

## **MÉTODO DE TRATAMIENTO PARA ANTIBROTE DE TUBÉRCULOS CON CANTIDAD REDUCIDA DE CIPC**

### **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

La invención pertenece al área técnica del almacenamiento de alimentos, en especial el almacenamiento de tubérculos. Con mayor especificidad, el tratamiento de tubérculos para inhibir o eliminar los brotes de los tubérculos. La invención brinda una alternativa natural a los agentes antigerminantes que se usan en la actualidad. La invención es beneficiosa para el área técnica de la agricultura, en especial el almacenamiento de papas.

### **ANTECEDENTES**

El almacenamiento de papas y otros tubérculos se realiza en general a una temperatura que varía entre 2 y 10 °C. A esta temperatura el almidón de la papa se convierte en azúcar que se almacena en la papa, lo que genera un sabor más dulce y, en la prueba de las papas fritas, la papa se dora demasiado rápido (color de fritura). Esto lleva a una papa de menor calidad. La cura para la acumulación de azúcar en la papa es almacenarla a una temperatura mayor, de preferencia aproximadamente 15 °C durante un par de semanas antes de la comercialización de la papa. En este período el nivel de azúcar en la papa disminuirá, pero la papa comenzará a producir brotes o germinación. Junto con la formación de brotes, la papa comenzará a producir glucoalcaloides tóxicos, moléculas que no se destruyen durante la cocción y que producen que la papa no selle. Algunos almacenamientos de papas no están equipados con unidades de control de temperatura y, en consecuencia, la temperatura dentro del almacenamiento depende de las condiciones climáticas. Si la temperatura del depósito no se puede mantener en un nivel lo suficientemente bajo, las papas comenzarán a generar brotes. Para eliminarlos se usan inhibidores de brotes.

El inhibidor de germinación elegido por más de 50 años es 3-clorofenilisopropilcarbamato (CIPC), también conocido como cloroprofam, CAS 101-21-3. El CIPC induce un estado latente en la papa o el tubérculo con muy poca formación de brotes. El CIPC es sólido a temperatura ambiente; esto permite que el CIPC se adhiera a las papas y deje residuos en las papas tratadas por un tiempo

prolongado luego de la aplicación. En Europa el uso de CIPC está restringido a un máximo de 36 g de ingrediente activo por tonelada de papas por año.

Los niveles de residuo de CIPC están sujetos a reglamentaciones. Como parte del Anexo Europeo I según la Directiva EC/91/414 se estableció un Nivel de Residuo Máximo (*Maximum Residue Level*, MRL) de 10 mg/kg. Las expectativas son que el MRL continuará reduciéndose, lo que llevará a buscar tratamientos alternativos para los tubérculos, de preferencia las papas. Además, existe un biosegmento creciente que exige productos frescos libres de residuos. En consecuencia, se buscan alternativas que permitan disminuir el uso de CIPC, cumplir los requisitos del nivel de residuos y mantener la eficacia.

En la patente estadounidense 5.811.372 se describe un método para el tratamiento antibrote de papas con la aplicación de CIPC y un terpeno mediante termonebulización. Se incluye una prueba de eficacia en la cual se evalúa una serie de terpenos en combinación con CIPC. Se obtuvo un buen resultado con carvona. Se informó que la combinación de CIPC y limoneno no es eficaz y que es incluso peor que la aplicación de CIPC solo. A los 125 días posteriores al tratamiento, se demostró que el uso combinado de 16,6 ppm de CIPC con 16,6 ppm de limoneno era un 97% inadecuado para el uso en envasado fresco. Los tubérculos que tenían brotes que en promedio son mayores que 1 mm se consideraron inaceptables para envasado fresco.

Resulta evidente que el limoneno no es un candidato para reemplazar al CIPC.

Más recientemente, en la patente estadounidense 2006/0276336 (EP 1 728 429) se describe un método para el tratamiento antibrote de tubérculos mediante la aplicación de CIPC y un terpeno o un aceite esencial mediante termonebulización. El terpeno elegido fue carvona, eugenol o isoeugenol obtenido del aceite de clavo o del aceite de menta. No obstante, es probable que el costo del aceite de clavo y sus derivados resulte prohibitivo, lo que exige una alternativa más barata y económica. En el presente documento se repite que el limoneno en una combinación con CIPC no es eficaz para inhibir la formación de brotes. En el tratamiento de tubérculos se usaron 20 gramos por tonelada de CIPC en combinación con carvona o (iso)eugenol. Se informó que las combinaciones de CIPC con limoneno o jasmoneno no brindan resultados positivos.

En la patente WO 00/32063 se revela un método de tratamiento con nebulización en el que se usa una composición líquida para el tratamiento de papas. En uno de los ejemplos se usa una composición de 60% en peso de limoneno con 7% en peso de un emulsionante no iónico y 33% en peso de solvente acetato de butilo. El protocolo de tratamiento consistió de 45 g/ton al comienzo del almacenamiento y 15 g/ton cada 20 días, por lo que se usaron 165 g de ingrediente activo por tonelada de papas durante un período de 6 meses. Luego de un período de 5 meses, las papas tratadas con limoneno mostraron una pérdida de peso (4,5% frente a 5,4 %) y un crecimiento de brotes (96,8% frente a 100%; en comparación con 18% para CIPC) cercano al que se observó en el control no tratado. Esta revelación presenta al limoneno como inadecuado para el control de brotes en papas.

Un objetivo de la presente invención es proporcionar una solución para al menos uno de los problemas que se mencionan en lo que precede.

La invención intenta proporcionar una composición para usar como agentes antibrote, capaz de reemplazar al menos en parte al CIPC como agente antibrote para las papas. La alternativa debería ser rentable. De preferencia, la alternativa es renovable. Sería ventajoso si la alternativa pudiera reducir la cantidad de residuos de CIPC.

## **SÍNTESIS DE LA INVENCION**

La invención brinda una alternativa natural de CIPC de manera tal que se pueda reducir la cantidad que se usa de CIPC en un tratamiento antibrote.

La aplicación de CIPC causará que el tubérculo entre en un estado latente y no se pueden producir muchos brotes en dicho estado. Los pocos brotes que se formen se destruirán con la aplicación de limoneno. Se descubrió que se puede reducir la dosis de CIPC mediante la selección de la dosis de limoneno y del intervalo de aplicación. Esto es ventajoso ya que se pueden reducir los residuos de CIPC en los tubérculos tratados.

La invención proporciona un reemplazo al menos parcial de CIPC mediante el uso de limoneno como agente antibrote para el tratamiento de tubérculos.

Tal como se lo usa en la presente, el término “agente antibrote” significa un agente químico capaz de suprimir y/o eliminar brotes de un tubérculo, en particular, una papa. El CIPC es un supresor de brotes. Tiene un modo de acción sistémico y preventivo. Se descubrió que el limoneno es eficaz como agente de eliminación de brotes. Tiene acción curativa. No presenta tanta eficacia como supresor de brotes cuando se lo aplica antes de la aparición de los brotes. La cantidad seleccionada debe ser eficaz para eliminar los brotes.

Se descubrió que el limoneno puede reemplazar al menos en parte a los agentes antibrote preventivo CIPC e hidrazida maleica. Cuando se usa menos CIPC en los tubérculos comienzan a formarse más brotes, pero cuando se aplica a intervalos periódicos, el limoneno eliminará los brotes en una etapa temprana de su desarrollo y suprimirá la formación de brotes nuevos.

## **DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

En la Figura 1 se muestra una representación esquemática de las dimensiones de las cabinas de tratamiento que se usaron en los ensayos de nebulización.

En la Figura 2 se muestra una representación gráfica del índice de brotes para papas de la variedad Bintje que no se trataron antes del almacenamiento (negro) y las papas que se trataron con 30 ml de CIPC/tonelada antes de ingresarlas en el almacenamiento (gris). Se muestran resultados para distintos regímenes de nebulización.

En la Figura 3 se muestra una representación fotográfica de los resultados en el grupo no tratado.

En la Figura 4 se muestra una representación fotográfica de los resultados obtenidos en el grupo que recibió un tratamiento de tres semanas con 7,5 ml/1000 kg de CIPC con Neonet 500 HN.

En la Figura 5 se muestra una representación fotográfica de los resultados obtenidos en el grupo que recibió un tratamiento de tres semanas con limoneno y la composición de EC del ejemplo 1. La tasa de dosis inicial fue de 90 ml de limoneno/tonelada de papas; desde un segundo tratamiento en adelante, la tasa de dosis fue de 30 ml de limoneno/tonelada de papas.

En la Figura 6 se muestra una representación fotográfica de los resultados obtenidos en el grupo que recibió un tratamiento de tres semanas con 3,75 ml/1000 kg de CIPC con Neonet 500 HN en combinación con limoneno. Se aplicó limoneno, en la composición EC del ejemplo 1, la primera vez en una dosis de 90 ml/1000 kg, seguido de 30 ml/1000 kg en intervalos de tres semanas.

En la Figura 7 se muestra una representación gráfica de los resultados de los ensayos en papas. En el eje Y se muestra el peso de los brotes y se expresa en g de brote/kg de papa. En el eje X se muestra la tasa de dosis expresada en ml de producto formulado por tonelada de papa, con un intervalo de tratamiento de cada tres semanas. Las barras con la letra A representan una aplicación de nebulización en frío, las barras con la letra B representan una aplicación de termonebulización (Electrofog). En la Figura 7A se presentan los datos obtenidos 5 meses después del almacenamiento; en la Figura 7B se proporcionan los datos para los 6 meses posteriores al almacenamiento. En la Figura 7C se proporcionan los datos para los 7 meses posteriores al almacenamiento.

En la Figura 8 se muestra una presentación de gráfico de barras de los resultados obtenidos para los ensayos de papa con aplicación de termonebulización (Electrofog). Los resultados se presentan para ensayos realizados con papas de las variedades Bintje (letargo medio largo a largo), Nicola (letargo medio largo) y Charlotte (letargo largo). Los productos usados fueron CIPC o aceite de naranja (BIO024, x% de limoneno). La dosis aplicada se expresa en ml de producto/tonelada. También se incluye la frecuencia de la aplicación. En el primer ensayo con CIPC, se aplicaron 12 g de ingrediente activo el 5 de noviembre de 2014, 8 g de ingrediente activo el 31 de diciembre de 2014, 8 g de ingrediente activo el 25 de febrero de 2015 y 8 g de ingrediente activo el 22 de abril de 2015; 2: CIPC (en almacenamiento) + BIO024 después de 9 semanas cada 3 semanas; 3: CIPC (en almacenamiento) + BIO 024 después de 3 semanas cada 3 semanas; 4: 166 ml de BIO 024 cada 5 semanas; 5: 133 ml de BIO 024 cada 4 semanas; 6: 100 ml de BIO 024 cada 3 semanas; 7: 66 ml de BIO 024 cada 2 semanas; 8: 33 ml de BIO 024 cada semana; 9: no tratado. Los resultados se registraron 5 meses después del almacenamiento.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Tal como se lo usa en la presente, "aproximadamente" se refiere a un valor mensurable tal como un parámetro, una cantidad, una duración temporal y similares, incluye variaciones de 35  $\pm$  20% o menor, de preferencia  $\pm$  10% o menor, de mayor preferencia  $\pm$  5% o menor, con incluso mayor preferencia  $\pm$  1% o menor, e incluso con mayor preferencia  $\pm$  0,1% o menos del valor específico, en la medida en la que dichas variaciones son adecuadas para obtener resultados en la invención revelada. No obstante, se deben entender que el valor al cual se refiere el modificador "aproximadamente" también se revela de manera específica.

La enumeración de rangos numéricos por valores extremos incluye a todos los números y las fracciones comprendidos dentro de dicho rango, así como también a los valores extremos enumerados.

La expresión "% en peso" o "% p/p" (porcentaje en peso), aquí y en toda la descripción a menos que se indique lo contrario, se refiere al peso relativo del componente respectivo sobre la base del peso total de la formulación.

Tal como se lo usa en la presente, el término "tubérculo" se refiere a una estructura vegetal modificada que aumenta para almacenar nutrientes para que la planta sobreviva durante el invierno o los meses de sequía. Proporcionan energía y nutrientes para el rebrote y la reproducción asexual. En las plantas se los puede encontrar en las papas (*Solanum tuberosum*), batatas (*Ipomoea batatas*), mandioca (*Manihot esculenta*), ñame (*Dioscorea*) y dalia.

Tal como se los usa en la presente, los términos "brotes", "yemas" o "germinación" son sinónimos. Los términos se refieren al crecimiento temprano de una planta a partir de un bulbo o un tubérculo.

Tal como se los usa en la presente, los términos "antibrote" y "antigerminación" se refieren a la capacidad para detener la formación o el crecimiento de brotes o yemas en tubérculos.

Para el uso combinado de CIPC y limoneno, el CIPC impedirá el crecimiento de los brotes mediante un modo de acción sistémico donde el limoneno aplicado actúa al

eliminar los brotes de un tubérculo que tiene brotes mediante un modo de acción curativo.

En una forma de realización preferida, el limoneno está presente en la composición como la forma enantiomérica pura D-limoneno, CAS: 5989-27-5. En otra forma de realización, el limoneno está presente en la composición como la forma enantiomérica pura L-limoneno, CAS: 5989-54-8. En incluso otra forma de realización, el limoneno está presente como mezcla racémica, también conocida como dipenteno, CAS: 138-86-3.

El limoneno se puede obtener por vía sintética o se puede extraer de una fuente natural. Como la vía sintética es muy costosa, en vista del material disponible de las fuentes naturales, la mayoría del limoneno disponible en el comercio proviene de fuentes naturales. El D-limoneno se puede obtener para uso comercial a partir de frutas cítricas mediante dos métodos primarios: separación centrífuga o destilación al vapor.

En una forma de realización preferida, el limoneno está presente en forma de aceite esencial; lo que significa que el aceite producido por una planta o una parte de una planta. La presencia de un aceite esencial hace que el agente antibrote sea más natural y use recursos sustentables en la producción. A menudo los aceites esenciales son un subproducto de la agricultura, y encontrar aplicaciones para este subproducto puede generar un valor económico mayor para un cultivo en crecimiento. Los aceites esenciales adecuados para usar en la presente invención son aceite cítrico, aceite de naranja, aceite de limón, aceite de lima, aceite de pomelo y aceite de mandarina.

En una forma de realización preferida, el limoneno está presente en forma de una composición que comprende más del 50% de 1-metil-4-(1-metiletenil)-ciclohexeno como ingrediente activo, más conocido como limoneno. En una forma de realización preferida, la composición comprende más del 60%, de preferencia más del 70%, y con mayor preferencia más del 90 % en peso de limoneno en relación con el peso total de la composición.

En una forma de realización preferida dicha composición que comprende al limoneno incluye al aceite de naranja. El aceite de naranja consta de más del 90% de D-limoneno, una forma enantiomérica pura del limoneno. El contenido de limoneno del aceite de naranja depende de la variedad de naranja de las cuales proviene el aceite

y que depende de la región en la que se cultivó las naranjas. La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos FDA clasificó al aceite de naranja como “reconocido como seguro en general” y aprobó el agregado de aceite de naranja a los alimentos. El precio del aceite de naranja es mucho menor que el precio del aceite de menta, el aceite de clavo o el aceite de alcaravea, lo que hace que el aceite de naranja sea la opción más favorable desde el punto de vista económico.

En una forma de realización más preferida, la composición que comprende al limoneno sólo contiene aceite de naranja sin aditivo alguno, o sin otro solvente que no sea aceite de naranja.

Se descubrió que el aceite de naranja no afecta el sabor de los tubérculos tratados al como lo hace el aceite de menta que contiene mentol. Es el mentol el que contribuye con el sabor mentolado que tienen las papas tratadas.

En una forma de realización más preferida, dicho aceite de naranja se selecciona de la lista de aceite de naranja de grado técnico, CAS 94266–47–4; aceite de naranja de grado alimenticio, CAS 8028–48–6 o aceite de naranja prensado en frío. El experto en el arte está familiarizado con el aceite de naranja y sus características a partir de su inclusión en la lista como sustancia activa (SANCO/12083/2013 revisión 3, 2013) y las referencias estándar ISO 3140:211 y la Farmacopea Europea 5.0, 2005.

En una forma de realización preferida, la composición de limoneno está en forma de composición emulsionante con agua (EC), que comprende más del 50% en peso, 55% en peso, 56% en peso, 57% en peso, 58% en peso, 59% en peso, o más del 60% en peso de limoneno y un surfactante emulsionante. En una forma de realización preferida, la composición comprende más del 65%, de preferencia más del 70%, y con mayor preferencia más del 71% en peso de limoneno en relación con el peso total de la composición. Una composición más preferida tiene en general un contenido de limoneno de 71–72% en peso en relación con el peso total de la composición. El alto contenido de limoneno tiene la ventaja de que se necesita enviar y almacenar menos volumen de composición en comparación con un producto más diluido.

De preferencia el concentrado emulsionante comprende al menos 500 g/l de limoneno, de preferencia al menos 550 g/l de limoneno, con mayor preferencia al menos 600 g/l de limoneno, que se expresa como una cantidad de ingrediente activo con el 100% de pureza en relación con el volumen total de la composición.

En una forma de realización preferida, la composición de limoneno está libre de solvente en esencia; esto significa libre de agua y de cualquier solvente orgánico que no sea aceite de naranja o limoneno. Tal como se lo usa en la presente invención, el término “libre de solvente en esencia” significa una composición con menos que el 10% en peso de solvente sobre la base del peso total de la composición. El término “solvente” significa una sustancia en la cual se disuelve otra sustancia y así forman una solución.

En una forma de realización preferida, la composición de limoneno comprende menos que el 10% en peso de solvente, de preferencia menos que el 5% en peso de solvente, y de mayor preferencia está libre de solvente, aunque no se pueden excluir los rastros de solvente de menos de 0,1%, todos los porcentajes son peso en peso. En una forma de realización preferida, la composición comprende menos que el 5% de agua y con mayor preferencia está libre de agua, aunque no se pueden excluir los rastros de menos del 0,1% de agua, todos los porcentajes son peso en peso.

De preferencia, la composición de limoneno comprende además uno o más tensioactivos. De preferencia dicho uno o más tensioactivos son un surfactante no iónico y/o un surfactante aniónico.

De preferencia, el surfactante no iónico se selecciona de la lista que incluye monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán, sesquioleato de sorbitán, trioleato de sorbitán, monolaurato de polioxietileno sorbitán, monoestearato de polioxietileno sorbitán, monooleato de polietilenglicol, alquilato de polietilenglicol, polioxietileno alquil éter, poliglicol diéter, lauril dietanolamida, isopropanol amida de ácidos grasos, éter de ácido graso hidroxil maltitol, polisacárido alquilado, alquil glucósido, éster de azúcar, alcohol alcoxilado, monoestearato de glicerol oleofílico, monoestearato de glicerol autoemulsionante, monoestearato de poliglicerol, alquilato de poliglicerol, alcoxilato de ácido graso, monooleato de sorbitán, monoestearato de polietilenglicol, monooleato de polioxietileno sorbitán, polioxietileno cetil éter, polioxietileno esteroles, polioxietileno lanolina, polioxietileno de cera de abejas o sus combinaciones.

De preferencia, el surfactante aniónico se selecciona de la lista que incluye estearato de sodio, palmitato de potasio, sodio cetil sulfato, sodio lauril fosfato, polioxietilen laurilsulfato de sodio, palmitato de trietanolamina, laurilfosfato de sodio polioxietilenado, glutamato de N-acil sodio, o sus combinaciones.

De preferencia, el surfactante no iónico presente en una composición según la invención es un surfactante polimérico no iónico. Con mayor preferencia el surfactante polimérico es un alcohol alcoxilado, con incluso mayor preferencia un alcoxilato de alcohol graso, con mayor preferencia un etoxilato y/o propoxilato de alcohol. De preferencia el alcohol alcoxilado es un alcoxilato de isotridecanol, con mayor preferencia pentaetoxilato de isotridecanol.

El surfactante está presente en una cantidad preferente de entre 5 y 40 %, con mayor preferencia entre 10 y 20 %, con incluso mayor preferencia entre 12 y 13%; todo el peso del surfactante se expresa en peso total de la composición.

Tal como se lo usa en la presente, el término “alcohol graso” significa un alcohol de cadena lineal o ramificada con una cadena de carbono con una longitud de al menos 4 átomos de carbono, de preferencia al menos 6, con mayor preferencia al menos 8, con incluso mayor preferencia al menos 10, con la mayor preferencia al menos 12. De preferencia el alcohol grado tiene una cadena de carbono con una longitud menor que 22, con mayor preferencia menor que 20, con incluso mayor preferencia menor que 18 átomos de carbono. De preferencia el alcohol es un alcohol primario. Con mayor preferencia el alcohol es un alcohol primario con una cadena de carbono con una longitud de entre 4 y 22 átomos de carbono, con mayor preferencia entre 8 y 14 átomos de carbono.

En una forma de realización preferida, la composición comprende un agente humectante, que ayuda a reducir la tensión de superficie de la emulsión formada luego de agregar la composición al agua para formar una mezcla aerosolizada. Esta tensión de superficie reducida ayuda a cubrir una superficie mayor de tubérculos con la composición.

No obstante, la composición que en esencia está libre de agua no permite el uso de los agentes humectantes que se usan por lo habitual en el arte, en especial un surfactante aniónico soluble en el agua. Estos tensioactivos necesitan agua para

formar una solución estable, ya que su contraión es por lo general un ion de calcio, un ion de amonio, un ion de sodio o un ion de potasio. Los ejemplos de estos tensioactivos aniónicos incluyen agentes tales como estearato de sodio, palmitato de sodio, sodio cetil sulfato, sodio lauril fosfato, polioxietilen laurilsulfato de sodio, palmitato de trietanolamina, laurilfosfato de sodio polioxietilenado, glutamato de N-acil sodio y sus combinaciones.

El agente humectante en una composición de acuerdo con la invención es de preferencia un surfactante aniónico con una parte aniónica tal como sulfonato de alquilbenceno, de mayor preferencia un sulfonato de dodecilbenceno. El contraión catiónico se elige de preferencia de la lista que incluye ion de trietilamonio, ion de trietanolamonio, ion de tetrabutilamonio u otros iones tetraalquilamonio, ion de tetrafenilfosfonio u otros iones de tetraalquilfosfonio; o combinaciones de un ion metálico y un éter de corona; y sus combinaciones.

En una forma de realización preferida, el agente humectante es de preferencia un alquilbencensulfonato de etanolamina. En una forma de realización preferida, el agente humectante es sulfonato de dodecilbencen trietanolamonio, CAS: 27323-41-7. Una combinación de ese anión y el contraión permite que el agente humectante sea soluble en la composición sin usar otro solvente que el limoneno. Se descubrió que una composición emulsionante de limoneno y este tipo de surfactante en ausencia de solvente adicional presenta buena estabilidad en almacenamiento en frío.

De preferencia la estabilidad aceptable en frío de la composición de limoneno de acuerdo a la presente invención se encuentra dentro de un rango de entre  $-20^{\circ}\text{C}$  y  $5^{\circ}\text{C}$ , de preferencia entre  $-10^{\circ}\text{C}$  y  $4^{\circ}\text{C}$ , con mayor preferencia entre  $-5^{\circ}\text{C}$  y  $3^{\circ}\text{C}$ , con incluso mayor preferencia entre  $-4^{\circ}\text{C}$  y  $0^{\circ}\text{C}$ .

Se midió la estabilidad de almacenamiento en frío para composiciones almacenadas por un período de 7 días, según CIPAC MT 39.3: estabilidad de formulaciones líquidas a bajas temperaturas. Una muestra se mantiene a  $0^{\circ}\text{C}$  durante 1 h y se registra el volumen de cualquier sustancia sólida u oleosa que se separe. El almacenamiento a  $0^{\circ}\text{C}$  se continúa por 7 días, cualquier materia sólida se precipita por centrifugado y se registra el volumen. Los métodos de medición son conocidos para el experto en el arte.

El agente humectante está presente en la composición emulsionante en una cantidad de preferencia entre 5 y 25%, con mayor preferencia entre 10 y 20%, con incluso mayor preferencia entre 15 y 16%, expresado en porcentaje en peso de surfactante por peso total de la composición.

En una forma de realización preferida, la composición de limoneno comprende tanto un surfactante no iónico como un surfactante aniónico. De mayor preferencia, una composición para su uso en la presente invención comprende como tensioactivos una combinación de un alcohol graso alcoxlado y alquilbencensulfonato de etanolamina.

En una forma de realización preferida, la composición comprende un antioxidante para el limoneno. De preferencia, el antioxidante se elige de la lista que incluye difenilamina, etoxiquina, BHA que es una mezcla de 3-t-butil-4-hidroxianisol y 2-t-butil-4-hidroxianisol, BHT que corresponde a 2,6-di-ter-butil-p-cresol, ácido ascórbico, un tocoferol, un polifenol, o sus combinaciones.

La presencia de un antioxidante puede proteger al limoneno de la oxidación. Por ejemplo, los restos de oxígeno se pueden infiltrar en la composición o el espacio en el cuello de la botella luego de que se abrió la botella. Esto es ventajoso ya que se supone que los óxidos de limoneno son sensibilizadores.

El antioxidante está presente de preferencia en menos que el 1%, con mayor preferencia en menos que el 0,5%, con incluso mayor preferencia en menos que el 0,1 %, todo expresado en peso de antioxidante por peso total de la composición.

En una forma de realización preferida el antioxidante es BHT o BHA. La composición comprende de preferencia menos que el 1% de BHT o BHA%, con mayor preferencia menos que el 0,5% de BHT o BHA%, con incluso mayor preferencia menos que el 0,1 % de BHT o BHA%, todo expresado en peso de antioxidante por peso total de la composición.

En otra forma de realización preferida, el aceite de naranja se usa puro. Esto hace que la composición de limoneno sea natural por completo. De preferencia dicha composición comprende al menos 500 g/l de limoneno, de preferencia al menos 600 g/l de limoneno, con mayor preferencia 700 g/l de limoneno, con incluso mayor preferencia 800g/l de limoneno y con la mayor preferencia al menos 900 g/l de

limoneno, expresado como cantidad del ingrediente activo de limoneno con 100% de pureza en relación con el volumen total de la composición.

En una forma de realización preferida, una composición comprende CIPC y limoneno juntos. Estos se pueden disolver ambos en un solvente o el CIPC se puede disolver en el limoneno sin necesidad de usar un solvente.

Una composición de limoneno comprende de preferencia al menos un 50 % en peso de limoneno, de preferencia un 55% en peso de limoneno, con mayor preferencia un 60% en peso de limoneno, con incluso mayor preferencia un 65% en peso de limoneno, y con la mayor preferencia al menos un 70% en peso de limoneno, expresado en comparación con el peso total de la composición. El alto contenido de limoneno tiene la ventaja de que se necesita enviar y almacenar menos volumen de composición en comparación con un producto más diluido.

La cantidad de ingredientes activos para el tratamiento se selecciona al menos en parte para prevenir el brote de los tubérculos tratados y para eliminar los brotes que se hayan formado en dichos tubérculos.

La cantidad de CIPC que se usa en general como agente antibrote cuando se usa sin limoneno es de un máximo de 36 g de CIPC/ ton/ año y se usan las dosis siguientes:

- una primera aplicación a las 3 a 6 semanas en almacenamiento con una dosis de 6 a 12 g de CIPC/ton;
- a partir de la segunda aplicación, cada 2 a 3 meses, una dosis de 6 a 8 g de CIPC/ton.

En la presente invención, la cantidad de limoneno / CIPC que se aplica a los tubérculos es una cantidad eficaz para inhibir el brote de los tubérculos. La inhibición del brote puede variar en la presente invención desde mínima hasta algo de inhibición hasta inhibición completa, que incluye todas las variantes intermedias.

La cantidad de limoneno/CIPC que resulta eficaz para inhibir el brote de los tubérculos, en particular las papas, depende de factores tales como la composición que comprende al limoneno y/o el CIPC (por ejemplo, puro, diluido, EC) y hasta el cultivar de papas que se quiere tratar. En algunas formas de realización, el limoneno / CIPC se aplica a los tubérculos, en particular a las papas, en una cantidad

suficientes para brindar una dosis de cualquier cantidad mensurable tal como 0,001 ppm hasta 50, 100, 200, 500 o 1000 ppm.

De acuerdo con la invención, la relación de la masa de limoneno con la masa de CIPC es mayor que 4. En una forma de realización preferida, la relación entre la masa de limoneno y la masa de CIPC es de preferencia entre 2 y 50, con mayor preferencia entre 4 y 40, con incluso mayor preferencia entre 6 y 30 y con la mayor preferencia entre 8 y 24. Esta relación asegura que la mayoría de los ingredientes activos sea inocua para el limoneno y reduzca en gran medida la cantidad de CIPC nocivo necesario para que sea eficaz en la inhibición de la formación de brotes.

De preferencia el CIPC se usa en una cantidad máxima de 36 g de CIPC por tonelada de tubérculos tratados. Con mayor preferencia, se usa como mucho 30 g de CIPC por tonelada de tubérculos tratados, con incluso mayor preferencia se usa como mucho 25g, 20 g, 15g y con la mayor preferencia se usa como mucho 12 g de CIPC por tonelada de tubérculos tratados.

De preferencia el limoneno se usa en una cantidad máxima de 1080 g de limoneno por tonelada de tubérculos tratados o 12 tratamientos de 90 g de limoneno/tonelada.

En una forma de realización preferida, se aplican 12 g de CIPC en el almacenamiento en combinación con 90 g de limoneno después de nueve semanas, seguido de tratamientos con 90 g de limoneno cada tres semanas. En otra forma de realización preferida, se aplican 12 g de CIPC en el almacenamiento seguido de tratamientos con 90 g de limoneno cada tres semanas.

En una forma de realización preferida, la aplicación de la composición que comprende CIPC se hace por nebulización. En el proceso de nebulización, la composición se volatiliza mediante aire o cualquier otro gas soplado a través de la composición, lo que lleva a que se formen gotas en el aire o el gas. La temperatura a la cual se hace la nebulización es de preferencia entre 150 °C y 350 °C, con mayor preferencia entre 175 °C y 250 °C. Este tipo de aplicación conduce a una niebla, con gotas de diámetro pequeño y con una distribución más acotada que la que se obtendría con nebulización en frío. Tal como se los usa en la presentes, los sinónimos de “termonebulización” son nebulización en caliente o nebulización térmica.

Tal como se lo usa en la presente, la nebulización se refiere a la generación de gotas ultrafinas en un rango de entre 1 y 50  $\mu\text{m}$  con energía neumática. Las sustancias líquidas se vaporizan al final de un cañón de nebulización (resonador) y forman aerosoles ultrafinos al condensar en contacto con el aire ambiente más fresco cuando se eyectan para crear nubes de niebla visible densa.

Las soluciones de aceite de naranja o un concentrado emulsionante de limoneno tal como se describen para su uso en una forma de realización de la invención son adecuadas en especial para estos fines. El método de nebulización permite el tratamiento de espacios bastante grandes con una cantidad mínima de solución pesticida, menos trabajo operativo y con menos daño para el medioambiente, es decir, menos residuos.

El equipo de nebulización es conocido para el experto en el arte. Por ejemplo, se puede usar un motor pulsorreactor para la nebulización. El motor pulsorreactor consiste en una cámara de combustión con forma de botella similar a un motor cohete que se abre en una tubería de escape larga (resonador). Se suministra una mezcla inicial de combustible y aire a través de válvulas sin retorno dentro de una cámara de combustión y se enciende mediante una chispa de alta tensión que se obtiene de un dispositivo de encendido electrónico alimentado a batería conectado al enchufe durante unos pocos segundos. El combustible es nafta normal y se usan aproximadamente 2 l/h en máquinas pequeñas. Una vez que se encendió la máquina ya no se necesita la chispa de alta tensión y entonces se apaga de manera automática. Los gases de escape de la cámara de combustión escapan como una ola de presión a alta velocidad a través de una tubería larga de diámetro más pequeño que el de la cámara de combustión y produce un recambio de nafta y aire del carburador. Durante la operación se producen entre 80 y 100 pulsaciones por segundo. El tanque de pesticida también se presuriza mediante una válvula sin retorno, de preferencia con 0,2 a 0,4 bar, y cuando la máquina haya calentado, casi siempre luego de unos 2 minutos de funcionamiento, se abre la tapa de una válvula para permitir el flujo controlado y regulado de la solución a través de boquillas de dosificación intercambiables que se colocan en el extremo del resonador. El producto químico que se desea atomizar se inyecta en la corriente de gas de escape caliente cerca de la salida del resonador. Una parte se gasifica y se condensa para formar billones de gotas de niebla ultrafina. Como el motor pulsorreactor no tiene componentes de impulso mecánico móviles, es menos sensible al desgaste y el

deterioro. Es rentable ya que se pueden obtener ahorros en actividades de reparación.

En una forma de realización preferida, se usa un aparato de nebulización con dos puntos de inyección de nebulización en el resonador que permiten la aplicación de dos ingredientes activos diferentes o la combinación de tamaños de gota pequeño y grande, tal como el limoneno y el CIPC.

En otra forma de realización preferida, se usa un aparato de nebulización que permite no premezclar el limoneno/CIPC y el agua como transportador en un tanque químico sino inyectarlos en el resonador del aparato por separado y sólo mezclarlos en el punto en donde se atomizarán. La concentración emulsionante de limoneno sin agua ni solvente que no sean terpenos es adecuada en especial para su uso con este tipo de aparatos.

Para un termonebulizador pulsorreactor con adición separada de agua las ventajas son las siguientes: el agua, que necesita más calorías para evaporarse, se inyecta en el resonador en un punto de mayor temperatura y enfría los gases de la explosión térmica hasta la llamada temperatura del flujo de agua de un sistema abierto = 100°C. La composición de limoneno se inyecta en un punto más frío y en cambio absorbe la temperatura de escape original a una temperatura preenfriada de 100°C durante 0,05 a 0,1 segundos lo que lleva a una temperatura incluso más baja de entre 30 y 40 °C en el área de mezcla del “efecto Venturi”. El tamaño de gota deseado se controla mediante la tasa de flujo ajustable del agua inyectada. Si fuera necesario, se pueden producir tamaños de gota más grandes y pesados. En consecuencia, la técnica ofrece una suerte de sistema de aplicación de nebulización en frío en comparación con los sistemas LV y ULV. Otra ventaja es que el vapor de agua producido limpia el tubo de escape del resonador y evita que se formen residuos de la solución de nebulización al final del tubo. Incluso otra ventaja es que el agua de inyección evita en cualquier caso la inflamación de la niebla de pesticida con base oleosa y también reduce el peligro de incendio a casi cero cuando la máquina se usa de manera inadecuada. Incluso si el usuario se olvidara de cerrar la tapa de la niebla cuando detiene la máquina, la inyección de agua impedirá una inflamación de la formulación de pesticida.

En una forma de realización preferida, la aplicación de la composición que comprende limoneno se hace mediante nebulización. Esta nebulización puede ser

en frío o caliente. La aplicación de limoneno se hace de preferencia por termonebulización, tal como electronebulización.

En otra forma de realización preferida, la aplicación de una composición que comprende tanto a limoneno como a CIPC se aplica mediante nebulización.

En otra forma de realización la aplicación de la composición que comprende limoneno y/o la composición que comprende CIPC se hace por rocío, humectación, inmersión, vaporización, lluvia, remojo, humidificación, rociado, mojado o salpicado.

Un tratamiento con limoneno se puede ejecutar con un intervalo como mucho de un día antes de que comercializar los tubérculos. Debido a su volatilidad, se evapora en un día. El precio de las papas varía durante la temporada de almacenamiento y es difícil de predecir. Cuando se trata con una cantidad grande de CIPC, las papas no se pueden comercializar cuando el precio de repente es alto. Esto se debe al hecho de que el nivel de residuo de CIPC es todavía demasiado alto. Los tratamientos frecuentes con dosis pequeñas de CIPC seguido de limoneno aseguran que el nivel de residuo de CIPC en cualquier momento será menor que el Nivel Máximo de Residuos (MRL) y se puede comercializar en cualquier momento durante la temporada de almacenamiento. Esta es una respuesta mucho mejor a las demandas del mercado y se puede obtener un valor de mercado mucho mayor.

En una forma de realización preferida, los tubérculos tratados son papas.

En una forma de realización preferida, la aplicación de la composición que comprende limoneno se lleva a cabo después de la aplicación de la composición que comprende CIPC. El CIPC inducirá un estado latente que retrasará la formación de brotes. El CIPC funciona como agente antibrote preventivo. Los pocos brotes que se puedan haber formado serán eliminados por el limoneno, que actúa como un agente antibrote curativo.

En otra forma de realización preferida, la aplicación de la composición que comprende CIPC se lleva a cabo luego de la aplicación de la composición que comprende limoneno. El limoneno eliminará los brotes presentes ya que el limoneno actúa como agente antibrote curativo. El CIPC inducirá un estado latente que dará como resultado la formación de muy pocos brotes ya que el CIPC actúa como agente antibrote actúa como agente antibrote preventivo.

En una forma de realización preferida, se deja un período de preferencia de entre 0 y 30 días, con mayor preferencia de entre 7 y 21 días, y con la mayor preferencia de 14 días entre la aplicación de la composición que comprende CIPC y la aplicación de la composición que comprende limoneno. Esta sincronización de la aplicación proporciona los resultados más eficaces ya que los brotes son todavía muy pequeños cuando se aplica el limoneno.

En otra forma de realización preferida, la aplicación de CIPC y limoneno se lleva a cabo al mismo tiempo, de preferencia con la misma máquina.

A continuación se describirá la presente invención en mayor detalle con referencia a los ejemplos que son a título enunciativo y no taxativo.

**Ejemplo 1:** Preparación de una composición de limoneno para su uso en nebulización

Se puede preparar una composición adecuada para su uso en nebulización en frío para el tratamiento antibrote de tubérculos como se indica a continuación. Se seleccionó aceite de naranja de grado comestible como material de inicio. A ése se le agregó aceite de terpeno rico en D-limoneno y tensioactivos, en especial un surfactante no iónico y un surfactante iónico. Resultó ventajoso agregar un antioxidante de limoneno. En la composición que se ilustra a continuación se seleccionó hidroxitolueno butilado. No fue necesario agregar solvente alguno al aceite de naranja.

Tabla 1 Composición de aceite de naranja 600 EC, código de producto BCP425D

| Ingredientes                         | g/l          | % p/p      |
|--------------------------------------|--------------|------------|
| Aceite de naranja                    | 630          | 71,6       |
| Hidroxitolueno butilado (BHT)        | 0,7          | 0,1        |
| Alcohol graso iso-C13 + 5 EO         | 112          | 12,7       |
| Alquilbencensulfonato de etanolamina | 137          | 15,6       |
| Sin solvente adicional               |              |            |
| <i>Total</i>                         | <i>879,7</i> | <i>100</i> |

## Ejemplo 2

### Investigación del Diseño de las Instalaciones de Almacenamiento de Papas

El sistema de almacenamiento se diseñó para reproducir en miniatura una gran instalación de almacenamiento comercial. Consta de 4 cabinas de prueba con lugar para 4 cajas por nivel. En total había 7 niveles y las cajas se ubicaron en forma escalonada en sentido horario. Cada cabina se podía usar para almacenar hasta 560 kg de papas por cabina. Las dimensiones de una cabina se muestran en la Figura 1.

Durante el almacenamiento, la temperatura del aire dentro del sistema de almacenamiento se mantuvo entre 5,0 °C y 9,5 °C. La humedad relativa se mantuvo entre 87% y 100%.

El equipo de aplicación que se usó para la termonebulización fue IGEBA TF-35. El equipo de aplicación que se usó para la nebulización en frío fue VEUGEN, tipo: FOGCOL. La presión de operación fue 3,3 bar. Las condiciones de nebulización en frío y termonebulización fueron similares a las que se obtienen en el almacenamiento local en la práctica.

### Tratamiento por nebulización

Las cabinas con 560 kg de papas se almacenaron en una instalación de almacenamiento enfriada. Se usaron papas de la variedad *Bintje*. Las papas vinieron directamente del campo del estudio. No se hizo una clasificación especial luego de la cosecha. La calidad de los tubérculos era buena y no se informaron cuestiones especiales. Se cosecharon el 8 de octubre. Luego de 2 semanas se las puso en cajas azules de aproximadamente 20 kg. Se las colocó en las 4 cabinas de prueba, 4 cajas por nivel. Cada caja contenía un objeto diferente, como se detalla a continuación:

- Objeto 1 : Bintje sin tratamiento
- Objeto 2 : Bintje con CIPC (inicio de Neonet 30 ml/ton) (CIPC 300 EC)
- Objeto 3 : Innovator sin tratamiento
- Objeto 4 : Innovator con Himalaya 5 kg (5 kg de hidrazida maleica 600 SG por hectárea (aplicación foliar)

En total había 560 kg de papas en cada cabina.

- Aproximadamente 15 minutos antes del tratamiento la regulación automática se apagó y se encendió la ventilación interna manual (Force III). Estimula la circulación del aire interno. Nota: La ventilación Force III significa  $\sim 900 \text{ m}^3/\text{h}$ .
- Como se sabía el peso exacto de los tubérculos en la cabina, se calculó y preparó la cantidad exacta de producto formulado.
- Durante el rocío/nebulización y hasta aproximadamente 15 minutos después del rocío, la ventilación interna se mantuvo encendida (Force III) para asegurar un buen contacto entre el producto y los tubérculos.
- Aproximadamente 15 minutos después del rocío se apagó la ventilación interna.
- El día después (un mínimo de 12 horas después de finalizado el rocío) se encendió la regulación automática hasta la siguiente aplicación o hasta la finalización del estudio.

La nebulización de la cabinas se hizo mediante un agujero pequeño en la parte superior de la puerta. La niebla se generó fuera de la cabina y luego se la hizo ingresar a ella. Después de nebulizar las cabinas se las colocó de nuevo en el refrigerador a  $8^\circ\text{C}$ .

En la parte posterior de las cabinas había tubos con un pequeño ventilador para proporcionar circulación de aire en las cabinas. La circulación de aire en las cabinas fluía desde abajo hacia arriba. La circulación de aire se apagó durante las 24 horas después del tratamiento.

Entre cada tratamiento la boquilla de nebulización se limpió y lavó con agua caliente. Se la usó para rociar con agua caliente para limpiarla.

La primera aplicación de nebulización (A) de las cabinas se hizo el 22 de octubre, 2 semanas después de la cosecha. A partir de ese momento hubo un intervalo de 3 semanas hasta la segunda y última cotización el mayo del año siguiente.

Cada cabina se trató de acuerdo con el estado según se detalla en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1 Cronograma de tratamiento

|                                                                                 |             |                  |             |                         |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------------|------------------|-------------|-------------------------|
|                                                                                 | Cabina Nº 1 | Cabina Nº 2      | Cabina Nº 3 | Cabina Nº4              |
| Producto                                                                        | No tratado  | Neonet 500<br>HN | BCP425D     | Neonet 500 +<br>BCP425D |
| <u>Primer tratamiento: 22/10/2012 (2 semanas después de la cosecha)</u>         |             |                  |             |                         |
| Dosis:<br>ml/cabina                                                             | Ninguna     | 4,2              | 50,4        | 2,1 + 50,4              |
| <u>A partir del segundo tratamiento, cada 3 semanas a partir del 11/12/2012</u> |             |                  |             |                         |
| Dosis:<br>ml/cabina                                                             | Ninguna     | 4,2              | 16,8        | 2,1 + 16,8              |

Evaluación

La evaluación de los objetos se realizó dos veces. La primera evaluación se hizo el 8 de marzo de acuerdo con la escala PCA, según se detalla en la Tabla 2. Se otorgó un número global a los brotes en el 4º nivel (mitad de las cabinas). Los resultados se resumen en la Figura 2.

Tabla 2 Escala de evaluación

|   |                                                                    |
|---|--------------------------------------------------------------------|
| 1 | Sin brotes                                                         |
| 2 | Brotes visibles, la mayoría de los brotes en etapa de punta blanca |
| 3 | Punta blanca generalizada                                          |
| 4 | Mayoría de los brotes > 2 mm                                       |
| 5 | Todos los brotes > 2 mm                                            |
| 6 | Todos los brotes > 2 mm, algunos > 20 mm                           |
| 7 | Todos los brotes > 20 mm                                           |
| 8 | Germinación avanzada                                               |
| 9 | Germinación avanzada + formación de raíces                         |

La segunda evaluación se hizo a mediados de mayo. El resultado se muestra en las imágenes (Figuras 3–7).

No se observaron síntomas de fitotoxicidad en los tubérculos durante las distintas observaciones.

#### Resultados – Primera Evaluación 03/08/2013

En la Figura 2 se muestra una representación gráfica del índice de brotes para papas de la variedad Bintje que no se trataron antes del almacenamiento (negro) y las papas que se trataron con 30 ml de CIPC/tonelada antes de ingresarlas en el almacenamiento (gris). Se muestran los resultados para las 4 cabinas de tratamiento. La primera cabina no recibió tratamiento durante el almacenamiento. La segunda cabina se trató cada 3 semanas con CIPC en la formulación de Neonet 500HN mediante termonebulización a una tasa de dosis de 7.5 ml de CIPC/toneladas de papas. La tercera cabina se trató con una composición de limoneno en una tasa inicial de dosis de 90 ml de limoneno/tonelada de papas, a partir del segundo tratamiento la tasa de dosis fue de 30 ml de limoneno/tonelada de papas. La cuarta cabina se trató con una composición de limoneno en una tasa inicial de dosis de 90 ml de limoneno/tonelada de papas, a partir del segundo tratamiento la tasa de dosis fue de 30 ml de limoneno/tonelada de papas, cada tratamiento que recibió la cuarta cabina se combinó con una aplicación de CIPC con una formulación de Neonet 500HN a una tasa de dosis de 3,75 ml de CIPC/tonelada de papas.

Se puede inferir de los resultados que una combinación de CIPC con limoneno permite la reducción de la dosis de CIPC para los tratamientos de seguimiento.

#### Resultados – Segunda evaluación – mediados de mayo 2013

En la Figura 3 se muestra el índice de brotes para papas de la variedad Bintje que no se trataron antes del almacenamiento (negro) y las papas que se trataron con 30 ml de CIPC/tonelada antes de ingresarlas en la mesa rodante (gris). Neonet es una formulación de CIPC, el tratamiento de las papas cada 3 semanas con CIPC reduce el crecimiento de brote, pero no hay efecto agregado en comparación con las papas que se trataron con CIPC antes de ingresarlas al almacenamiento. BCP 425D significa aceite de naranja, y es tal cual para el limoneno. El limoneno a una tasa inicial de dosis de 90 ml seguido de tasas de dosis de 30 ml no tuvo efecto alguno en el crecimiento de brotes. Se demostró que las mismas tasas de dosis de limoneno en una combinación de tratamiento con 3,75 ml de CIPC en la forma de Neonet son eficaces para inhibir la formación de brotes con la mitad de la cantidad de CIPC para obtener los mismos resultados o mejores que con el uso de CIPC solo.

En la Figura 4 se muestra el 4º nivel de las papas en la primera cabina. Esta cabina fue la control y no se aplicó agente activo luego del comenzar el almacenamiento. Inno NT significa papas de la variedad Innovator y no se trataron con ningún agente activo antes del almacenamiento. Bintje NT significa papas de la variedad Bintje y no se trataron con ningún agente activo antes del almacenamiento. Inno HYM significa las papas de la variedad Innovator que se trataron con Hymalaya, una formulación de hidrazida maleica a una tasa de dosis de 5 kg/hectárea. Bintje CIPC significa las papas de la variedad Bintje que se trataron con 30 ml/tonelada de CIPC antes de ingresarlas al almacenamiento.

En la Figura 5 se muestra el 4º nivel de las papas en la segunda cabina. A esta cabina se agregó CIPC en la formulación Neonet 500HN a una tasa de dosis de 7,5 ml/tonelada. Esto se repitió cada 3 semanas.

En la Figura 6 se muestra el 4º nivel de las papas en la tercera cabina. A esta cabina se agregó limoneno en una tasa inicial de dosis de 90 ml/tonelada, seguido de una tasa de dosis de 30 ml/tonelada. El limoneno se agregó a esta cabina cada 3 semanas.

En la Figura 7 se muestra el 4º nivel de las papas en la cuarta cabina. A esta cabina se agregó limoneno en una tasa inicial de dosis de 90 ml/tonelada, seguido de una tasa de dosis de 30 ml/tonelada. Cada aplicación de limoneno se combinó con una aplicación de CIPC en la formulación Neonet a una tasa de dosis de 3,75 ml/tonelada. El limoneno se agregó a esta cabina cada 3 semanas.

### Resultados – Brotes internos

En cada fecha de observación también se evaluaron los brotes: no se detectó presencia de brotes representativos en ninguno de los tratamientos.

### **Ejemplo 3**

Se realizó una comparación entre un tratamiento con aceite de menta y un tratamiento con aceite de naranja. El tratamiento con aceite de menta se hizo con Biox M, un producto formulado para electronebulización basado en principio en carvona (65–85%). El aceite de naranja se hizo con BIO 024, un aceite de naranja con contenido elevado de limoneno (a menos 900 g de limoneno/l). Un grupo de

tratamiento se hizo mediante nebulización en frío (grupo A), otro grupo se hizo mediante termonebulización, en especial por electronebulización. También se incluyó un lote sin tratamiento. Las condiciones de tratamiento (temperatura de almacenamiento, ventilación, humedad, variedades usadas, carga/descarga/distribución) fueron de las mismas. Las papas se cosecharon el 23 de septiembre de 2014 y se cargaron en las cámaras experimentales el 30 de septiembre de 2014. Las papas se secaron y se enfriaron hasta 7 °C. La primera aplicación se llevó a cabo el 21 de octubre de 2014.

Los resultados se resumieron en la **Figura 7**, para distintos períodos de almacenamiento (Figura 7A: 5 meses después del almacenamiento, Figura 7B: 6 meses después del almacenamiento, Figura 7C: 7 meses después del almacenamiento) Se proveyeron nueve tratamientos con aceite de naranja entre 675 y 1350 ml de producto formulado por tonelada (9x75 ml hasta 9x150 ml de producto formulado). Para Biox-M una primera aplicación de 90 ml se siguió con 9 aplicaciones de 30 ml para un total de 310 ml/tonelada.

Se puede concluir a partir de los resultados que el tratamiento con aceite de naranja proporcionó el mejor control de crecimiento de brotes. El aceite de naranja actúa por contacto directo. Es necesaria una buena nebulización sobre la superficie de la papa para brindar control homogéneo. De las figuras se puede inferir que esto se logra mejor mediante termonebulización que con nebulización en frío; la termonebulización produce gotas más pequeñas y, por ende, una distribución mejor del producto. Hubo una respuesta clara de relación de dosis entre 75 ml y 100 ml, pero no entre 100 ml en comparación con 150 ml. Una dosis de 100 ml de producto formulado por tonelada de papas a intervalos de 3 semanas proporcionó el mejor control. Se cree que la eficacia se basa en un efecto curativo.

En conclusión, se demostró que el tratamiento con aceite de naranja/limoneno proporcionó control de brotes adecuado, incluso en la ausencia de tratamientos químicos previos tales como hidrazida maleica o CIPC durante un período prolongado de tiempo. Proporcionó mejor control de brotes en comparación con Biox-M basado en aceite de menta. Además, no deja sabor a menta en las papas procesadas para la producción de papas fritas.

#### Ejemplo 4

Se realizó una evaluación de varios momentos de aplicación mediante termonebulización de Bio024 (940 g/l de aceite de naranja) en las variedades de papas Bintje, Charlotte y Nicola. Los resultados se resumen en la **Figura 8**.

Como referencias se incluyó un lote sin tratamiento así como también tratamientos con CIPC 500 HN (500 g/l de cloroprofam). Los tratamientos tienen la misma dosis total de sustancia activa. La tasa de dosis por aplicación se adapta de acuerdo a la frecuencia de la aplicación usada. Se hicieron cuatro réplicas. La temperatura del aire por unidad fue 8,3–10,4 °C, el % de humedad relativa fue del 90% al comienzo del estudio y del 99% durante el estudio.

En un primer estudio se usó un cronograma de tratamiento basado sólo en CIPC. Se aplicaron doce gramos de ingrediente activo el 5 de noviembre de 2014, seguido de 8 g de ingrediente activo aplicado el 31 de diciembre de 2014, 8 g de ingrediente activo aplicado el 25 de febrero de 2015 y 8 g de ingrediente activo el 22 de abril de 2015. En total se aplicó la cantidad máxima de 36 g por tonelada de papa por año mediante los 4 tratamientos.

En un segundo ensayo se aplicaron 24 ml de producto formulado CIPC en el almacenamiento, lo que corresponde a 12 g de ingrediente activo. Nueve semanas después del almacenamiento se aplicaron 100 ml de BIO 024, lo que corresponde a 90 g de limoneno. Esto se siguió con tratamientos con 100 ml de BIO 024 cada 3 semanas. Esto corresponde a un total de 6 tratamientos. En un tercer ensayo se aplicaron 24 ml de producto formulado CIPC en el almacenamiento. Se aplicaron 100 ml de BIO 024 3 semanas después del almacenamiento, seguido por tratamientos con 100 ml de BIO 024 cada 3 semanas. Esto corresponde a un total de 8 tratamientos.

En un cuarto ensayo se aplicaron 166 ml de BIO 024 cada 5 semanas, en un total de 6 tratamientos. En un quinto ensayo se aplicaron 133 ml de BIO 024 cada 4 semanas, en un total de 7 tratamientos. En un sexto ensayo se aplicaron 100 ml de BIO 024 cada 3 semanas, en un total de 9 tratamientos. En un séptimo ensayo se aplicaron 66 ml cada 2 semanas, en un total de 14 tratamientos. En un octavo ensayo se aplicaron 33 ml de BIO 024 cada semana, en un total de 27 tratamientos. En un noveno ensayo no se aplicó tratamiento alguno.

A partir de los resultados se puede observar que el régimen de dosificación de 100 ml de BIO 024, o 90 g de limoneno, cada 3 semanas proporciona el mejor control de brotes cuando se usa el producto solo. El uso de la misma cantidad de ingrediente activo mediante dosis menores y mayor frecuencia de aplicación (por ejemplo, 33 ml de BIO 024 cada semana) o mediante una dosis única mayor o una mayor frecuencia de aplicación (por ejemplo, 133 ml de BIO 024 cada 4 semanas) disminuyó la eficacia del producto usado solo.

Una combinación de CIPC a dosis reducida (12 g de ingrediente activo) con aceite de naranja (ingrediente activo limoneno) en tratamientos de 100 ml proporcionó control similar en comparación con el cronograma de aplicación de CIPC que se usa en la actualidad (12 g de dosis seguida de tres aplicaciones de 8 g, lo que significa una cantidad total de 36 g de ingrediente activo por tonelada de papas). Debido a su volatilidad y a la ausencia de efecto sistémico, el limoneno no contribuye a descubrimientos de residuos. Con este cronograma, la cantidad de CIPC se puede reducir mientras se mantiene la eficacia del control de brotes. Con el uso de CIPC en el almacenamiento, la duración entre la aplicación de CIPC y el traslado de las papas del almacenamiento es lo suficientemente prolongada para la reducción del residuo de CIPC a niveles que son aceptables incluso para el segmento del mercado de productos frescos.