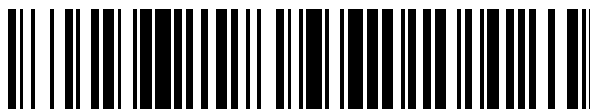


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 959**

51 Int. Cl.:

A01N 43/16 (2006.01)
A01N 43/38 (2006.01)
A01N 51/00 (2006.01)
A01N 25/02 (2006.01)
A01N 65/00 (2009.01)
A01N 65/08 (2009.01)
A01P 3/00 (2006.01)
A01P 5/00 (2006.01)
A01P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.08.2014** **PCT/CA2014/000601**
87 Fecha y número de publicación internacional: **05.02.2015** **WO15013808**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.08.2014** **E 14832979 (0)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2019** **EP 3027030**

54 Título: **Composiciones de biopesticida que comprenden polioles solubles en agua**

30 Prioridad:

02.08.2013 US 201361861518 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
15.07.2020

73 Titular/es:

MUSTGROW BIOLOGICS CORP. (100.0%)
Tower at Midtown 201-1st Avenue South
Suite 1005
Saskatoon, SK S7K 1J5, CA

72 Inventor/es:

ROBINSON, JAMES y
HETHERINGTON, MARK ANDREW

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 773 959 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 de biopesticida que comprenden polioles solubles en agua

5 Solicitud relacionada

Campo de la divulgación

10 La presente divulgación se refiere a novedosas composiciones líquidas que comprenden compuestos obtenibles de plantas para el tratamiento de plagas y métodos de preparación y uso de dichas composiciones.

Antecedentes de la divulgación

15 Los siguientes párrafos no son una admisión de que cualquier cosa tratada en ellos sea estado de la técnica o parte del conocimiento de los expertos en la técnica.

Se conocen del estado de la técnica diversas composiciones de pesticida obtenibles de fuentes naturales. Estos denominados "biopesticidas" se pueden preparar a partir de, por ejemplo, plantas. Así, se ha demostrado que los productos preparados a partir de plantas de mostaza presentan efectos inhibidores contra artrópodos, malas hierbas, hongos y bacterias (véase: Brown, J. y Morra M.J, 2005, Subcontract Report National Renewable Energy Laboratory NREL/SR-510-35254). Se proporcionan composiciones de biopesticida adicionales obtenibles de plantas por la solicitud de patente en tramitación junto con la presente del solicitante, la solicitud de patente de EE. UU. N° 14/314.661, y que desvela precursores de biopesticida inactivo. Los precursores de biopesticida inactivo no tienen propiedades pesticidas en sí mismos, facilitando así el almacenamiento y el transporte seguro. Las composiciones desveladas se proporcionan en forma seca, o como un sistema de dos componentes. También se conocen en la técnica otras composiciones inactivas secas inactivas (véase, por ejemplo: la patente de EE.UU. 7.901.701). Se requiere la mezcla con agua de los compuestos precursores secos de biopesticida para obtener el biopesticida activo. En algunos ámbitos de operación, en particular donde está implicado el uso de volúmenes sustanciales de biopesticida, por ejemplo en operaciones agrícolas a gran escala, puede ser menos deseable la mezcla de compuestos precursores secos de biopesticida con agua. Se requieren grandes tanques de mezcla, y tras la mezcla se necesita transferir el biopesticida activo a dispositivos usados para la aplicación de pesticidas, tales como un pulverizador o un sistema de riego. En particular, donde se usa un sistema de riego para la aplicación del biopesticida, se desea que los compuestos precursores de biopesticida estén disponibles en forma líquida y puedan entrar directamente en el sistema de riego. Además, donde los compuestos precursores de biopesticida se proporcionan en forma seca u otra forma que no es fácilmente miscible con agua (por ejemplo, cuando se formula con aceite como un vehículo), desviaciones de las condiciones óptimas de la mezcla pueden conducir a la disolución parcial de los compuestos secos en el agua y consecuentemente a la pérdida de potencia del pesticida. Finalmente, la preparación de compuestos secos de biopesticida requiere la retirada de agua del material de planta, que representa un factor de coste. El documento de patente WO 97/14309 proporciona composiciones precursoras de pesticida que comprenden salvado de una mostaza del género Brassica y métodos de control de las plagas de la tierra por aplicaciones de las composiciones precursoras de pesticida a la tierra.

45 Por tanto, todavía existen significativas limitaciones en las composiciones basadas en material de planta capaces de controlar las plagas conocidas por el estado de la técnica. En particular, existe una necesidad de composiciones líquidas que comprendan compuestos precursores de biopesticida inactivo.

Sumario de la divulgación

50 Los siguientes párrafos pretenden introducir al lector en la descripción más detallada que sigue y no para definir o limitar la materia reivindicada.

La presente divulgación se refiere a composiciones líquidas para el tratamiento de plagas. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona, en al menos un aspecto, al menos una realización que comprende una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo y menos de 0,5 % (p/p) de productos de degradación de glucosinolato, comprendiendo dicha composición líquida:

- (a) un concentrado de glucosinolato;
- (b) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua; y
- 60 (c) un poliol soluble en agua en donde el poliol soluble en agua es al menos soluble al 10 % en peso a 20 °C.

En una realización adicional, según la presente divulgación, la mirosinasa activa se obtiene o es obtenible de un material de planta. El material de planta se obtiene preferentemente de o es obtenible de plantas de mostaza.

65 En una realización adicional preferida, el poliol soluble en agua es glicerol, polietilenglicol o propilenglicol.

La presente divulgación, en una realización adicional, proporciona un método de preparación de una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo que comprende mezclar:

- (a) un concentrado de glucosinolato;
- (b) un material de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua; y
- (c) un soluble en agua, en donde el poliol soluble en agua es al menos soluble al 10 % en peso a 20 °C,

para obtener una composición líquida que comprende productos de degradación de glucosinolato en una cantidad inferior a 0,5 % (p/p).

La presente divulgación, en una realización adicional, proporciona un método de control de plagas que comprende:

- (a) añadir agua a una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo y menos de 0,5 % (p/p) de productos de degradación de glucosinolato, comprendiendo dicha composición líquida:

- (i) un concentrado de glucosinolato;
- (ii) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua a la mezcla; y
- (iii) un poliol soluble en agua, en donde el poliol soluble en agua es al menos soluble al 10 % en peso a 20 °C; y

(b) aplicar la composición líquida en la etapa (a) a una plaga.

En realizaciones adicionales, la presente divulgación proporciona un kit de aplicación de pesticida que contiene una formulación líquida que comprende:

- (a) un concentrado de glucosinolato;
- (b) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua; y
- (c) un poliol soluble en agua; en donde el poliol soluble en agua es al menos soluble al 10 % en peso a 20 °C, junto con instrucciones referentes a la adición de agua a la formulación líquida para formar una formulación líquida diluida y la aplicación posterior a una plaga, opcionalmente en donde cualquiera o ambos del concentrado de glucosinolato o el complejo de mirosinasa activo se disuelven en un poliol soluble en agua.

Otras características y ventajas de la presente divulgación serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Se debe entender, sin embargo, que la descripción detallada, aunque indica realizaciones preferidas de la divulgación, se dan a modo de ilustración solo.

Descripción detallada de la divulgación

Se describirán a continuación diversas composiciones o procesos para proporcionar un ejemplo de una realización de cada materia reivindicada. Ninguna realización descrita a continuación limita ninguna materia reivindicada y ninguna materia reivindicada puede cubrir procesos, composiciones o sistemas que se diferencian de los descritos más adelante. La materia reivindicada no se limita a composiciones o procesos que tienen todas las características de una composición, sistema o proceso cualquiera descrito a continuación o a las características comunes a múltiples o todas las composiciones, sistemas o procesos descritos a continuación. Es posible que una composición, sistema o proceso descrito a continuación no sea una realización de cualquier materia reivindicada. Cualquier materia desvelada en una composición, sistema o proceso descrito a continuación que no se reivindica en este documento puede ser la materia de otro instrumento protector, por ejemplo, una solicitud de patente en curso, y los solicitantes, inventores o propietarios no pretender abandonar, renunciar o entregar al público dicha materia por su divulgación en este documento.

Se debe observar que términos de grado tales como "sustancialmente" y "aproximadamente", como se usan en el presente documento, significan una cantidad razonable de desviación del término modificado tal que el resultado final no sea significativamente cambiado. Estos términos de no anulara el significado del término que modifica.

Como se usa en el presente documento, la expresión "y/o" pretende representar un o inclusivo. Es decir, "X y/o Y" pretende significar X o Y o ambos, por ejemplo. Como ejemplo adicional, "X, Y, y/o Z" pretende significar X o Y o Z o cualquier combinación de los mismos.

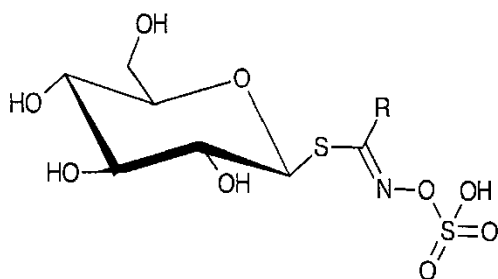
Como se mencionó anteriormente en este documento, la presente divulgación se refiere a composiciones líquidas para el tratamiento de plagas. Las composiciones de la presente divulgación son particularmente útiles por que comprenden compuestos precursores de biopesticida inactivo, que facilitan el almacenamiento y el transporte de los mismos. Además, las composiciones de la presente divulgación son líquidas y son fácilmente miscibles con agua para obtener un biopesticida activo. Según la presente divulgación, se ha encontrado que las composiciones líquidas

de la presente divulgación comprenden precursores inactivos que no se convierten en un biopesticida activo, a menos que las composiciones se mezclen con cantidades suficientes de agua. Además, las composiciones líquidas de la presente divulgación comprenden cantidades sustanciales de precursores de biopesticida disueltos en un poliol soluble en agua. Sorprendentemente, la formulación de los precursores de biopesticida en presencia del poliol soluble en agua no afecta negativamente la potencia del biopesticida y tras la mezcla con cantidades suficientes de agua se obtiene un compuesto pesticida activo. Las formulaciones, tras la mezcla con cantidades suficientes de agua, son sustancialmente pesticidamente activas. Las formulaciones de la presente divulgación proporcionan los precursores de biopesticida en una única formulación líquida. Las anteriores características de las composiciones de la presente divulgación convierten estas composiciones en particularmente atractivas para su uso junto con la aplicación a plagas usando sistemas de riego agrícola.

Se describe en el presente documento una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo sustancialmente libre de productos de degradación de glucosinolato, comprendiendo dicha composición líquida:

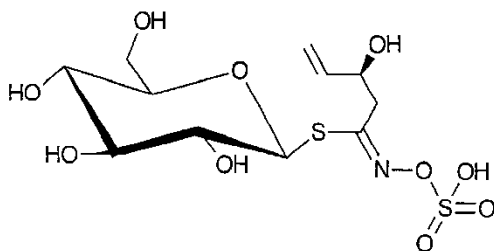
- (a) un concentrado de glucosinolato;
- (b) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua; y
- (c) un poliol soluble en agua

El término "glucosinolato" como se usa en el presente documento se refiere a una clase de compuestos químicos que tienen una fórmula estructural (I):



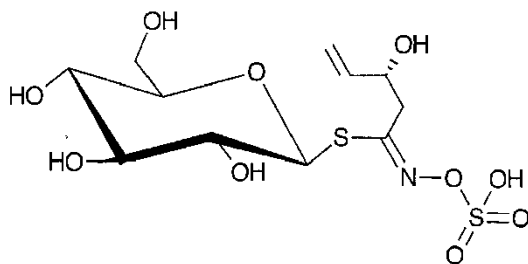
(I),

en donde R es un derivado de un aminoácido, que incluye metionina, fenilalanina, tirosina o triptófano, que incluye cualquiera de los derivados de cualquiera de los aminoácidos anteriores que tienen los grupos R a modo de ejemplo incluidos en los compuestos químicos (II); (III); (IV); o (V), como se muestra a continuación, y, además, que incluyen los grupos R a modo de ejemplo mostrados en la Tabla VII a continuación. Los ejemplos de glucosinolatos incluyen, pero no se limitan a, progoitrina, epiprogoitrina, sinigrina y sinalbina. "Progoitrina", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto químico que tiene un grupo R (*R*)-2-hidroxi-3-butenilo y que tiene una fórmula estructural (II):



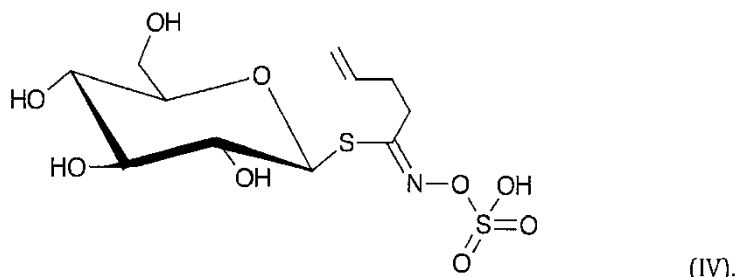
(II).

"Epiprogoitrina" como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto químico que tiene un grupo R (*S*)-2-hidroxi-3-butenilo y una fórmula estructural (III):

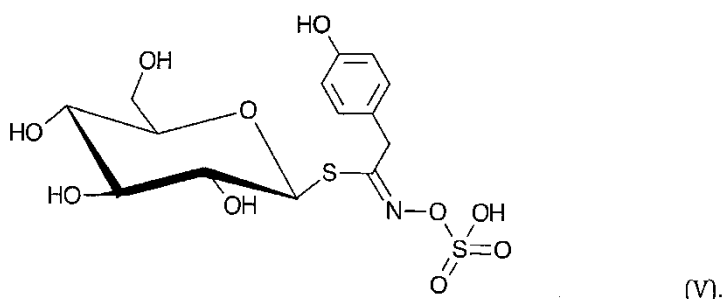


(III).

"Sinigrina" como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto químico que tiene un grupo R alilo y una fórmula estructural (IV):



"Sinalbina" como se usa en el presente documento se refiere a compuestos químicos que tienen un grupo R *p*-hidroxibencilo y una fórmula estructural (V):



El término glucosinolato se refiere además a compuestos químicos que son compuestos precursores de ciertos compuestos pesticidas sustancialmente activos, pero son en sí mismos sustancialmente inactivos como pesticidas. Los grupos R adicionales a modo de ejemplo de glucosinolatos se exponen en la tabla VII más adelante.

El término "producto de degradación de glucosinolato", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos químicos obtenibles de la hidrólisis del glucosinolato. Estos compuestos incluyen, pero no se limitan a, tres clases de productos de degradación de glucosinolato conocidos como nitrilo, tiocianato e isotiocianato. Así, los productos de glucosinolato pueden incluir un nitrilo, un tiocianato o un isotiocianato, y/o mezclas de dos cualquiera, o tres de las clases de compuestos mencionadas anteriormente. Como se usa en el presente documento, "nitrilo" se refiere a una clase de compuestos químicos que tienen una fórmula estructural (VI):



en donde R es un derivado de un aminoácido, que incluye metionina, fenilalanina, tirosina o triptófano, que incluye cualquiera de los derivados específicos de los aminoácidos anteriores que tienen los grupos R mostrados incluidos en los compuestos químicos (II); (III); (IV); o (V) (con referencia al compuesto químico (I); es decir, un grupo R (*R*)-2-hidroxi-3-butenilo; (*S*)-2-hidroxi-3-butenilo; alilo; y *p*-hidroxibencilo, respectivamente) y, además, que incluye cualquiera de los grupos R mostrados en la Tabla VII más adelante. Como se usa en el presente documento, "tiocianato" se refiere a una clase de compuestos químicos que tienen una fórmula estructural (VII):



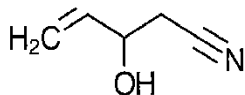
en donde R es un derivado de un aminoácido que incluye metionina, fenilalanina, tirosina o triptófano, que incluye cualquiera de los derivados específicos de los aminoácidos anteriores que tienen los grupos R mostrados incluidos en los compuestos químicos (II); (III); (IV); o (V) (con referencia al compuesto químico (I); es decir, un grupo R (*R*)-2-hidroxi-3-butenilo; (*S*)-2-hidroxi-3-butenilo; alilo; y *p*-hidroxibencilo, respectivamente) y, además, que incluye cualquiera de los grupos R mostrados en la Tabla VII más adelante. Como se usa en el presente documento, "isotiocianato" se refiere a una clase de compuestos químicos que tienen una fórmula estructural (VIII):



en donde R es un derivado de un aminoácido que incluye metionina, fenilalanina, tirosina o triptófano, que incluye

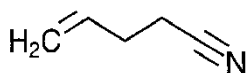
cualquiera de los derivados específicos de los aminoácidos anteriores que tienen los grupos R mostrados incluidos en los compuestos químicos (II); (III); (IV); o (V) (con referencia un compuesto químico (I); es decir, un grupo R (*R*)-2-hidroxi-3-butenilo; (*S*)-2-hidroxi-3-butenilo; alilo; y *p*-hidroxibencilo, respectivamente) y, además, que incluye cualquiera de los grupos R mostrados en la Tabla VII a continuación.

Los ejemplos adicionales, sin limitación, de compuestos de nitrilo según el presente documento son 1-ciano-2-hidroxi-3-buteno y cianuro de alilo. Como se usa en el presente documento, "1-ciano-2-hidroxi-3-buteno" se refiere a un compuesto químico que tiene una fórmula estructural (IX):



(IX).

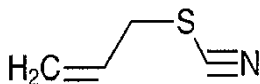
Como se usa en el presente documento, "cianuro de alilo" se refiere a un compuesto químico que tiene una fórmula estructural (X):



(X).

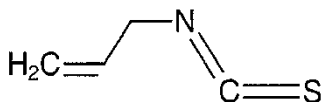
Según el presente documento, el nitrilo puede ser 1-ciano-2-hidroxi-3-buteno o cianuro de alilo o una mezcla de los mismos.

Un ejemplo adicional, sin limitación, de un tiocianato según el presente documento es tiocianato de alilo. "Tiocianato de alilo" o "ATC" como se usa indistintamente en el presente documento se refiere a un compuesto químico que tiene la fórmula estructural (XI):



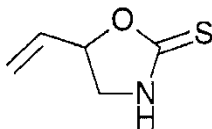
(XI).

Un ejemplo adicional, sin limitación, de un compuesto de isotiocianato según el presente documento es isotiocianato de alilo (AITC). "Isotiocianato de alilo" o "AITC" como se usa indistintamente en el presente documento se refiere a un compuesto químico que tiene la fórmula estructural (XII):



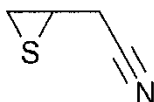
(XII).

Aún más productos de degradación de glucosinolato a modo de ejemplo, sin limitación, según el presente documento son goitrina y epitionitrilo. "Goitrina" o "oxazolidin-tiona" como se pueden usar indistintamente en el presente documento se refieren a un compuesto químico que tiene la fórmula estructural (XIII):



(XIII).

"Epitionitrilo" como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto químico que tiene la fórmula estructural (XIV):



(XIV).

Los productos de degradación de glucosinolato anteriormente en este documento son sustancialmente activos como pesticidas.

Los términos "mirosinasa", "complejo de mirosinasa" y "complejo de mirosinasa activo" que se pueden usar todos en el presente documento se refieren a cualquier enzima, complejo enzimático o ensamblaje enzimático capaz de convertir glucosinolatos, que incluyen, pero no se limitan a, progoitrina, epiprogoitrina, sinigrina y sinalbina, en productos de degradación de glucosinolato sustancialmente pesticidamente activos, que incluyen, pero no se limitan

a, cualquier nitrilo pesticidamente activo, que incluye, pero no se limita a, 1-ciano-2-hidroxi-3 buteno, y cianuro de alilo; cualquier tiocianato pesticidamente activo, que incluye, pero no se limita a, ATC; cualquier isotiocianato pesticidamente activo, que incluye, pero no se limita a, AITC; goitrina y epitionitrilo; y cualquier nitrilo, tiocianato e isotiocianato que tiene un grupo R expuesto en la Tabla VII. La actividad de mirosinasa se expresa en el presente documento en unidades por gramo, en donde 1 unidad de actividad de mirosinasa se define como la cantidad de enzima requerida para hidrolizar 1 micromol de glucosinolato por minuto a pH 6,5 y a una temperatura de 22 °C.

Concentrado de glucosinolato

Según ciertos aspectos en el presente documento, las composiciones líquidas proporcionadas en la presente divulgación comprenden un concentrado de glucosinolato. En ciertas realizaciones, el concentrado de glucosinolato se proporciona en una forma más o menos pura, variando la pureza normalmente desde aproximadamente 5 % hasta aproximadamente 100 %, preferentemente 5 % - 80 % y lo más preferentemente 5 % - 50 %. En ciertas realizaciones, el concentrado de glucosinolato es obtenible por o se obtiene por aislamiento del mismo de fuentes naturales que comprenden glucosinolatos, que incluyen plantas o materiales vegetales que comprenden glucosinolatos. Las plantas que comprenden glucosinolatos que se pueden usar según el presente documento incluyen plantas que pertenecen a las familias de plantas de *Brassicaceae* (*Cruciferae*), *Akianaceae*, *Bataceae*, *Bretschneideraceae*, *Capparaceae*, *Caricaceae*, *Drypetes* (*Euphorbiaceae*), *Gyrostemonaceae*, *Limnanthaceae*, *Moringaceae*, *Pentadiplandraceae*, *Resedaceae*, *Salvadoraceae*, *Tovariaceae* y *Tropealaceae*. Las plantas según el presente documento se pueden obtener fácilmente creciendo o cultivando dichas plantas usando prácticas agrícolas convencionales. En realizaciones preferidas, el concentrado de glucosinolato es obtenible de o se obtiene de una planta de mostaza. El término "mostaza" y "familia de la mostaza" como se usa en el presente documento indica cualquier planta que pertenezca a la familia de *Brassicaceae*, que incluye cualquier planta que pertenece a los géneros *Brassica*, *Sinapis* y *Erysimum*. Las plantas de mostaza que se pueden usar según la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, *Brassica napus* (colza), *Brassica juncea* (mostaza oriental, india o marrón), *Brassica carinata* (mostaza abisinia o etíope), *Brassica nigra* (mostaza negra), *Brassica rapa* (colza), *Sinapis alba* (mostaza amarilla o blanca), *Sinapis arvensis* (mostaza silvestre), *Erysimum corinthium* y cualquier cultivar o variante de las anteriores que incluye el cultivar Canola de *Brassica napus*. Según el presente documento, también se pueden usar mezclas de cualquiera de las plantas o materiales vegetales mencionadas anteriormente en este documento.

El concentrado de glucosinolato se puede preparar triturando, plantas, partes de planta, porciones de planta o material de planta o mezclas de los mismos, opcionalmente lavados. El material de planta incluye, pero no se limita a, semillas de plantas, tallos, raíces u hojas obtenibles de u obtenidas de plantas de una de las especies de plantas mencionadas anteriormente en este documento. La trituración se puede lograr usando un medio de trituración, por ejemplo un molinillo o mezcladora u otro dispositivo capaz de fragmentar sustancialmente las paredes celulares de la planta en el material de planta. Además, se puede obtener una harina de semillas, preferentemente una harina de semillas desaceitada, y usar como un material de partida a partir del cual se prepara el concentrado de glucosinolato. La trituración de material de planta se realiza preferentemente en presencia de agua u otro extractante acuoso, que incluye un tampón acuoso, o un alcohol inferior o cetona inferior o mezclas de los mismos. Los glucosinolatos, que incluye sinigrina, se disolverán fácilmente en dichos extractantes acuosos. Como se usa en el presente documento, "alcohol inferior" o "cetona inferior" son alcoholes C₁ - C₄ y cetonas C₃ - C₄. Además, es particularmente preferible que la trituración se realice a temperaturas más altas, es decir, a temperaturas superiores a aproximadamente 70 °C, y más preferentemente superiores a aproximadamente 80 °C, y lo más preferentemente a aproximadamente 95 °C. La trituración a estas temperaturas dará como resultado la sustancial inactivación irreversible de mirosinasa, previniéndose así la formación de productos de degradación de glucosinolato. Preferentemente, una relación entre material de planta y extractante es inferior a o inferior a aproximadamente 1:100 (p/v), más preferentemente inferior a o inferior a aproximadamente 1:10 (p/v), y lo más preferentemente inferior a o inferior a aproximadamente 1:1 (p/v). La trituración se realiza preferentemente a temperaturas entre 4 °C o aproximadamente 4 °C y 50 °C o aproximadamente 50 °C, y preferentemente entre 18 °C o aproximadamente 18 °C, y 25 °C o aproximadamente 25 °C. En otras realizaciones, la trituración se realiza en ausencia de agua, y agua u otro extractante acuoso, que incluye un tampón acuoso, o un alcohol inferior o cetona inferior o mezclas de los mismos se mezclan posteriormente con el material de planta triturado. El material de planta triturado sólido se puede separar de la fracción líquida usando un medio de separación, que incluye, pero no se limita a, decantación, centrifugación, filtración u otros medios o método para separar la fracción líquida de los sólidos. Tras haber obtenido la fracción líquida, se puede repetir una o más veces la etapa de extracción/separación, para lograr la retirada adicional del sólido. Además, el material sólido se puede extraer dos o más veces, para mejorar el rendimiento. Se puede usar centrifugación adicional para separar aceites vegetales, en realizaciones donde el material de planta triturado comprende aceites vegetales, tales como aceites de semillas de planta, de la de otros materiales vegetales, usando, por ejemplo, evaporación del extractante y filtración, a través de, por ejemplo, una o más etapas de filtración por intercambio iónico, o a través de nanofiltración, para obtener un concentrado más purificado. El concentrado de glucosinolato puede ser liofilizado, o secado por pulverización para obtener un concentrado de glucosinolato sustancialmente seco. Las concentraciones de glucosinolato en el concentrado pueden variar desde aproximadamente 5 % hasta aproximadamente 100 %, preferentemente 5 % - 80 %, y lo más preferentemente 5 % - 50 %. Las metodologías adicionales que proporcionan concentrados de glucosinolato de plantas se describen en la solicitud de patente PCT WO2010023162; Toribio et al., 2007, J. of Chromatography, v 1170, (1-2), pp 44-51; y West et al., 2002, J of Chromatography v 996 (1-2), pp 227 - 232. El concentrado de glucosinolato preparado según el

presente documento está sustancialmente libre de productos de degradación de glucosinolato, y, en un aspecto, es un precursor de pesticida inactivo.

Complejo de mirosinasa activo

Según ciertos aspectos en el presente documento, las composiciones líquidas proporcionadas por la presente divulgación comprenden un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua al mismo. En realizaciones preferidas, el complejo de mirosinasa activo se obtiene o es obtenible de un material de planta. Por consiguiente, en realizaciones preferidas, las composiciones líquidas proporcionadas por la presente divulgación comprenden un material de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua al mismo. En ciertas realizaciones, el material de planta es una parte de planta o porción o material de planta procesado obtenible de una planta que incluye, pero no se limita a, las hojas, tallos, raíces o semillas de plantas, o porciones o mezclas de los mismos. Las plantas que comprenden mirosinasas que se pueden usar según la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, plantas que pertenecen a las familias de plantas de *Brassicaceae* (*Cruciferae*), *Akaniaceae*, *Bataceae*, *Bretschneideraceae*, *Capparaceae*, *Caricaceae*, *Drypetes* (*Euphorbiaceae*), *Gyrostemonaceae*, *Limnanthaceae*, *Moringaceae*, *Pentadiplandraceae*, *Resedaceae*, *Solvodraceae*, *Tovariaceae* y *Tropaeolaceae*, en todas las cuales se han identificado complejos de mirosinasa (Rodman, J.E. (1991) *Phenetics. Systematic. Bot.* 16: 598-618). En realizaciones preferidas, el material de planta que se usa se obtiene o es obtenible de una planta de mostaza. Las plantas de mostaza que se pueden usar según la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, *Brassica napus* (colza), *Brassica juncea* (mostaza oriental, india o marrón), *Brassica carinata* (mostaza abisinia o etíope), *Brassica nigra* (mostaza negra), *Brassica rapa* (colza), *Sinapis alba* (mostaza amarilla o blanca), *Sinapis arvensis* (mostaza silvestre), *Erysimum corinthium* y cualquier cultivar o variante de las anteriores que incluye el cultivar Canola de *Brassica napus*. También se pueden usar mezclas de plantas o materiales vegetales de las plantas mencionadas anteriormente.

En ciertos aspectos de la presente divulgación, el material de planta como se usa en el presente documento se trata tal como para producir un material de planta procesado que comprende un complejo de mirosinasa activo o un extracto de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo. El material de planta puede ser más o menos procesado según el presente documento, y puede estar más o menos húmedo o seco. Las concentraciones de agua pueden variar entre aproximadamente 2 % y aproximadamente 98 %, y preferentemente se mantienen entre aproximadamente 1 % y 6 % o entre 80 % y 98 %, dependiendo de si se desea un concentrado relativamente acuoso o relativamente seco. Según la presente divulgación, el material de planta se prepara de tal manera que se retenga la actividad de mirosinasa. Las condiciones de preparación adecuadas para retener la actividad de mirosinasa incluyen temperaturas que en general se mantienen por debajo de preferentemente 60 °C o aproximadamente 60 °C, más preferentemente por debajo de 45 °C o aproximadamente 45 °C y lo más preferentemente por debajo de 30 °C o aproximadamente 30 °C. En dichas condiciones el material de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo se puede obtener y usar según la presente divulgación. En ciertas realizaciones de la presente divulgación, el material de planta que comprende cantidades sustanciales de aceites vegetales se usa según el presente documento, tal como semillas de plantas. En dichas realizaciones, es preferible separar el aceite del material de planta. Esto se puede llevar a cabo mediante el uso de, por ejemplo, sin limitación, medios de extracción con disolvente, medios de prensa hidráulica, medios de prensado por expulsor, medios de prensado en frío y otros medios de retirada de aceite, que serán conocidos por los expertos en la técnica, para obtener un material de planta desaceitado o desengrasado. En otras realizaciones, se pueden retirar otras fracciones o partes del material de planta. Así, se pueden retirar las cáscaras de semilla del material de semilla de la planta para obtener un material de semilla de la planta que comprende un complejo de mirosinasa activo. El complejo de mirosinasa activo también se puede concentrar por procesos tales como extracción y fraccionamiento del extracto. La extracción se puede lograr usando un extractante acuoso, que incluye, pero no se limita a, agua, un tampón acuoso, o un alcohol inferior o cetona inferior o mezclas de los mismos. Se puede usar opcionalmente procesamiento adicional para obtener material de planta que comprende mirosinasa en una forma más concentrada. Pueden variar las concentraciones de complejo de mirosinasa activo en el material de planta tras la concentración.

En ciertos aspectos en el presente documento, se prepara un material seco de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua. Dicho material de planta seco se puede preparar por la retirada de agua endógena presente en el material de planta. Se puede conseguir el secado del material de planta según el presente documento usando una variedad de metodologías tales como, sin limitación, procesamiento de material de semillas de la planta mediante el uso de un medio de secado de granos o un medio de acondicionamiento de semillas diseñado para retirar la humedad del material hasta un nivel definido, que se puede combinar como se mencionó anteriormente en este documento con procesamiento adicional del material de planta usando extracción acuosa y fraccionamiento. Otros medios que se pueden usar según el presente documento para obtener material seco de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo incluyen secado por pulverización, secado rápido y medios de liofilización. Las condiciones de secado aplicadas preferentemente son relativamente suaves, sin embargo para periodos muy breves (milisegundos), donde se usa el secado por pulverización, las temperaturas pueden ser relativamente altas, por ejemplo, aproximadamente 150 °C, o 120 °C o aproximadamente 100 °C. Las temperaturas

de secado rápido están preferentemente entre aproximadamente 30 °C y aproximadamente 80 °C, y más preferentemente entre aproximadamente 40 °C y aproximadamente 60 °C. La liofilización se realiza a continuación 0 °C y más preferentemente por debajo de -18 °C. El secado del material de planta se puede realizar antes y/o después de cualquier otro procesamiento opcional del material de planta. Tras completarse del secado del material de planta, la humedad relativa del material de planta es preferentemente inferior a 10 % o aproximadamente 10 %, y más preferentemente inferior a aproximadamente 7 % o 7 %.

Según ciertos aspectos en el presente documento, la presente divulgación proporciona una realización en la que el material de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua, es una harina de semillas. En dicha realización, la harina de semillas se obtiene preferentemente de o es obtenible de semillas de mostaza. Según esta realización, se puede usar cualquier proceso que dé una harina de semillas de mostaza que comprende un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua. La semilla de mostaza se puede obtener fácilmente mediante la producción agrícola convencional de plantas de mostaza. La semilla de mostaza se limpia preferentemente, para retirar material de planta distinto de mostaza, y se seca antes del procesamiento adicional. Para limpiar la semilla de mostaza, la semilla se puede someter a un procedimiento de separación elemental, por ejemplo, pero no se limita a, poniendo en contacto la semilla de mostaza con un medio de separación tal como tamiz vibrador o una máquina limpiadora de grano, por ejemplo, pero no se limita a, una máquina limpiadora de grano tal como la fabricada por Damas A/S (Dinamarca). Mediante dicha operación, la semilla de mostaza se puede separar del material de semilla distinto de mostaza, tal como rocas, ramas, suciedad, hojas, semillas de malas hierbas, cascarillas sueltas, etc. La semilla de mostaza se puede secar opcionalmente, usando, por ejemplo, pero no se limita a, medios usados para el secado de grano, tal como una secadora de grano, por ejemplo una secadora de grano como se fabrica por Vertec Industries Limited (Canadá). Los medios de secadora de grano son operados tal que el contenido de humedad de la semilla se reduzca entre 5 % o aproximadamente 5 % y 7 % o aproximadamente 7 %. La semilla de mostaza secada se puede almacenar o mezclar con otra semilla de mostaza. Para preparar harina de semillas de mostaza, el recubrimiento externo de las semillas, también conocido como la cascarilla o el salvado de las semillas, se retira opcionalmente de la semilla moliendo o agrietando la semilla o usando otro proceso abrasivo adecuado para obtener el núcleo de la semilla. El contenido de aceite o grasa en la harina de semillas que se prepara puede variar. Las harinas ricas en grasas y las harinas desengrasadas se pueden usar ambas según la presente divulgación. Si se desea una harina rica en grasas, entonces la semilla de mostaza, u opcionalmente el núcleo de las semillas, se somete a un proceso que no resulta en la extracción de aceite. Si se desea una harina desengrasada, entonces la semilla, u opcionalmente el núcleo de las semillas, se somete a un proceso resultante en la retirada de aceite. En realizaciones preferidas de la presente divulgación, se prepara una harina desengrasada. Por consiguiente, la semilla de mostaza o el núcleo de las semillas se muele preferentemente usando un medio de molienda, por ejemplo, sin limitación, un molino de martillos, para obtener harina de mostaza. El aceite de semilla se puede retirar de la harina por ejemplo, sin limitación, por extracción con disolvente orgánico, usando, por ejemplo, sin limitación, hexano, o por separación mecánica de los componentes de la semilla distintos de aceite. La separación mecánica se puede lograr usando, por ejemplo, sin limitación, un expulsor o prensa de aceite, tal como una prensa de aceite tal como un Tåby Press fabricada por Skeppsta Maskin AB (Suecia) o un expulsor de aceite Komet fabricado por Monforts Oekotec GmbH (Alemania). También se puede usar una combinación de retirada mecánica de aceite seguido por extracción con disolvente orgánico para lograr la retirada adicional de aceite de la semilla de mostaza. Preferentemente, la harina de semillas de mostaza usada según la presente divulgación comprende entre al menos 2 % o aproximadamente 2 % y no más de 50 % o aproximadamente 50 % del contenido de aceite de semilla total, y más preferentemente aproximadamente entre 10 % o aproximadamente 10 %, y 15 % o aproximadamente 15 %, y lo más preferentemente 15 % o aproximadamente 15 % del contenido de aceite de semilla total. La harina de semillas obtenida comprende complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua. La cantidad de agua presente en la preparación de mirosinasa final puede variar desde 1-99 %, por ejemplo entre 60-90 %, 70-90 % o 80-90 %. En realizaciones preferidas de la presente divulgación, la harina de semillas de mostaza que comprende complejo de mirosinasa activo tiene un contenido de humedad inferior a 12 % o aproximadamente 12 %. También se pueden obtener preparaciones secadas por pulverización y comprenden desde aproximadamente 0,5 % hasta 5 %, o desde aproximadamente 1 % hasta aproximadamente 3 % agua. Se conocen en la técnica muchos procesos para procesar semilla de mostaza en bruto en aceite y harina. Los procesos adicionales que se pueden usar son los procesos desvelados en Morra, M. J, 2000-2002, Subcontract Report National Renewable Energy Laboratory NREL/SR-510-3626.

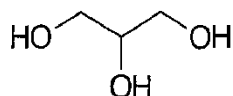
Poliol soluble en agua

Según ciertos aspectos en el presente documento, las composiciones líquidas proporcionadas por la presente divulgación comprenden un poliol soluble en agua. Las composiciones según la divulgación comprenden al menos un poliol soluble en agua, preferentemente del grupo de polioles no cíclicos monoméricos o poliméricos, y más preferentemente del grupo de polioles no cíclicos monoméricos o poliméricos con 2 a 6 grupos hidroxilo (por ejemplo 2, 3, 4, 5 o 6 grupos hidroxilo), y que tiene un peso molecular hasta 20.000, en donde las formas poliméricas son obtenibles de la adición de óxido de etileno y/u óxido de propileno a dichos polioles. Se entiende que todos los polioles son "solubles en agua" cuando su solubilidad en agua es al menos 10 % en peso a 20 °C, formando así

disoluciones líquidas claras. Se entiende que los "polioles no cíclicos" son todos polioles que en una disolución acuosa no existen sustancialmente en equilibrio con una forma cíclica.

En realizaciones preferidas adicionales, el poliol soluble en agua es preferentemente del grupo de los polioles no cíclicos que tienen 1 a 9 átomos de carbono (por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 átomos de carbono) con 2 a 6 grupos hidroxilo (por ejemplo 2, 3, 4, 5 o 6 grupos hidroxilo). Los polioles solubles en agua a modo de ejemplo preferidos a este respecto son 1,2-propilenglicol, 1,3 propilenglicol, dietilenglicol, 2-metil-1,3-propanodiol, glicerina, 1,2-butilenglicol, 1,3-butilenglicol, 1,4-butilenglicol, 1,2-pentanodiol, 1,5-pentanodiol, 1,2-hexanodiol, 1,6-hexanodiol, 1,2,6-hexanotriol, 1,2-octanodiol, 1,8-octanodiol, dipropilenglicol, tripropilenglicol, glicerina, diglicerina, triglicerina, poliglicerina, así como mezclas de las sustancias citadas.

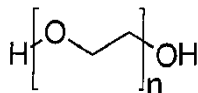
En realizaciones particularmente preferidas, el poliol soluble en agua es glicerol. "Glicerol" o "glicerina", que se pueden usar indistintamente en el presente documento, como se define en la presente divulgación, se refieren a un compuesto químico que tiene la fórmula estructural (XV):



(XV).

Según el presente documento, se proporciona glicerol en forma líquida, aunque se observa que el glicerol tiene una densidad de 1,26 g/cm³ a 25 °C y es viscoso a temperatura ambiente. En realizaciones preferidas, se proporciona glicerol en una forma más o menos pura. Según el presente documento, el glicerol se proporciona preferentemente a un nivel de pureza de al menos 80 % o aproximadamente 80 %, más preferentemente 97 % o aproximadamente 97 %, o al menos 99 % o aproximadamente 99 %. El glicerol de los grados de pureza mencionados anteriormente puede ser fácilmente obtenido de una amplia gama de fabricantes y/o distribuidores de química fina, que incluyen, por ejemplo, P&G Chemicals, y Cargill Inc.

En realizaciones adicionales particularmente preferidas, el poliol soluble en agua usado en el presente documento es polietilenglicol (PEG). Como se define en la presente divulgación, "PEG" o "polietilenglicol" se refiere a un compuesto químico que tiene la fórmula estructural (XVI):



(XVI),

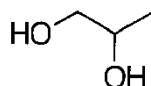
en donde n es un número entero que varía desde 2 - 200, por ejemplo, n = 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 40, 60, 80 100, 150 o 200 (también conocidos como PEG-3, PEG-4, PEG-5, PEG-6, PEG-7, PEG-8, PEG-9, PEG-10, PEG-12, PEG-16, PEG-18, PEG-20, PEG-40, PEG-60, PEG-80, PEG-100, PEG-150, y PEG-200, respectivamente) y tiene un peso molecular de hasta 20.000. En realizaciones adicionales, también están incluidas en el presente documento las mezclas de cualquiera de los polietilenglicoles anteriores. En realizaciones preferidas, el polietilenglicol se proporciona en una forma más o menos pura. Según el presente documento, el polietilenglicol se proporciona preferentemente a un nivel de pureza de al menos 80 % o aproximadamente 80 %, más preferentemente 97 % o aproximadamente 97 %, o al menos 99 % o aproximadamente 99 %. El polietilenglicol de los grados de pureza mencionados anteriormente puede ser fácilmente obtenido de una amplia gama de fabricantes y/o distribuidores de química fina, que incluyen, por ejemplo, P&G Chemicals, y Cargill Inc.

En realizaciones preferidas adicionales, se usa el poliol propilenglicol soluble en agua. "Propilenglicol" como se usa en el presente documento se refiere a 1,2-propilenglicol y/o 1,3-propilenglicol. El 1,3 propilenglicol como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto químico que tiene la fórmula estructural (XVII):



(XVII)

El 1,2-propilenglicol como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto químico que tiene la fórmula estructural (XVIII):



(XVIII)

En realizaciones preferidas, el propilenglicol se proporciona en una forma más o menos pura. Según el presente documento, el propilenglicol se proporciona preferentemente a un nivel de pureza de al menos 80 % o aproximadamente 80 %, más preferentemente 97 % o aproximadamente 97 %, o al menos 99 % o aproximadamente 99 %. El propilenglicol de los grados de pureza mencionados anteriormente puede ser fácilmente obtenido a partir de una amplia gama de fabricantes y/o distribuidores de química fina, que incluyen, por ejemplo, P&G Chemicals, y Cargill Inc.

Se ha encontrado según la presente divulgación que, en presencia de polioles solubles en agua, los glucosinolatos no se hidrolizan, o no se hidrolizan a ningún grado sustancial, permitiendo así la preparación de una formulación líquida, en particular una única formulación líquida, que comprende un concentrado de glucosinato y un material de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo. Como se usa en el presente documento, el término "no se hidroliza a un grado sustancial" significa que cuando el concentrado de glucosinato y el material de planta o extracto de los mismos que comprende complejo de mirosinasa activo se preparan en una formulación líquida de poliol soluble en agua, la formulación está sustancialmente libre de productos de degradación de glucosinato. Como se usa en el presente documento, el término "sustancialmente libre de productos de degradación de glucosinato" significa que la mezcla se prepara de tal manera que la cantidad de productos de degradación de glucosinato en el concentrado de glucosinato constituya menos de 10 % (p/p), y más preferentemente menos de o aproximadamente 1,0 % (p/p). Preferentemente, la cantidad de productos de degradación de glucosinato en el concentrado de glucosinato constituye menos de 0,5 % (p/p) o aproximadamente 0,5 % (p/p), y lo más preferentemente ninguna cantidad detectable de productos de degradación de glucosinato está presente en la mezcla. Así, las formulaciones de pesticida líquido de la presente divulgación están sustancialmente libres de cualquier nitrilo, que incluye, pero no se limitan a 1-ciano-2-hidroxi-3-butenos y cianuro de alilo; cualquier tiocianato, que incluye, pero no se limitan a, tiocianato de alilo, o isotiocianato, que incluye, pero no se limitan a, isotiocianato de alilo; goitrina o epitionitrilo obtenidos del hidrólisis de glucosinato. Además, se ha encontrado según el presente documento que, en presencia de polioles solubles en agua y agua, los glucosinolatos no se hidrolizan a un grado sustancial. Según ciertos aspectos en el presente documento, la mezcla está, por tanto, sustancialmente libre de productos de degradación de glucosinato. Así, el poliol soluble en agua usado según la presente divulgación se puede mezclar con un volumen limitado de agua. Con el término "un volumen limitado de agua" se indica un volumen de agua que es suficientemente para no dar como resultado la sustancial hidrólisis de glucosinolatos y la generación de productos de degradación de glucosinato. En general, como se usa en el presente documento, dichos volúmenes limitados varían desde 1 % (v/v) o aproximadamente 1 % (v/v) hasta 80 % (v/v) o aproximadamente 80 % (v/v). Sin embargo, preferentemente, el contenido de agua se mantiene inferior a 40 % o aproximadamente 40 %, por ejemplo hasta 1 % (v/v) o aproximadamente 1 % agua; hasta 5 % (v/v) o aproximadamente 5 % (v/v) de agua; hasta 10 % (v/v) o aproximadamente 10 % (v/v) de agua; hasta 15 % (v/v) o aproximadamente 15 % (v/v) de agua; hasta 20 % (v/v) o aproximadamente 20 % (v/v) de agua; hasta 30 % (v/v) o aproximadamente 30 % (v/v) de agua; hasta 35 % (v/v) o aproximadamente 35 % (v/v) de agua. Lo más preferentemente, el contenido de agua se mantiene desde 0 % hasta 20 % (v/v). Sorprendentemente, incluso en presencia de dichas cantidades de agua, el glucosinato en la mezcla no se hidroliza a un grado sustancial. El agua puede ser agua exógenamente añadida, o se puede usar agua que está comprendida endógenamente en el concentrado de glucosinato preparado según el presente documento o el material de planta que comprende mirosinasa, y así se mezcla con el poliol soluble en agua en la preparación de las formulaciones líquidas.

Preparación de precursores de biopesticida inactivo

Según ciertos aspectos en el presente documento, la presente divulgación proporciona una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo sustancialmente libre de productos de degradación de glucosinato, comprendiendo dicha composición líquida: (a) un concentrado de glucosinato; (b) un material de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinato tras la adición de agua; y (c) un poliol soluble en agua. En una realización preferida, la presente divulgación proporciona una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo en una mezcla sustancialmente libre de productos de degradación de glucosinato, comprendiendo dicha mezcla: (a) un concentrado de glucosinato; (b) un material de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinato tras la adición de agua; y (c) un poliol soluble en agua. Para preparar las composiciones de la presente divulgación, los ingredientes anteriores se ponen en contacto entre sí y se mezclan. Así, la presente divulgación proporciona el concentrado de glucosinato y el material de planta que comprende la mirosinasa en una única formulación líquida. En ciertas realizaciones, el concentrado de glucosinato o el material de planta, o ambos, se ponen en contacto con el poliol soluble en agua, u, opcionalmente, la mezcla de poliol soluble en agua – agua, y se mezclan, antes de poner en contacto el concentrado de glucosinato y el material de planta que comprende mirosinasa entre sí (esta realización se ilustra adicionalmente en el Ejemplo 5). En otras

realizaciones, el material de planta y el concentrado de glucosinolato se mezclan juntos y luego se ponen en contacto con el poliol soluble en agua (esta realización se ilustra adicionalmente en el Ejemplo 4). En dicha realización, se prefiere que el material de planta y el concentrado de glucosinolato se preparen como ingredientes secos. Según el presente documento, se puede preparar la mezcla de tres componentes de concentrado de glucosinolato/material de planta que contiene mirosinasa/poliole soluble en agua y almacenar para su uso. En otras realizaciones, sin embargo, se puede preparar un concentrado de glucosinolato y material de planta que comprende mirosinasa como dos componentes separados (comprendiendo uno o ambos ingredientes un poliol soluble en agua), y cada componente se puede almacenar por separado, ocurriendo la mezcla después, por ejemplo justamente antes del transporte a un sitio de uso previsto, o la mezcla puede ocurrir en un sitio de uso previsto como pesticida, justo antes del uso real. Se pueden usar metodologías convencionales y medios de mezcla de materiales, que incluyen, por ejemplo, cualquier dispositivo de agitación o mezcla mecánica. Pueden variar las condiciones de mezcla, pero la mezcla de los compuestos constituyentes normalmente se realiza a temperaturas y presiones ambiente y de tal manera que se obtenga una mezcla homogénea. Pueden variar los tiempos de mezcla, y se observa que puede ser beneficioso tras la mezcla inicial el dejar que la mezcla sedimente durante un breve periodo (por ejemplo 15 min; 30 min; 60 min) antes del inicio de la aplicación a la plaga. El agua usada según el presente documento puede comprender agentes adicionales, por ejemplo, se pueden usar agua que comprende agentes de tamponamiento, sales, cantidades traza de metales, y similares. Así, cuando se refiere en el presente documento a diluir la mezcla de principios activos con agua, se entiende que el término "agua" incluye agua de grifo, agua de riego, agua desionizada, agua que comprende agentes de tamponamiento, etc., y, como tal, se entiende que el término engloba diluyentes basados en agua. Según la presente divulgación, la mirosinasa está presente en la mezcla en una concentración que es suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua. "Cantidad eficaz", como se usa en el presente documento, es cualquier cantidad que da como resultado la reducción de la gravedad o efecto perjudicial provocado por una plaga durante un periodo de tiempo limitado o prolongado. En realizaciones preferidas, el material de planta se proporciona de forma que la mirosinasa presente en su interior esté presente en la composición líquida final en una concentración de entre 1 o aproximadamente 1 unidad por gramo y entre 50 unidades, o aproximadamente 50 unidades, por gramo, sin embargo, las concentraciones pueden ser de tan solo 0,1 unidades, o aproximadamente 0,1 unidades, por gramo de la composición líquida final. El concentrado de glucosinolato se proporciona normalmente de forma que esté presente en la composición líquida final en concentraciones que varían entre 25 mg/g o aproximadamente 25 mg/g y 500 mg/g o aproximadamente 500 mg/g. El poliol soluble en agua, u opcionalmente la mezcla de poliol soluble en agua - agua, se proporciona de tal manera que constituya desde aproximadamente 60 % (v/p) hasta aproximadamente 95 % (v/p), y, preferentemente, desde aproximadamente 70 % (v/p) hasta aproximadamente 95 % (v/p) de la mezcla. En una realización preferida, la relación entre la actividad enzimática y sinigrina en el producto líquido final sería 100-250 unidades de actividad enzimática por cada 1 g de sinigrina. Usando las concentraciones y cantidades mencionadas anteriormente, el material de planta y el concentrado de glucosinolato se disuelven o dispersan fácilmente en el poliol soluble en agua, mientras que la formulación final sigue en un estado líquido.

Las mezclas preparadas según la presente divulgación pueden además comprender adicionalmente compuestos constituyentes. Estos compuestos constituyentes incluyen catalizadores enzimáticos de mirosinasa que incluyen, pero no se limitan a, ácido ascórbico, cloruro de magnesio u otro cloruro metálico, o un agente de tamponamiento, que incluye, pero no se limita a, un tampón fosfato.

Como se mencionó anteriormente en este documento, la presente divulgación, en una realización adicional, proporciona un método de preparación de una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo que comprende mezclar:

- (a) un concentrado de glucosinolato;
- (b) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua; y
- (c) un poliol soluble en agua.

para obtener una mezcla sustancialmente libre de productos de degradación de glucosinolato.

En realizaciones preferidas de la presente divulgación, se usa harina de semillas de mostaza como fuente del complejo de mirosinasa activo.

Uso de las formulaciones de pesticida

Las composiciones líquidas proporcionadas en el presente documento son pesticidamente inactivas, siempre que, sin embargo, la adición de agua a las composiciones, convierta las composiciones en pesticidamente activas. La adición de agua dará como resultado la hidrólisis del glucosinolato y la generación de productos de degradación de glucosinolato, proporcionando así un producto pesticidamente activo. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona además un método de control de plagas que comprende:

- (a) añadir agua a una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo sustancialmente libre de producto de degradación de glucosinolato, comprendiendo dicha composición líquida:

- (i) un concentrado de glucosinolato;
- (ii) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua a la composición líquida;
- (iii) un poliol soluble en agua; y

(b) aplicar la composición líquida a una plaga.

Por consiguiente, la presente divulgación aún proporciona además un método de control de plagas que comprende:

(a) proporcionar una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo sustancialmente libre de producto de degradación de glucosinolato, comprendiendo dicha composición líquida:

- (i) un concentrado de glucosinolato;
- (ii) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua a la composición líquida; y
- (iii) un poliol soluble en agua;

(b) añadir agua a la composición líquida para obtener una composición líquida diluida; y

(c) aplicar la composición líquida diluida a una plaga.

Según la presente divulgación, después de haber proporcionado y/o preparado la composición líquida de concentrado de glucosinolato, material de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo, y poliol soluble en agua, se añade un volumen de agua suficiente para obtener una composición líquida diluida. Sorprendentemente, según la presente divulgación, se ha encontrado que tras mezclar con una cantidad suficiente de agua y obtener una composición líquida diluida, la actividad hidrolítica de la enzima mirosinasa puede ser sustancialmente reconstituida, así es insignificamente pequeño el impacto del poliol soluble en agua sobre la mirosinasa. El término "volumen suficiente de agua" como se usa en el presente documento se refiere a una cantidad de agua que da como resultado la sustancial hidrólisis del glucosinolato, y la generación de productos de degradación de glucosinolato. Puede variar la cantidad de agua añadida, pero comprende preferentemente un volumen al menos igual al volumen de la composición líquida, o al menos 2 veces el volumen de la composición líquida, y se añade más normalmente en una cantidad de al menos 3 o aproximadamente 3 veces, al menos 5 veces, o al menos 10 veces o más del volumen de la composición líquida.

Como se indica, tras la adición de una cantidad suficiente de agua a la composición líquida, la actividad de la mirosinasa puede ser sustancialmente reconstituida en la composición líquida diluida, presentando la preparación una actividad enzimática sustancial. "Actividad enzimática sustancial", como se usa en el presente documento, se refiere a una preparación que se puede usar como un producto pesticidamente activo, es decir, un producto que es capaz de reducir la incidencia o la gravedad de una plaga. En realizaciones preferidas, una preparación que presenta actividad enzimática sustancial presenta, tras la mezcla con cantidades suficientes de agua, una tasa de hidrólisis del glucosinolato de al menos 10 % o aproximadamente 10 % de la tasa con respecto a una formulación líquida preparada sin un poliol soluble en agua, más preferentemente, al menos 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o 99 %. Así, a modo de ejemplo, si se prepara una formulación líquida sin un poliol soluble en agua para comprender 6 unidades/gramo de actividad de mirosinasa, dicha formulación líquida preparada según la metodología de la presente divulgación, tras la mezcla con una cantidad suficiente de agua para obtener una composición líquida diluida, comprende al menos preferentemente 0,6 unidades/gramo, o aproximadamente 0,6 unidades/gramo, de actividad de mirosinasa. Como será evidente a partir de lo anterior, puede variar la actividad enzimática de la composición líquida diluida, proporcionado, sin embargo, que según la divulgación, la actividad enzimática sea suficiente para proporcionar un producto plaguicidamente activo.

Es una característica particularmente ventajosa de la presente divulgación que las composiciones líquidas de la divulgación sean fácilmente miscibles con agua. A este respecto, se observa que los vehículos comúnmente usados en formulaciones de pesticida, en particular vehículos basados en aceite, no se disuelven fácilmente en agua.

En realizaciones adicionales, la presente divulgación proporciona un kit de aplicación de pesticida que contiene una formulación líquida que comprende:

- (c) un concentrado de glucosinolato;
- (d) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua; y
- (e) un poliol soluble en agua,

junto con instrucciones referentes a la adición de agua a la formulación líquida para formar una formulación líquida diluida y la aplicación posterior a una plaga. Las instrucciones se pueden incluir con el kit (por ejemplo, impresas en papel y proporcionadas directamente con el kit), o se puede proporcionar una referencia para el acceso en línea a las instrucciones, todas las cuales pretenden estar incluidas en el presente documento. Las instrucciones pueden comprender adicionalmente información adicional referente a los productos y su uso, por ejemplo información de

seguridad.

En realizaciones adicionales, la presente divulgación proporciona un kit de aplicación de pesticida que contiene una formulación líquida que comprende:

- (a) un concentrado de glucosinolato; y
- (b) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua,

en donde cualquiera o ambos del concentrado de glucosinolato o el complejo de mirosinasa activo se disuelven en un poliol soluble en agua, y junto con instrucciones referentes a la mezcla del concentrado de glucosinolato y el complejo de mirosinasa y la adición de agua a la formulación líquida para formar una formulación líquida diluida y la aplicación posterior a una plaga. Las instrucciones se pueden incluir con el kit (por ejemplo, impresas en papel e incluidas con el kit), o se puede proporcionar una referencia para el acceso en línea a las instrucciones. Las instrucciones pueden comprender adicionalmente información adicional referente a los productos y su uso, por ejemplo información de seguridad.

Una característica particularmente ventajosa adicional de la presente divulgación es que se proporciona un precursor de biopesticida que se puede almacenar y transportar en una forma inactiva. Por consiguiente, en realizaciones preferidas, la activación se controla añadiendo agua a la mezcla en el sitio de uso del pesticida. En una realización particularmente preferida, según la presente divulgación, la composición líquida se introduce en un sistema de riego agrícola, a través de, por ejemplo, un puerto de entrada en una tubería o manguera de riego del sistema. Así, en esta realización se añade agua a la mezcla poniendo en contacto la mezcla con agua de riego de un sistema de riego agrícola. La composición líquida se aplica entonces a la plaga, por ejemplo por goteo o rociado, y la operación del sistema de riego.

La plaga objetivo puede ser cualquier plaga, que incluye cualquier plaga procariota, que incluye cualquier plaga procariota que pertenezca al reino Monera, y cualquier plaga eucariota que pertenezca a los reinos Protista, fúngico, vegetal y animal, incluyendo cualquier plaga adicional capaz de dañar un cultivo agrícola. Por consiguiente, las plagas a las que se pueden aplicar las composiciones de la presente divulgación incluyen cualquier plaga de insectos, arácnidos o crustáceos, que incluye garrapatas, ácaros, gorgojos, hormigas, chinches *Lygus*, mosquitos, etc. Las plagas fúngicas que se pueden tratar con las composiciones de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, *Verticillium*, *Fusarium*, *Phyium*, *Sclerotinia* especies y fúngicas que pertenecen al orden de *Erisphales* (mildiu polvoriento). Las plagas adicionales a las que se pueden aplicar las composiciones de la presente divulgación son gusanos, nematodos, caracoles, babosas y larvas blancas. La composición líquida aplicada final puede ser un spray, o un fluido y o cualquier otra forma líquida según se desee, y se puede aplicar usando cualquier dispositivo de pulverización o sistema de riego o cualquier otro sistema adecuado capaz de aplicar un pesticida líquido. La vía de administración a las plagas puede variar y pueden ser según se desee, por ejemplo, el producto plaguicida se puede administrar mediante exposición acuática o contacto directo. Tras la aplicación del plaguicida a la plaga, la incidencia o gravedad de la infestación o actividad de la plaga se limitará o reducirá al menos durante un periodo de tiempo limitado o más prolongado, y como tales los novedosos métodos y composiciones desvelados en el presente documento proporcionarán un medio para controlar las plagas.

Ejemplos

En lo sucesivo se proporcionan ejemplos de realizaciones específicas para realizar los métodos de la presente divulgación, así como realizaciones que representan las composiciones de la presente divulgación. Los ejemplos se proporcionan para fines ilustrativos solo, y no pretenden limitar el alcance de la presente divulgación de ningún modo.

Ejemplo 1 - Preparación de una formulación líquida de biopesticida que comprende propilenglicol

Se prepararon tres muestras secas de mirosinasa/sinigrina, conteniendo cada muestra: 0,025 g de harina molida de *Sinapis alba* (que contiene mirosinasa activa) y 0,075 g de un concentrado en partículas de sinigrina (que contiene aproximadamente 25 % de sinigrina pura). Se prepararon dos disoluciones de propilenglicol del siguiente modo: una primera disolución que contenía (80 % (v/v) de propilenglicol (1,3-propanodiol)/20 % (v/v) de agua), ácido ascórbico (1 mM), $MgCl_2$ (1 mM) y tampón fosfato potásico (pH 6,5); y una segunda disolución que contenía 60 % (v/v) de propilenglicol (1,3-propanodiol)/40 % (v/v) de agua), ácido ascórbico (1 mM), $MgCl_2$ (1 mM) y tampón fosfato potásico (pH 6,5). Se preparó un control que contenía 100 % (v/v) de agua como el agua, ácido ascórbico, $MgCl_2$ y tampón fosfato potásico (pH 6,5). Se mezclaron las tres muestras de mirosinasa/sinigrina con 4 ml de la primera y segunda disoluciones de propilenglicol en un vial de vidrio sellable (es decir, el (80 % (v/v) de propilenglicol (1,3-propanodiol)/20 % (v/v) de disolución; marcado "80/20" en la Tabla I a continuación; y el 60 % (v/v) de propilenglicol (1,3-propanodiol)/40 % (v/v) de disolución; marcado "60/40" en la Tabla I a continuación) y con el control (marcado "H₂O" en la Tabla I a continuación). Tras el sellado el vial de vidrio se incubó a temperatura ambiente y se agitó intermitentemente. Se probó el espacio de cabeza por encima de la formulación líquida para la presencia de AITC a

ciertos intervalos de tiempo (1 h; 23 h) usando un sistema de cromatografía de gases del espacio de cabeza (HSGC) y se determinó el área de los picos de AITC. Los resultados se muestran en la Tabla I a continuación.

TABLA I

Muestra	AITC (Área de los picos)	
	t = 1 h	t = 23 h
80/20	1	10
60/40	57	75
H ₂ O	377	347

Ejemplo 2 - Preparación de una formulación líquida de biopesticida que comprende glicerol

Se prepararon tres muestras secas de mirosinasa/sinigrina, conteniendo cada muestra: 0,025 g de harina molida de *Sinapis alba* (que contiene mirosinasa activa) y 0,075 g de un concentrado en partículas de sinigrina (que contiene aproximadamente 25 % de sinigrina pura). Se prepararon dos disoluciones de propilenglicol del siguiente modo: una primera disolución que contenía (80 % (v/v) de glicerol/20 % (v/v) de agua), ácido ascórbico (1 mM), MgCl₂ (1 mM) y tampón fosfato potásico (pH 6,5); y una segunda disolución que contenía 60 % (v/v) de glicerol/40 % (v/v) de agua), ácido ascórbico (1 mM), MgCl₂ (1 mM) y tampón fosfato potásico (pH 6,5). Se preparó un control que contenía 100 % (v/v) de agua como el agua, ácido ascórbico, MgCl₂ y tampón fosfato potásico (pH 6,5). Se mezclaron las tres muestras de mirosinasa/sinigrina con 4 ml de la primera y segunda disoluciones de glicerol en un vial de vidrio sellable (es decir, el (80 % (v/v) de glicerol/20 % (v/v) de disolución; marcado "80/20" en la Tabla II a continuación; y el 60 % (v/v) de glicerol/40 % (v/v) de disolución; marcado "60/40" en la Tabla II a continuación) y con el control (marcado "H₂O" en la Tabla II a continuación). Tras el sellado el vial de vidrio se incubó a temperatura ambiente y se agitó intermitentemente. Se probó el espacio de cabeza por encima de la formulación líquida para la presencia de AITC a ciertos intervalos de tiempo (1 h; 23 h) usando un sistema de cromatografía de gases del espacio de cabeza (HSGC) y se determinó el área de los picos de AITC.

TABLA II

Muestra	AITC (Área de los picos)	
	t = 1 h	t = 23 h
80/20	28	99
60/40	156	277
H ₂ O	377	347

Ejemplo 3 - Preparación de una formulación líquida de biopesticida que comprende polietilenglicol

Se prepararon tres muestras secas de mirosinasa/sinigrina, conteniendo cada muestra: 0,025 g de harina molida de *Sinapis alba* (que contiene mirosinasa activa) y 0,075 g de un concentrado en partículas de sinigrina (que contiene aproximadamente 25 % de sinigrina pura). Se prepararon dos disoluciones de propilenglicol del siguiente modo: una primera disolución que contenía (80 % (v/v) de polietilenglicol (PEG200)/20 % (v/v) de agua), ácido ascórbico (1 mM), MgCl₂ (1 mM) y tampón fosfato potásico (pH 6,5); y una segunda disolución que contenía 60 % (v/v) de polietilenglicol (PEG200)/40 % (v/v) de agua), ácido ascórbico, MgCl₂ y tampón fosfato potásico (pH 6,5). Se preparó un control que contenía 100 % (v/v) de agua como el agua, ácido ascórbico (1 mM), MgCl₂ (1 mM) y tampón fosfato potásico (pH 6,5). Se mezclaron las tres muestras de mirosinasa/sinigrina con 4 ml de la primera y segunda disoluciones de polietilenglicol (PEG200) en un vial de vidrio sellable (es decir, el (80 % (v/v) de polietilenglicol (PEG200)/20 % (v/v) de disolución; marcado "80/20" en la Tabla III a continuación; y el 60 % (v/v) de polietilenglicol (PEG200)/40 % (v/v) de disolución; marcado "60/40" en la Tabla III a continuación) y con el control (marcado "H₂O" en la Tabla III a continuación). Tras el sellado el vial de vidrio se incubó a temperatura ambiente y se agitó intermitentemente. Se probó el espacio de cabeza por encima de la formulación líquida para la presencia de AITC a ciertos intervalos de tiempo (1 h; 23 h) usando un sistema de cromatografía de gases del espacio de cabeza (HSGC) y se determinó el área de los picos de AITC.

TABLA III

Muestra	AITC (Área de los picos)	
	t = 1 h	t = 23 h
80/20	no detectado	no detectado
60/40	11	27
H ₂ O	377	347

Ejemplo 4 - Reconstitución de la actividad enzimática (sistema mixto)

Se prepararon muestras de mirosinasa/sinigrina como en los Ejemplos 1 y 3 que comprendían propilenglicol (1,3-propanodiol) y polietilenglicol (PEG-200), excepto que para ambos polioles solubles en agua se preparó un 90 % (v/v) de poliol/10 % de agua y un 80 % (v/v)/20 % (v/v) de agua, y excepto que la preparación no se tamponó y no se incluyó ácido ascórbico ni MgCl₂ en la preparación. Se prepararon las muestras líquidas en un vial de vidrio, se selló

y se almacenó durante 46 h. Después de 46 h, se diluyeron las muestras líquidas usando 3 ml de agua/tampón fosfato potásico (pH 6,5)/MgCl₂ (0,1 mM)/ácido ascórbico (0,1 mM) y las muestras se ensayaron en diferentes momentos de tiempo (t = 0 min; t = 30 min; t = 65 min y t = 125 min). Se usó como control una muestra de mirosinasa/sinigrina recién preparada en agua y se ensayó a t = 15 min y t = 30 min. Los ensayos se realizaron usando un sistema de cromatografía de gases del espacio de cabeza (HSGC) y se determinó el área de los picos de AITC.

Los resultados se muestran en la Tabla IV (propilenglicol) y la Tabla V (polietilenglicol) a continuación.

TABLA IV

Muestra	AITC (Área de los picos)			
	t = 0 min	t = 30 min	t = 65 min	t = 125 min
80/20 PG	21,2	68,7	106,8	155,5
90/10 PG	1,4	53,8	122,9	203,9
Control	AITC (Área de los picos)			
	t = 15 min	t = 30 min		
H ₂ O	358,2	347,6		

TABLA V

Muestra	AITC (Área de los picos)			
	t = 0 min	t = 30 min	t = 65 min	t = 125 min
80/20 PEG	5,8	53,6	96,9	140,1
90/10 PEG	no detectado	33,5	73,3	121,9
Control	AITC (Área de los picos)			
	t = 15 min	t = 30 min		
H ₂ O	358,2	347,6		

Ejemplo 5 - Reconstitución de la actividad enzimática (sistema de 2 componentes)

Se prepararon dos disoluciones separadas de mirosinasa y dos de sinigrina separadas, conteniendo cada disolución glicerol o propilenglicol (1,3-propanodiol) (para ambos polioles solubles en agua 80 % (v/v)/20 % (v/v) de agua). Las preparaciones finales contuvieron 0,15 g/g de extracto de sinigrina y 0,05 g/g de harina de *Sinapis alba*, respectivamente. Se taparon las muestras de líquido y se almacenaron por separado durante 48 h. Después de 48 h, se extrajo una alícuota de 0,5 g de cada una de las muestras de mirosinasa y sinigrina, y ambas se añadieron juntas y se incubaron durante 30 min, y se ensayó tanto el material almacenado en propilenglicol como el material almacenado en glicerol para actividad enzimática (t = 30 min). Después se añadieron 3 ml de agua/tampón fosfato potásico (pH 6,5)/MgCl₂ (0,1 mM)/ácido ascórbico (0,1 mM) y se ensayó la actividad enzimática usando tanto el material almacenado en propilenglicol como el material almacenado en glicerol en puntos de tiempo adicionales (t = 60 min y t = 120 min). Se usó una muestra de mirosinasa/sinigrina en agua recién preparada como control y se midió su actividad enzimática en diversos momentos de tiempo (t = 15 min y t = 30 min). Todos los ensayos se realizaron usando un sistema de cromatografía de gases del espacio de cabeza (HSGC) y se determinó el área de los picos de AITC. Los resultados se muestran en la Tabla VI.

TABLA VI

Muestra	AITC (Área de los picos)		
	t = 30 min	t = 60 min	t = 120 min
Glicerol	30,2	351,9	326,2
Propilenglicol	no detectado	249,7	267,8
Control	AITC (Área de los picos)		
	t = 15 min	t = 30 min	
H ₂ O	358,2	347,6	

TABLA VII					
Glucosinolatos adicionales a modo de ejemplo					
Nombre común	Estructura de grupo R	Nombre común	Estructura de grupo R	Nombre común	Estructura de grupo R
Gluconapoliferina		Glucorafenina		Glucobaubrietina	
Gluconapina		Glucorafanina		Glucobarbarina	
Glucobrassicinapina		Glucocodearina		Glucolepidina	
Gluconasturtina		Glucoliberina		Glucolimnantina	
Glucobrassicina		Glucoliberiverina		Glucoliquerelina	
4-hidroxiglucobrassicina		Glucocelrolina		Glucolirsutina	
4-metoxiglucobrassicina		Glucoparina		Glucoparabina	
neoglucobrassicina		Glucolalisina		Glucolucucina	

REIVINDICACIONES

1. Una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo y menos de 0,5 % (p/p) de productos de degradación de glucosinolato, comprendiendo dicha composición líquida:
 - (a) un concentrado de glucosinolato;
 - (b) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua; y
 - (c) un poliol soluble en agua, en donde el poliol soluble en agua es al menos soluble a 10 % en peso a 20 °C.
2. La composición según la reivindicación 1, en donde tras la adición de agua a la composición, el complejo de mirosinasa es enzimáticamente activo.
3. La composición según la reivindicación 1 o 2 que comprende además un compuesto seleccionado del grupo de compuestos que consisten en cloruro de magnesio y ácido ascórbico.
4. Un método de preparación de una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo que comprende mezclar:
 - (a) un concentrado de glucosinolato;
 - (b) un material de planta que comprende un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua; y
 - (c) un poliol soluble en agua, en donde el poliol soluble en agua es al menos soluble a 10 % en peso a 20 °C,
- para obtener una composición líquida que comprende productos de degradación de glucosinolato en una cantidad inferior a 0,5 % (p/p).
5. El método según la reivindicación 4, en donde el material de planta es obtenible de una planta de mostaza.
6. El método según la reivindicación 4, en donde el material de planta es una harina de semillas.
7. El método según la reivindicación 4, en donde el material de planta es una harina de semillas de mostaza.
8. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o el método según la reivindicación 4, en donde el poliol soluble en agua es al menos 80 % puro.
9. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o el método según la reivindicación 4, en donde la mezcla comprende adicionalmente al menos 1 % de agua y hasta 20 % de agua.
10. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o el método según la reivindicación 4, en donde el complejo de mirosinasa activo está presente en una concentración de desde 1 unidad hasta 10 unidades por gramo en la mezcla y el glucosinolato está presente desde 25 mg hasta 500 mg por gramo en la mezcla.
11. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o el método según la reivindicación 4, en donde el poliol soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en glicerol, polietilenglicol y propilenglicol.
12. Un método de control de plagas que comprende:
 - (a) añadir agua a una composición líquida que comprende un precursor de biopesticida inactivo y menos de 0,5 % (p/p) de productos de degradación de glucosinolato, comprendiendo dicha composición líquida:
 - (i) un concentrado de glucosinolato;
 - (ii) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua a la mezcla; y
 - (iii) un poliol soluble en agua, en donde el poliol soluble en agua es al menos soluble a 10 % en peso a 20 °C; y
 - (b) aplicar la composición líquida de la etapa (a) a una plaga.
13. El método de control de plagas según la reivindicación 12, que comprende además:
 - (a) añadir agua a la composición líquida después de la etapa (a) para obtener una composición líquida diluida; y
 - (b) aplicar la composición líquida diluida a una plaga.
14. El método según la reivindicación 13, en donde el agua se añade a la composición líquida poniendo en contacto la composición líquida con agua de riego agrícola.

15. Un kit de aplicación de pesticida que contiene una formulación líquida que comprende:

- 5 (a) un concentrado de glucosinolato;
 - (b) un complejo de mirosinasa activo en una concentración suficiente para liberar una cantidad eficaz de
 productos de degradación de glucosinolato tras la adición de agua; y
 - (c) un poliol soluble en agua, en donde el poliol soluble en agua es al menos soluble a 10 % en peso a 20 °C,
- 10 junto con instrucciones referentes a la adición de agua a la formulación líquida para formar una formulación líquida
 diluida y la aplicación posterior a una plaga, opcionalmente en donde cualquiera o ambos del concentrado de
 glucosinolato o el complejo de mirosinasa activo se disuelven en un poliol soluble en agua.