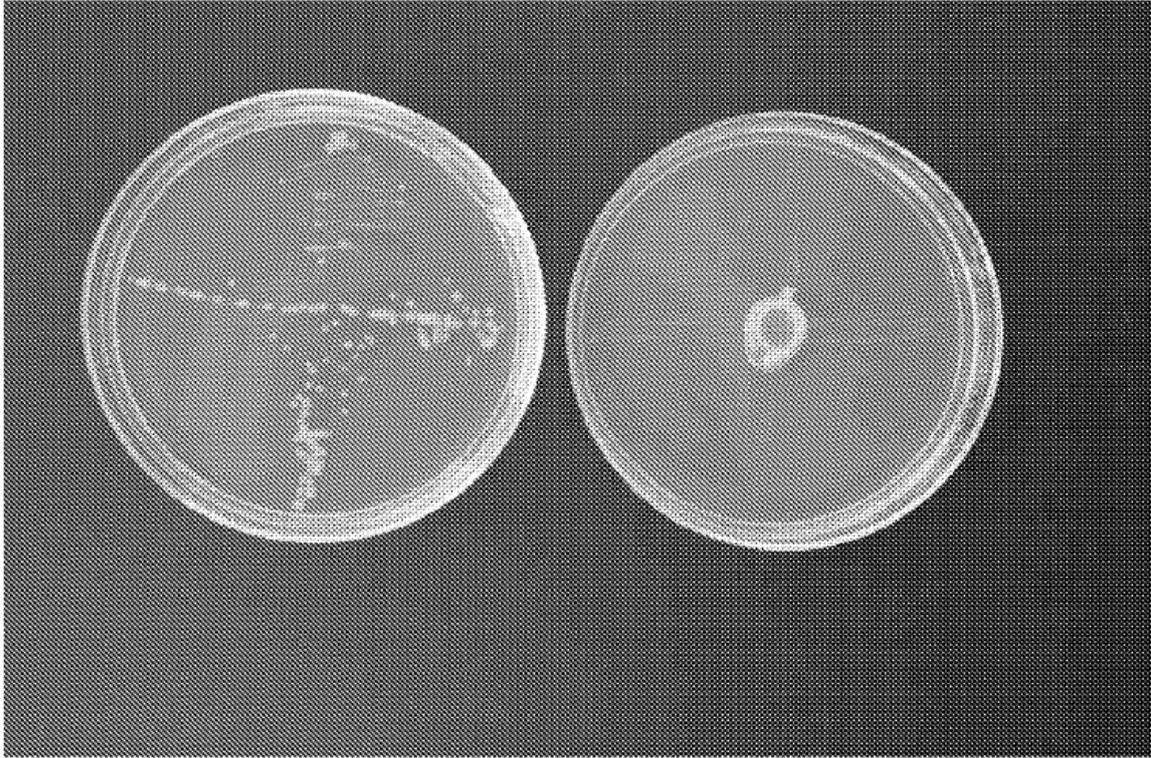
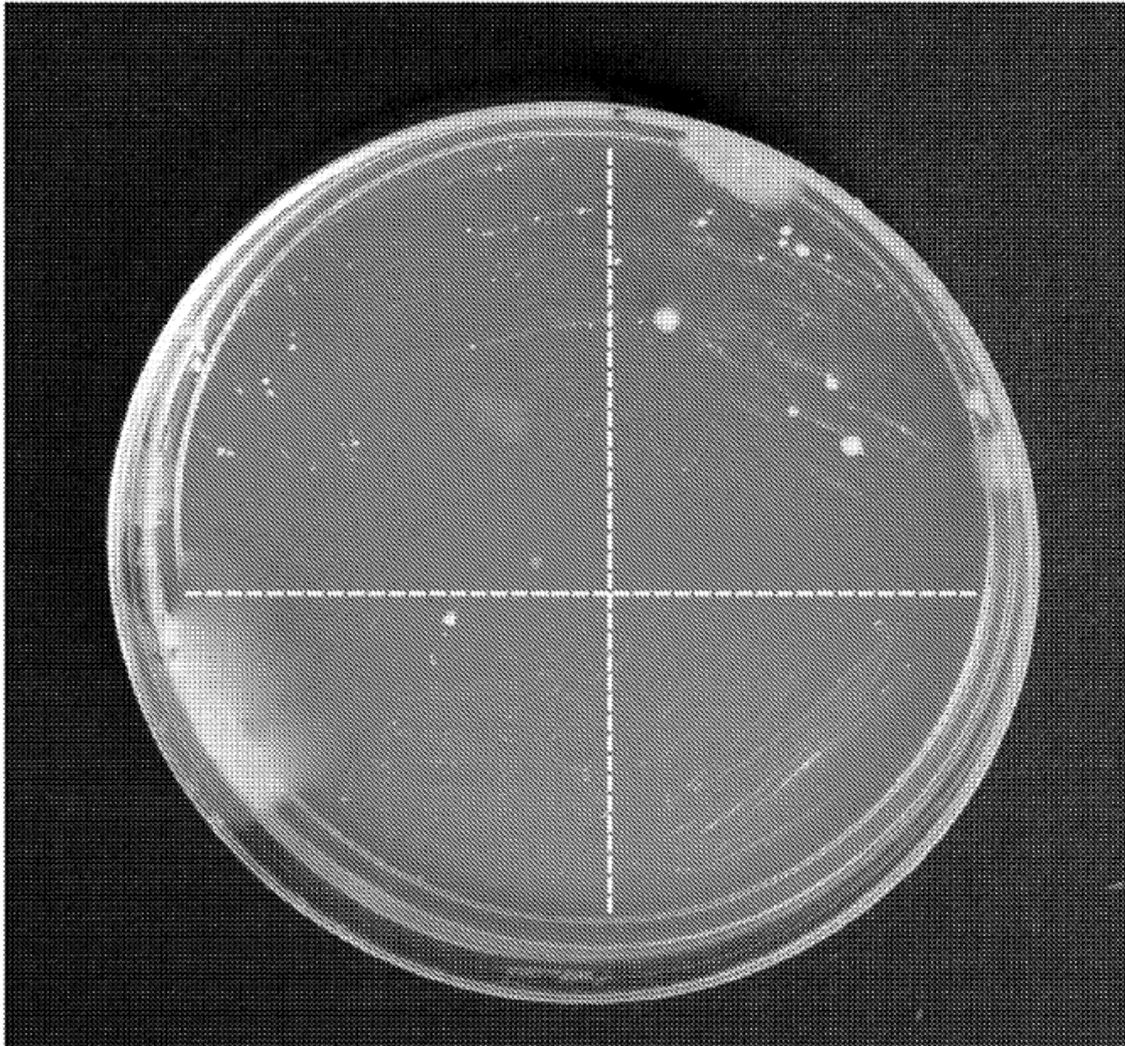


Figura 6



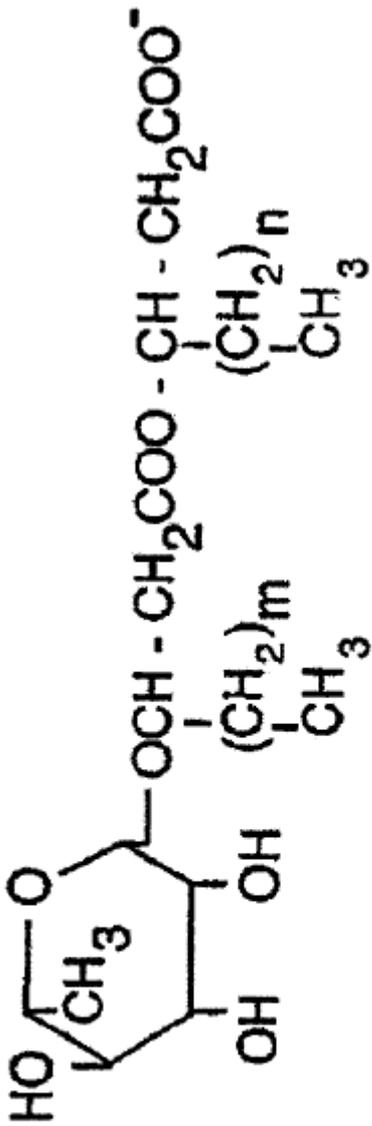


Figura 7A

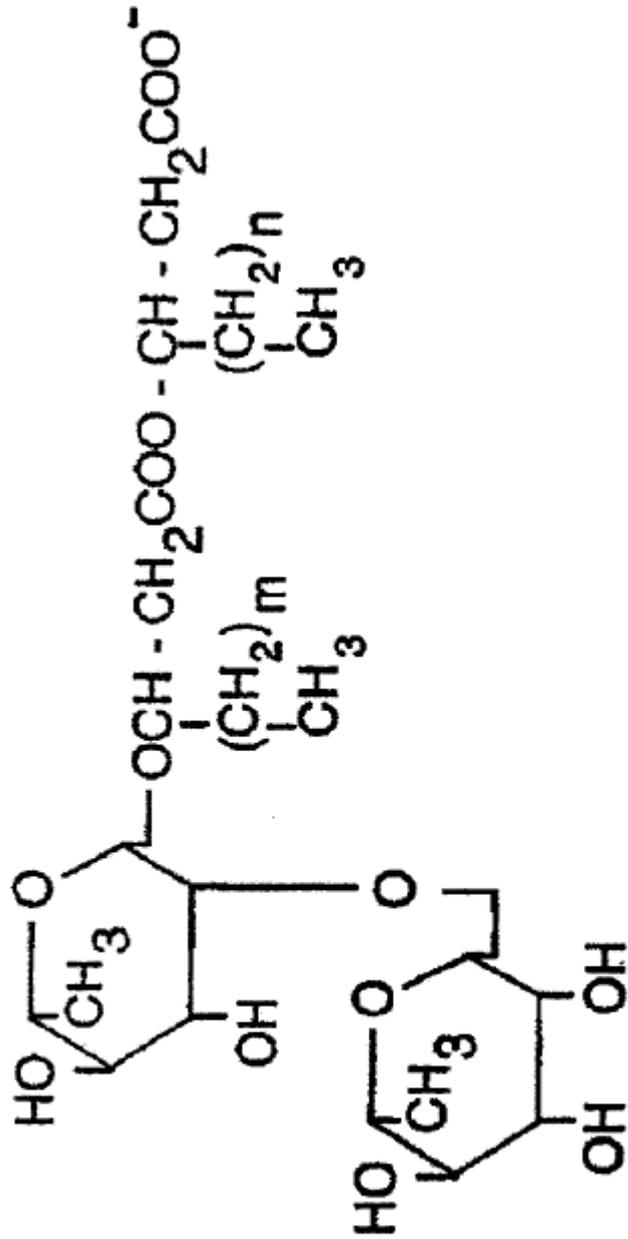
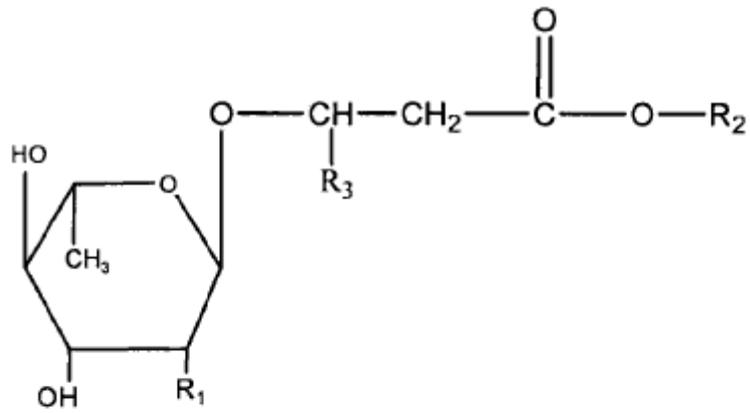
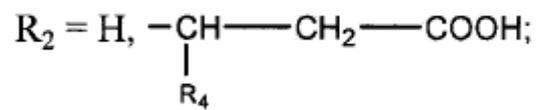


Figura 7B



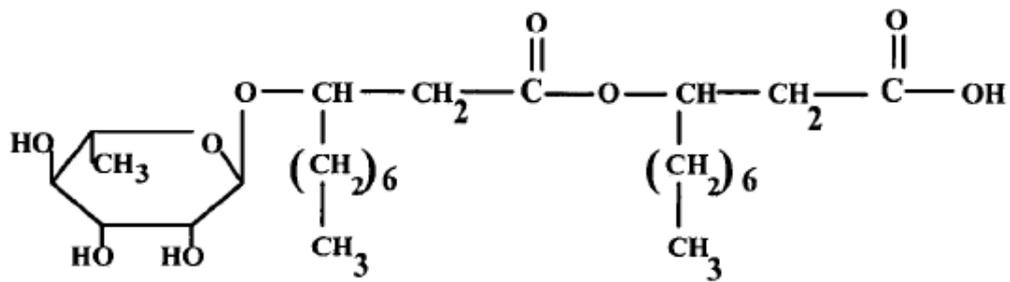
R₁ = H, OH, alfa-L-ramnopiranosilo;



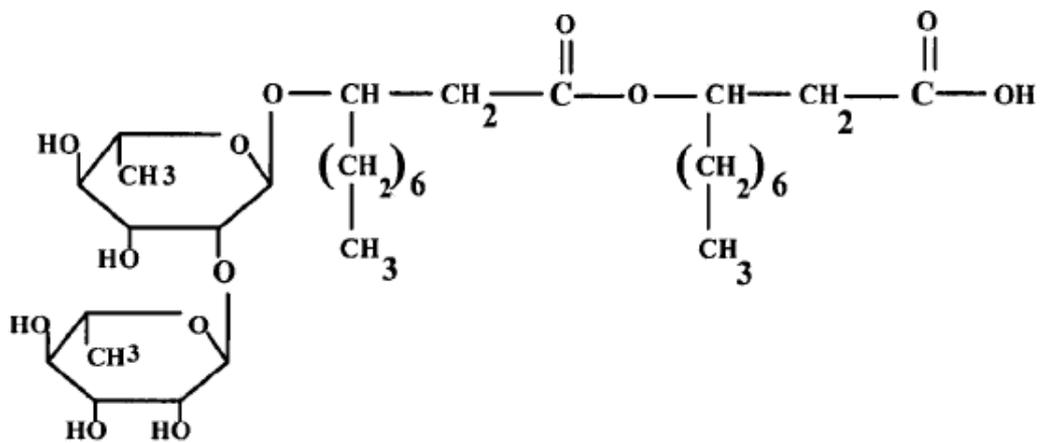
R₃ = (C₅-C₂₀)- saturado, -mono- de alquilo
poli-insaturado;

R₄ = (C₅-C₂₀)- saturado, -mono- de alquilo
poli-insaturado;

Fig. 8



R1 -- α -L-RAMNOPIRANOSIL- β -HIDROXIDECANOIL
- β -HIDROXIDECANOATO



R2 - 2-O- α -L-RAMNOPIRANOSIL- α -L-RAMNOPIRANOSIL
- β -HIDROXIDECANOIL- β -HIDROXIDECANOATO

Fig. 9