



TRIANA, URIBE & MICHELSEN

MINISTERIO DE COMERCIO INDUSTRIA Y TURISMO
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E.

S.

D.

EXPEDIENTE No. : NC2021/0004221
TITULO : NANOEMULSIÓN ANTIMICROBIANA
SOLICITANTE : LABORATOIRE M2

FERNANDO TRIANA SOTO, mayor y vecino de esta ciudad, identificado como aparece al pie de mi firma en mi calidad de apoderado de la sociedad **LABORATOIRE M2** constituida de acuerdo con las leyes de Canadá, con domicilio en 4005-A, rue de la Garlock Sherbrooke, Quebec J1L 1W9, Canadá, por medio del presente escrito respondo el oficio No. 9382, de acuerdo con las siguientes consideraciones:

1. SOBRE LA SOLICITUD

- 1.1 En relación con el capítulo reivindicatorio, la Oficina define que las reivindicaciones 31 a 33 y 39 no se consideran patentables, teniendo en cuenta que reclaman un uso de la formulación desinfectante o la forma de usar la formulación, lo cual se considera materia no patentable.

Adicionalmente, esa Oficina señala que pese a que las reivindicaciones 40 a 51 mencionan en su preámbulo un método, este se caracteriza por la etapa de aplicar la formulación a..., o poner en contacto la semilla o planta con un cantidad... de la formulación, lo cual realmente hace referencia a como se debe usar el producto, y también se considera materia no patentable.

Al respecto, debe señalarse que simultáneo con esta respuesta se presentó un nuevo capítulo reivindicatorio, en virtud del cual, se han eliminado las reivindicaciones 31 a 51, razón por la cual, se solicita respetuosamente retirar esta objeción.

- 1.2 Esa oficina expresa que el capítulo reivindicatorio no es claro, ya que los supuestos elementos esenciales de la invención no están incluidos en las reivindicaciones principales. Sin embargo, el Examinador no especifica cuáles considera que son esos “elementos esenciales”. Este rechazo ha sido considerado y el Solicitante señala respetuosamente que, sin comentarios específicos sobre lo que el Examinador consideraría un elemento esencial, la objeción no está del todo clara. Sea como fuere, únicamente para avanzar en el trámite y asegurar la aprobación de la presente solicitud, las reivindicaciones se han modificado para abordar las objeciones sobre novedad y altura inventiva señalados en el informe de examen. Estas enmiendas se



analizan a continuación y el Solicitante respetuosamente considera que abordan el rechazo instantáneo de la claridad.

- 1.3 El Examinador rechaza las reclamaciones 1 y 12 por considerarlas poco claras. El Examinador opina que existe una superposición entre los términos "disolvente" y "agua", ya que el agua es un disolvente.

Este rechazo ha sido analizado y se solicita respetuosamente una reconsideración por parte del Examinador por los siguientes motivos. El solicitante entiende que el agua también puede considerarse un disolvente, pero respetuosamente no está de acuerdo con que la redacción de la reivindicación resulte en falta de claridad. La composición reivindicada debe contener una cantidad de ingredientes de hasta el 100 % p/p, y las composiciones reivindicadas encuentran utilidad dentro de los rangos reivindicados para cualquier ingrediente, incluidos los disolventes y el agua.

El solicitante sostiene que dado que la composición está limitada al 100 % p/p, la reivindicación expresa claramente que se agregaría agua a la composición para alcanzar el 100 % p/p necesario, incluso si el agua fuera el primer solvente. Por tanto, la reclamación se considera clara.

- 1.4 El Examinador objeta el uso de la expresión "al menos" que se encuentra en las reivindicaciones 12, 13, 14, 22, 23. Este rechazo ha sido considerado y las reivindicaciones 12, 13, 14, 22, 23 (ahora reivindicaciones 6-8, y 16-17) se han modificado para eliminar la expresión "al menos".
- 1.5 El Examinador rechaza las reclamaciones 1, 9, 21, 25, 26 y 28 por el uso del término "aproximadamente", que supuestamente es impreciso. Se ha considerado este rechazo y se han modificado las reivindicaciones 1, 9, 21, 25, 26 y 28 (ahora reivindicaciones 1, 3, 15, 19-20 y 22) para eliminar el término "aproximadamente".
- 1.6 El Examinador rechaza las reivindicaciones 27 y 30 porque supuestamente comprenden una renuncia a un elemento que la formulación no contiene, en lugar de recitar positivamente lo que contiene. Este rechazo ha sido analizado y se solicita respetuosamente una reconsideración por parte del Examinador por los siguientes motivos.

Las reivindicaciones 27 y 30 (ahora reivindicaciones 21 y 24) se han modificado para recitar positivamente que la composición "está libre de" tensioactivo adicional (reivindicación 21) o desinfectante, pesticida o sanitizantes adicionales (reivindicación 24).



1.7 Con respecto al comentario del Examinador respecto de las reclamaciones 29 y 34, el Solicitante expresa que la reclamación 34 ha sido eliminada. La reivindicación 29 (ahora reivindicación 23) depende de las reivindicaciones 1 a 20 y 22, que no incluyen la reivindicación 21 modificada. Por lo tanto, la reivindicación 23 es clara.

1.8 Luego, el señor Examinador objeta las reivindicaciones en general, por no ser concisas y no estar plenamente respaldadas por la descripción tal como se presentó originalmente. El examinador revisó la especificación y amablemente enumeró lo que le parece respaldado por la descripción tal como se presentó originalmente.

Estos dos rechazos han sido considerados y el Solicitante dirige respetuosamente al Examinador a las reivindicaciones enmendadas adjuntas, y también a la sección siguiente relativa a los rechazos de novedad y altura inventiva. En aras de la brevedad y para evitar redundancias en la presente respuesta, las modificaciones a las reivindicaciones se analizan detalladamente en el contexto de superar cualquier rechazo por novedad y altura inventiva.

1.9 En consecuencia, se presenta un nuevo pliego de reivindicaciones corregido conforme con los requerimientos arriba señalados. Es de aclarar que el nuevo pliego de cláusulas no pretende ampliar la materia inicialmente presentada, sino que sólo hacen referencia a las observaciones del examinador.

1.10 Por otro lado, el señor examinador afirma que la descripción no respalda la invención tal como se reivindicó originalmente. El examinador amablemente enumeró lo que le parece respaldado por la descripción tal como se presentó originalmente.

Esto se ha analizado y, como se indicó anteriormente, sin compartir los comentarios del Examinador y únicamente con el fin de acelerar el trámite de la presente solicitud, las reivindicaciones se han modificado para restringirlas como se detallará al abordar los rechazos de novedad y actividad inventiva que se desarrollan más adelante.

1.11 El examinador también objeta en la descripción el uso del término registrado "*Glucopon 420 UP*" en la tabla 5. Esto ha sido considerado y con el fin de aclarar el requerimiento se ha modificado el pliego descriptivo con el detergente "*Lauril glucósido*" como reemplazo. Por favor tenga en cuenta el anexo de la Ficha Técnica adjunta del fabricante BASF donde se incluye el número CAS 110615-47-9.



- 1.12 Con respecto a la objeción del Examinador sobre el uso de los términos "acre" y "galón", se presenta un nuevo pliego descriptivo donde se ha modificado "acre" por la conversión a "m²" y "galón" por la conversión a "L".

2. ESTADO DE LA TECNICA

- 2.1 El señor examinador, procede a realizar el examen del estado de la técnica, conforme con los siguientes documentos:

Ítem	Documento	Título	Fecha de publicación
D1	EP2721933	"Emulsion"	23 de abril de 2017
D2	US20100303940	"Synergistic pest-control compositions"	2 de diciembre de 2010
D3	Kumari S. et al. <i>Scientific Reports</i>	"Thymol nanoemulsion exhibits potential antibacterial activity against bacterial pustule disease and growth promotory effect on soybean"	Abril de 2018

- 2.2 Con base en dicho arte anterior, el examinador concluye que las reivindicaciones no comprenden novedad y actividad inventiva donde:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	EP2721933	1 a 4, 9 y 12	Novedad
D2	US20100303940	5 a 8, 10, 11, 13 a 30 y 34 a 38	Nivel inventivo
D3	Kumari S. et al. <i>Scientific Reports</i>	5 a 8, 10, 11, 13 a 30 y 34 a 38	Nivel inventivo

La Solicitante, respetuosamente no está de acuerdo con dichas objeciones de patentabilidad.

- 2.3 Respecto a la novedad, se rechazan las reclamaciones 1 a 4, 9 y 12 como supuestamente anticipadas por D1. Este rechazo ha sido analizado y se solicita respetuosamente una reconsideración por parte del Examinador por los siguientes motivos.
- 2.4 D1 divulga una composición que comprende aceite de girasol con 4,3% de betacaroteno, solvente, sorbato, 2,50% de materia seca de Quillaja saponina y agua.



La reivindicación 1 se ha modificado para enumerar una formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa que comprende del 0,05 % al 55 % en peso de un aceite esencial, o un ingrediente activo del mismo, en la que dicho aceite esencial es aceite de tomillo o aceite de romero. El respaldo para "desinfectante" se puede encontrar en la reivindicación original 31. El respaldo para "*aceite esencial, o un ingrediente activo del mismo, en donde dicho aceite esencial es aceite de tomillo o aceite de romero*" se puede encontrar en las reivindicaciones originales 2, 5 y 6, que han sido canceladas y sustituidas. El Solicitante sostiene respetuosamente que D1 no enseña ni sugiere una nanoemulsión acuosa que comprenda el aceite esencial mencionado o su ingrediente activo, donde el aceite esencial es aceite de tomillo o aceite de romero. Por lo tanto, D1 no anticipa la presente invención tal como se reivindica actualmente.

En vista de la enmienda anterior, se solicita respetuosamente la reconsideración por parte del Examinador y el retiro de este rechazo.

- 2.5 Respecto a la actividad inventiva, el examinador rechaza las reivindicaciones 5 a 8, 10, 11, 13 a 30 y 34 a 38 por falta de inventiva sobre la combinación de D2 y D3. El Examinador opina que D2 representa el estado de la técnica más cercano. El examinador afirma que si bien D2 no muestra una saponina, sino más bien un tensioactivo sintético, el problema objetivo a resolver es el de modificar la formulación de D2 para proporcionar una formulación alternativa. El Examinador cita el documento D3 por su enseñanza de la *saponina de Quillaja*, como reemplazo del tensioactivo sintético.

El Examinador concluye el rechazo afirmando que sería obvio sustituir el tensioactivo de D2 por la saponina de D3.

Este rechazo ha sido analizado y se solicita respetuosamente una reconsideración por parte del Examinador por los siguientes motivos. El Solicitante no está de acuerdo con el Examinador. Las reivindicaciones han sido modificadas como se detalla anteriormente para el rechazo por novedad.

- 2.6 D2 divulga una composición para el control de plagas. El examinador cita en particular el párrafo [0111] de D2 que enseña una supuesta composición "sinérgica" que comprende aceite de tomillo blanco y aceite de gaulteria como aceites. Supuestamente contiene miristato de isopropilo como disolvente y sorbato de potasio como sorbato. Muestra un sistema tensioactivo que comprende varios compuestos emulsionantes, tales como 4-oleato de poliglicerol, goma xantana y lecitina. Por último, contiene agua hasta un 100% en peso.



D2 no enseña ni sugiere una saponina. Por lo tanto, todas las emulsiones formadas a partir de las enseñanzas de D2 dependen de un sistema tensioactivo que incluye un tensioactivo sintético y otros compuestos tensioactivos. No se enseña que las emulsiones formadas sean nanoemulsiones como se reivindica.

- 2.7 D3 describe una nanoemulsión hecha de timol y *saponina de Quillaja* que se mezclaron en una proporción de 6:1 (p/v) en agua desionizada, y la nanoemulsión se obtuvo mediante sonicación de la mezcla. D3 no enseña el uso de un sorbato o un disolvente.
- 2.8 La característica distintiva entre la reivindicación 1 y las formulaciones descritas en D2 es la sustitución de todo el sistema tensioactivo de poliglicerol-4-oleato, goma xantana y lecitina con saponina (o desde el punto de vista de la presente invención, con una combinación de sorbato y saponina). Es decir, la característica distintiva también puede verse como la falta de tensioactivos sintéticos adicionales u otros tensioactivos naturales para formar las nanoemulsiones. De hecho, aunque D2 muestra un tensioactivo sintético de poliglicerol-4-oleato, el sistema tensioactivo se complementa con otros componentes que tienen propiedades emulsionantes. No se enseña que la emulsión de D2 sean nanoemulsiones.
- 2.9 Respecto al problema técnico objetivo a resolver (es decir, el efecto de las características distintivas) sostiene respetuosamente que el problema técnico objetivo a resolver puede ser el suministro de una composición desinfectante/pesticida que formaría nanoemulsiones sin la necesidad de utilizar tensioactivos sintéticos adicionales. Este problema y su solución se prevén, por ejemplo, en los párrafos [0003] y [0004] de la especificación tal como se presentó originalmente. La solución a este problema no es obvia para el experto en la materia en vista de D2, cuando se combina con D3.
- 2.10 D2 no aprecia que se pueden formar nanoemulsiones con aceites esenciales de timol (o romero) cuando se combinan con las proporciones declaradas de saponina y sorbato, sin el uso de tensioactivos sintéticos. De hecho, D2 utiliza un complejo sistema tensioactivo que comprende no menos de 3 componentes tensioactivos para lograr la emulsificación. Sin embargo, el Solicitante reitera el nivel inventivo de la presente invención con respecto a las enseñanzas de estos documentos por las siguientes razones.
- 2.11 Para D2 en combinación con D3, D2 enseña sin ambigüedades que los tensioactivos sintéticos son necesarios para obtener una emulsión, como un tensioactivo sintético, y en ella se utilizan otros dos tensioactivos naturales para llegar a sus productos. Por



lo tanto, claramente D2 no sugiere al experto en la técnica la sustitución de los tensioactivos sintéticos por una combinación de saponina y sorbato. D2 menciona el uso de sorbato de potasio. Sin embargo, nada en D2 sugiere al experto que una saponina por sí sola cuando se combina con un sorbato, pero sin tensioactivos sintéticos adicionales, tendría la utilidad identificada en la presente solicitud.

- 2.12 Por lo tanto, la pregunta adecuada que debe plantearse es si las enseñanzas de D2 combinadas con las de D3 enseñan o sugieren el uso de una combinación de saponina y sorbato como sistema de emulsificación en sustitución del tensioactivo sintético (poliglicerol-4-oleato) o incluso de todo el complejo. Sistema tensioactivo de poliglicerol-4-oleato, goma xantana y lecitina. La respuesta parece ser todo lo contrario, ya que D2 enseña la necesidad de usar tensioactivos sintéticos en un sistema tensioactivo complejo para generar las emulsiones descritas. La presente invención según la reivindicación 1 no comprende tales tensioactivos sintéticos.

Para decirlo de otra manera, para llegar a la nanoemulsión como se reivindica actualmente en la reivindicación 1, el experto en la técnica que considere las enseñanzas de D2 tendría que evitar el uso del tensioactivo sintético enseñado por D2.

- 2.13 Además, aunque D3 enseña que la *saponina de Quillaja* parece ser útil para la formación de una emulsión con aceite de tomillo, no describe una formulación que también comprenda un disolvente diferente al agua y el sorbato. Por lo tanto, sería incierto para el experto en la técnica que la simple sustitución del sistema tensioactivo de D2 con la saponina descrita en D3 daría como resultado la emulsión deseada, ya que en la formulación de D2 están presentes ingredientes adicionales que podrían tener efectos perjudiciales de una emulsión preparada sólo con saponina como emulsionante.

El solicitante sostiene que las modificaciones propuestas al estado de la técnica citado son una visión retrospectiva y serían inadecuadas.

De hecho, requeriría que el experto en la técnica eliminara los tensioactivos sintéticos descritos en D2. Dado que los tensioactivos sintéticos son inequívocamente críticos para el sistema tensioactivo descrito y para la función prevista enseñada por la técnica anterior D2, la eliminación de estos frustraría el propósito de las emulsiones discutidas en el mismo, ya que no tendrían los ingredientes necesarios para la formación de emulsiones según lo previsto. De hecho, evitar tensioactivos sintéticos en las emulsiones de D2 daría como resultado



el fracaso total en la formación de una emulsión, lo que cambiaría el principio de funcionamiento de las invenciones de la técnica anterior que se están modificando.

Como tal, el Solicitante sostiene respetuosamente que una persona con conocimientos habituales en la técnica no consideraría aplicar las enseñanzas de estos documentos, solas o en combinación, ya que hacerlo frustraría el principio de funcionamiento de D2, mediante la eliminación del sistema tensioactivo.

- 2.14 La presente invención cumple con el requisito de nivel inventivo con respecto al estado de la técnica citado. El Examinador concluye el rechazo afirmando que sería obvio sustituir el tensioactivo de D2 por la saponina de D3. El Solicitante respetuosamente no está de acuerdo y sostiene que incluso si el experto en la técnica considerara las enseñanzas de D2 y D3 tal como se analizan en el Examen, la presente invención tal como se reivindica proporciona un efecto técnico inesperado sobre las enseñanzas de los documentos de la técnica anterior citados D2 y D3.
- 2.15 A continuación se muestra una explicación de los resultados presentados en el ejemplo 5 y cómo muestran el comportamiento sinérgico inesperado de la formulación de la presente invención. También se proporcionan más detalles sobre el ejemplo 6. En el ejemplo 5, se prepararon varias formulaciones según la presente invención que no comprendían tensioactivos sintéticos y se compararon con una formulación de control positivo que comprendía tensioactivos sintéticos.
- 2.16 La formulación de control se denomina D25b130 y comprende 23 % p/p de cristal de timol, 14 % p/p de isopropanol, 48 % p/p del tensioactivo sintético lauril sulfato de sodio (SLS), 1,4 % p/p de ácido cítrico, 13,6 % p/p de /w H₂O (ver el párrafo [00175] de la especificación presentada originalmente). El experto en la técnica consideraría que las cantidades de timol puro y tensioactivos son altas y esperaría que esta formulación de control positivo fuera un antimicrobiano eficaz.
- 2.17 Las formulaciones probadas se describen en la Tabla 9 de la presente solicitud. Todos incluyen 40% p/p de aceite de tomillo como aceite esencial probado, glicerol, isopropanol y lactato de butilo como disolventes, ácido cítrico y agua. El sorbato utilizado es sorbato de potasio y está ausente o presente en un 10 o 15 % p/p de la formulación. Como saponina se utiliza un extracto de *saponina de Quillaja* al 3% p/p, y está ausente o presente como un 10% p/p de la formulación. También se prueban formulaciones que comprenden oleato como control alternativo al sorbato de potasio.



- 2.18 Ahora haciendo referencia a la Fig. 8 y a los párrafos [00174] y [00175] de la especificación. Como se explica en el párrafo [00174], los resultados se expresan en una escala logarítmica (base 10) como una reducción en el número de colonias en comparación con un control positivo con efectos bactericidas conocidos. 1 log representa una diferencia de 10 veces en la eficacia antibacteriana, y los valores logarítmicos que se analizan a continuación se leen en la Fig. 8.
- 2.19 La formulación de control positivo D25b130 que comprende un tensioactivo sintético conocido proporciona una eficacia antibacteriana de aproximadamente 2 log. Las formulaciones probadas que comprendían sólo sorbato o sólo saponina tuvieron un rendimiento peor que el control D25b130: la formulación que comprendía sólo sorbato [F (10S+0Q)] tuvo un rendimiento aproximadamente 0,31 log peor que el control D25b130 (es decir, aproximadamente 2 veces peor), y las formulaciones que comprendían sólo la *saponina de Quillaja* [F (0S+10Q), F (28O+10Q) y F (35Q+10Q)] tuvo un peor desempeño que el control D25b130: 0,22, 0,28 y 0,38 log (aproximadamente 1,7x, 1,9 o 2,4x), respectivamente. Las formulaciones que comprenden tanto sorbato como *saponina de Quillaja* [(10S+10Q) y (15S+10Q)] mostraron una eficacia antibacteriana mejorada con respecto a la formulación de control: aproximadamente 0,41 y 0,5 log (aproximadamente 2,6 y 3,2 veces) más eficientes, respectivamente.
- Sin embargo, una primera observación inesperada sobre los resultados presentados en la figura 8 no es tanto la mejora de la eficacia antimicrobiana. Más bien, es que las formulaciones de la presente invención pueden lograr esta eficacia antibacteriana mejorada completamente sin tensioactivos sintéticos.
- 2.20 Una segunda observación inesperada es la sinergia entre los componentes sorbato y saponina. En comparación con la formulación que comprende sorbato solo, las formulaciones que comprenden tanto sorbato como *saponina de Quillaja* tuvieron un rendimiento aproximadamente 0,69 y 0,78 log (aproximadamente 4,9x y 6x) mejor, respectivamente. En comparación con la formulación que comprende *saponina de Quillaja* sola, las formulaciones que comprenden tanto sorbato como *saponina de Quillaja* obtuvieron aproximadamente 0,60 y 0,69 log (aproximadamente 4x y 4,9x) mejor, respectivamente. La sustitución de sorbato por oleato produjo resultados similares a favor de la composición de la presente invención: 0,66, 0,75, 0,76 y 0,85 log (aproximadamente 4,6x, 5,6x, 5,8x y 7,1x) mejores, respectivamente, ya que las composiciones que contienen oleato tuvieron el peor desempeño en el experimento.



- 2.21 Estos resultados demuestran claramente un efecto sinérgico y no un efecto estrictamente aditivo de las combinaciones de sorbato y saponina, y son completamente inesperados en vista de las enseñanzas del documento de la técnica anterior citado.
- 2.22 Este comportamiento sinérgico se explora más a fondo en el ejemplo 6, donde se variaron las concentraciones de saponina y sorbato en varias formulaciones. Las formulaciones se presentan en la Tabla 10, y las formulaciones FS4 y FS11 representan formulaciones que no comprenden sorbato ni saponina, respectivamente, y sirven como puntos de datos de referencia para la normalización de los resultados. Las formulaciones se probaron como concentrados, diluciones 1:256 y 1:512, respectivamente. Los resultados se presentan en las Tablas 11, 12 y 13, así como en las Figs. 9, 10 y 11. Los resultados del ejemplo 6 confirman el comportamiento sinérgico de las composiciones que comprenden la combinación de sorbato y saponina en un amplio rango de concentraciones, incluso cuando las formulaciones estaban altamente diluidas. Por ejemplo, la formulación FS1 en forma sin diluir muestra una actividad 20 y 32 veces mayor que las formulaciones de control FS4 y FS11, respectivamente. Como se describe en el párrafo [00178], sorprendentemente, todas las formulaciones concentradas mostraron una fuerte sinergia entre el sorbato de potasio y el extracto de *Quillaja*, al igual que todas las formulaciones diluidas a 1/256. La mayoría de las formulaciones diluidas a 1/512 también mostraron un comportamiento sinérgico.
- 2.23 El Ejemplo 4 proporciona evidencia de que el aceite de romero formulado con los mismos componentes discutidos anteriormente, según la presente invención, proporciona una actividad acaricida mejorada sobre el control positivo. El Solicitante sostiene respetuosamente que incluso si el experto en la técnica estuviera motivado para reemplazar todo el sistema tensioactivo descrito en D2 solo con la saponina divulgada en D3, se habría sorprendido al descubrir que la combinación de saponina y sorbato representa una mejora. Eficacia antibacteriana completamente sin tensioactivos sintéticos, y que estos dos componentes muestran una sinergia inesperada en un amplio rango de concentraciones.
- 2.24 En vista de las consideraciones anteriores, el Solicitante presenta respetuosamente que la reivindicación 1 y las reivindicaciones dependientes implican una actividad inventiva sobre las enseñanzas combinadas de D2 y D3. Por lo tanto, se solicita respetuosamente la reconsideración por parte del Examinador y el retiro del rechazo de las reclamaciones.



- 2.25 Por tanto, ni D1, D2 ni D3 enseñan o sugieren solas o en combinación estas características reivindicadas. En conclusión, se ha probado que estos documentos no son perjudiciales respecto al requisito de NOVEDAD, y NIVEL INVENTIVO de la invención, ni contradice cualquier disposición legal o reglamentaria. En consecuencia, a la luz de todo lo anterior, me permito solicitar a ese despacho, esta solicitud sea concedida bajo el tenor de las nuevas reivindicaciones, conforme el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Sin embargo, incluso si el examinador lo considera insuficiente en conjunto con las nuevas reivindicaciones que aquí se presenta, la solicitante ruega respetuosamente que se le ofrezca una nueva oportunidad, a través un nuevo Oficio para expresarse sobre cualquier tema en controversia.

3. ANEXOS

- 3.1. Nuevo capítulo descriptivo y reivindicatorio, que se presentó simultáneamente con esta respuesta, pagando la tasa de modificación establecida.
- 3.2. Ficha técnica de "*Glucopon 420 UP*" por parte del fabricante BASF donde se incluye el número CAS 110615-47-9.

4. PETICIÓN

Teniendo en cuenta las anteriores aclaraciones y a la modificación realizada al capítulo reivindicatorio, solicito continuar con el trámite de rigor.

De la Señora Directora,


FERNANDO TRIANA SOTO

C.C. No. 79.154.036

T.P.A. 45.265 del C.S. de la J.

NANOEMULSIÓN ANTIMICROBIANA**REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS**

5 La presente solicitud reivindica prioridad de la
Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos Núm.
62/825,927, presentada el 29 de marzo de 2019, cuya
especificación se incorpora a la presente como referencia en su
totalidad.

10

ANTECEDENTES

(a) Campo

15 El tema descrito generalmente se refiere a formulaciones
de nanoemulsión antimicrobianas y antifúngicas naturales y usos
de las mismas. Más específicamente, el tema descrito se refiere
a formulaciones de pesticidas y desinfectantes que comprenden
aceite de tomillo, disolvente, sorbato, saponinas y agua.

20

(b) Técnica anterior relacionada

La mayoría de los desinfectantes de plantas o pesticidas
son potencialmente dañinos o tóxicos para los seres humanos,
25 los animales y las plantas. Los desinfectantes, pesticidas o

antimicrobianos modernos a menudo contienen un compuesto fenólico orgánico como ingrediente desinfectante activo. Otros ingredientes suelen ser altas concentraciones de un disolvente y un tensioactivo. Cuando se usa en concentraciones más altas, la presencia de un disolvente y tensioactivo particular puede aumentar sinérgicamente los efectos secundarios negativos de los tensioactivos y, en consecuencia, los efectos secundarios negativos y potencialmente la toxicidad del desinfectante en sí.

10

La presente invención minimiza el riesgo de toxicidad de los desinfectantes de plantas, pesticidas o antimicrobianos para humanos y plantas mediante el uso de aceite de tomillo y proporciona alternativas óptimas a los agentes antimicrobianos y antifúngicos altamente sintéticos y tóxicos que se utilizan en la industria agrícola. Los agentes tradicionales tienen aspectos desfavorables, como la necesidad de protección de los trabajadores, las limitaciones en la cantidad de uso y eficacia, así como la contaminación del medio ambiente, provocando importantes costos y problemas de reparación. Ciertos tensioactivos sintéticos contribuyen a estos problemas. Por lo tanto, existe la necesidad de agentes emulsionantes alternativos en un sistema de nanoemulsión de aceites naturales o aceites esenciales que no nieguen también la naturaleza y las ventajas de los otros constituyentes naturales.

25

La presente invención también proporciona varias otras ventajas en comparación con las alternativas actualmente disponibles.

5

Si bien el uso de aceites esenciales (EO) como antimicrobianos/antifúngicos es bien conocido, el costo del EO para su uso en la agricultura industrial hace que su costo sea prohibitivo. La presente invención proporciona una solución
10 natural y rentable a los costos inherentemente altos de los EO mediante el uso de sorbato, un ingrediente generalmente reconocido como seguro (GRAS), que es relativamente económico y amplifica la eficacia de las propiedades antimicrobianas del timol, mediante la formación de micelas más pequeñas en las
15 nanoemulsiones. El efecto neto es un antimicrobiano extremadamente poderoso, que puede depender de relativamente poco EO.

La invención produce un tamaño de nanoemulsión que es
20 relativamente impermeable a la sedimentación gravitacional o la formación de crema. Esto significa que no es necesario mezclar, agitar o manipular in situ la invención incluso después de la dilución.

Por último, las pérdidas atribuibles a enfermedades son el detrimento más importante de la productividad agrícola. La eficacia para reducir las pérdidas de cultivos mediante el control de enfermedades es esencial para la industria agrícola.

5 El uso de sorbato, como el sorbato de potasio en el sistema, produce una sinergia en cuanto a efecto antimicrobiano. Se sabe que el sorbato de potasio, en sí mismo, es un antimicrobiano eficaz. A menudo se lo conoce como un interruptor de la membrana celular, que se cree que es el mecanismo de acción, debido a su capacidad para debilitar las membranas celulares de los patógenos. De manera similar, el timol posee propiedades antimicrobianas que tienen el mismo mecanismo de acción sobre la membrana celular. Juntos, el sorbato de potasio debilita la membrana celular y mejora la capacidad del timol para dividir los componentes lipídicos de la membrana y producir más rápidamente fugas citoplásmicas y muerte celular patógena. Esto produce una tasa mucho más alta de destrucción de patógenos, lo que, a su vez, reduce las enfermedades y aumenta el rendimiento de los cultivos.

20

SÍNTESIS

Según una realización, se proporciona una formulación de nanoemulsión acuosa que comprende:

25

a) de aproximadamente un 0.05% a aproximadamente un 55% en peso de un aceite;

5 b) de aproximadamente un 0.04% a aproximadamente un 65% en peso de un disolvente;

c) de aproximadamente un 0.01% a aproximadamente un 25% de un sorbato;

10 d) de aproximadamente 0.00025% a aproximadamente 0.37% en peso de una saponina, en una cantidad suficiente para formar una nanoemulsión del aceite en agua;

e) suficiente agua para hacer el 100 por ciento en peso.

15

El aceite puede ser un aceite esencial o un ingrediente activo del mismo.

20 El aceite esencial puede ser un aceite esencial antimicrobiano, un aceite esencial antibacteriano, un aceite esencial desinfectante, un aceite esencial pesticida o una combinación de los mismos.

25 El aceite esencial puede ser aceite de anís, aceite de limón, aceite de naranja, aceite de orégano, aceite de romero,

aceite de gaulteria, aceite de tomillo, aceite de lavanda,
 aceite de clavo, aceite de lúpulo, aceite de árbol de té,
 aceite de citronela, aceite de trigo, aceite de cebada, aceite
 de hierba de limón, aceite de hoja de cedro, aceite de madera
 5 de cedro, aceite de canela, aceite de hierba de pulgas, aceite
 de geranio, aceite de sándalo, aceite de violeta, aceite de
 arándano, aceite de eucalipto, aceite de verbena, aceite de
 menta, aceite de albahaca, aceite de hinojo, aceite de abeto,
 aceite de bálsamo, aceite de ocmea origanum, aceite de Hydastis
 10 carradensis, aceite de Berberidaceae daceae, aceite de
 ratanhiae, aceite de cúrcuma longa, aceite de sésamo, aceite de
 nuez de macadamia, aceite de onagra, aceite de cilantro, aceite
 de bayas de pimiento, aceite de rosa, aceite de bergamota,
 aceite de palo de rosa, aceite de manzanilla, aceite de salvia,
 15 aceite de esclarea, aceite de ciprés, aceite de hinojo marino,
 aceite de incienso, aceite de jengibre, aceite de toronja,
 aceite de jazmín, aceite de enebro, aceite de lima, aceite de
 mandarina, aceite de mejorana, aceite de mirra, aceite de
 neroli, aceite de pachuli, aceite de pimienta, aceite de
 20 pimienta negra, aceite de petitgrain, aceite de pino, aceite de
 rosa de Damasco, aceite de menta verde, aceite de nardo, aceite
 de vetiver, un aceite esencial de coníferas, ylang ylang o
 combinaciones de los mismos.

25 El aceite esencial puede ser aceite de tomillo.

El aceite esencial puede ser aceite de romero.

El ingrediente activo puede ser timol, carvacrol,
5 cinamaldehído, citral, mentol, geraniol, capsaicina, paracimeno
o combinaciones de los mismos.

El aceite puede ser aceite de neem, aceite de semilla de
algodón y una combinación de los mismos.

10

La formulación de nanoemulsión acuosa puede comprender
además de aproximadamente 0.0002% a aproximadamente 0.3% en
peso de un agente de ajuste del pH.

15 El aceite de tomillo puede ser de origen natural, de
origen sintético o una combinación de los mismos.

El aceite de romero puede ser de origen natural, de
origen sintético o una combinación de los mismos.

20

El disolvente puede ser al menos uno de los siguientes:
1,2-dicloroetano, 2-butanona, acetona, acetonitrilo, benceno,
tetracloruro de carbono, cloroformo, ciclohexano, hexano,
pentano, tetrahidrofurano, 1,1-dicloroetano, 1,2-dicloroetano,
25 1-butanol, 1-heptanol, 1-hexanol, 1-octanol, 1-pentanol, 1-

propanol, 2-aminoetanol, 2-butanol, 2-butanona, 2-pentanol, 2-pentanona, 2-propanol, 3-pentanol, 3-pentanona, ácido acético, acetona, acetonitrilo, acetil acetona, anilina, anisol, benceno, benzonitrilo, alcohol bencílico, acetato de butilo, 5 lactato de butilo, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono, clorobenceno, cloroformo, ciclohexanol, ciclohexanona, diclorometano, éter dietílico, dietilamina, dietilenglicol, diglima, éter diisopropílico, dimetoxietano, dimetilformamida, ftalato de dimetilo, sulfóxido de dimetilo, ftalato de di-n- 10 butilo, dioxano, etanol, éter, acetato de etilo, acetoacetato de etilo, benzoato de etilo, etilenglicol, glicerol, heptano, hexano, 1-butanol, isopropanol, metanol, acetato de metilo, metil-t-butil éter, cloruro de metileno, metil-t-butil éter, N,N-dimetilanilina, pentano, p-xileno, piridina, alcohol t- 15 butílico, tetrahidrofurano, tolueno, tricloroetileno, agua, agua pesada y xileno.

El disolvente puede ser al menos dos disolventes, al menos tres disolventes, al menos cuatro disolventes o al menos 20 cinco disolventes.

El disolvente puede ser al menos tres disolventes.

Los tres disolventes pueden comprender isopropanol, 25 glicerol y lactato de butilo.

El sorbato puede ser sorbato de potasio, sorbato de sodio, sorbato de calcio, ácido sórbico o combinaciones de los mismos.

5

El sorbato puede ser sorbato de potasio.

La saponina se puede proporcionar mediante un extracto vegetal.

10

El extracto vegetal puede ser un extracto de *Quillaja saponaria*, extracto de *Yucca schidigera*, extracto de castaño de indias, extracto de semilla de té, extracto de soja y combinaciones de los mismos.

15

El extracto vegetal puede ser un extracto de *Quillaja saponaria*.

La formulación de nanoemulsión acuosa comprende de
20 aproximadamente 0.0004 a aproximadamente 0.5% en peso del extracto de *Quillaja saponaria*.

El agente de ajuste del pH puede ser al menos ácido
cítrico, ácido láctico, ácido clorhídrico, ácido bórico, ácido
25 acético, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, ácido

sulfúrico, carbonato de calcio (CaCO_3), carbonato de amonio, bicarbonato de amonio, citrato de amonio, citrato de sodio, carbonato de magnesio, carbonato de sodio, fosfato mono, di y/o trisódico, fosfato mono, di y/o tripotásico, Tris(hidroximetil) aminometano (TRIS), aminoácidos y zwitteriones, como la

5 glicina, 2-amino-2metil-1,3-propanodiol (AMPD), Ácido N- (1,1-dimetil-2-hidroxietil)-3-amino-2-hidroxiopropanosulfónico (AMPSO), N-glicilglicina (Gly-Gly), ácido 4-(2-hidroxietil)piperazina-1-propanosulfónico (EPPS o HEPPS), Ácido

10 3- (ciclohexilamino) -1-propanosulfónico (CAPS), Ácido 3- (ciclohexilamino)-2-hidroxi-1-propanosulfónico (CAPSO), Ácido 2-(ciclohexilamino)etanosulfónico (CHES), ácido N,N-bis [2-hidroxietil]-2-aminoetanosulfónico (BES), (Ácido 2-[2-hidroxi-1,1-bis(hidroximetil)etilamino]etanosulfónico) (TES), ácido 2-

15 (N-morfolino)etanosulfónico (MES), N-[Tris(hidroximetil)metil]glicina (Tricina); Ácido N-tris(hidroximetil)metil-3-aminopropanosulfónico (TAPS) y ácido 3-N-morfolinopropanosulfónico (MOPS), ácido piperazina-N,N'-bis [2-hidroxiopropanosulfónico] (POPSO) y combinaciones de los

20 mismos.

El agente de ajuste del pH puede ser al menos ácido cítrico.

La formulación de nanoemulsión acuosa puede comprender además vitamina C.

La formulación de nanoemulsión acuosa puede comprender
5 de aproximadamente 0.002% a aproximadamente 5% en peso de vitamina C.

La formulación de nanoemulsión acuosa puede comprender:

10 a) de aproximadamente un 0.05% a aproximadamente un 55% en peso de aceite;

b) de aproximadamente un 0.005% a aproximadamente un 7.5% en peso de isopropanol;

15 c) de aproximadamente un 0.02% a aproximadamente un 30% en peso de glicerol;

d) de aproximadamente un 0.02% a aproximadamente un 27% en
20 peso de lactato de butilo;

e) de aproximadamente un 0.01% a aproximadamente un 25% de sorbato de potasio;

f) de aproximadamente 0.0004% a aproximadamente 0.5% en peso de extracto de *Quillaja saponaria*, en una cantidad suficiente para formar una nanoemulsión del aceite en agua;

5 g) de aproximadamente un 0.0002% a aproximadamente un 0.3% en peso de ácido cítrico;

h) suficiente agua para hacer el 100 por ciento en peso.

10 Según otra realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención no comprende tensioactivo adicional.

El pH puede oscilar entre aproximadamente 6 y
15 aproximadamente 9.

Según otra realización, la formulación de nanoemulsión acuosa puede comprender además un tensioactivo o un agente emulsionante adicional.

20

Según otra realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención no comprende desinfectantes, pesticidas o sanitizantes adicionales.

Según una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención es para su uso como formulación desinfectante.

5 Según una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención se utiliza como formulación pesticida para el control de una plaga.

Según una realización, la formulación de nanoemulsión
10 acuosa de la presente invención es para uso en la regulación del crecimiento de una semilla o una planta.

La formulación de nanoemulsión acuosa puede comprender además otro pesticida, un fertilizante, un antiespumante, un
15 regulador del crecimiento de las plantas o combinaciones de los mismos.

El pesticida adicional puede elegirse entre un alguicida, un agente antiincrustante, un desinfectante, un
20 fungicida, un fumigante, un herbicida, un molusquicida, un ovicida, un raticida, un inhibidor del crecimiento de insectos, un bactericida, un virucida, un repelente de insectos, un repelente de artrópodos, nematocida, insecticida, acaricida, herbicida y regulador del crecimiento de las plantas.

El fertilizante puede elegirse de entre: un fertilizante inorgánico, un fertilizante nitrogenado, un fertilizante potásico, un fertilizante fosfatado, un fertilizante orgánico, un estiércol, una composta, un fosfato de roca, una harina de
5 huesos, una alfalfa, una astilla de madera, una langbeinita, cultivos de cobertura, sulfato de potasio, polvo de roca, ceniza, harina de sangre, harina de pescado, emulsión de pescado, algas, quitosano y melaza.

10 El antiespumante se puede elegir entre un aceite mineral, un aceite vegetal, una cera de parafina, una cera éster, una sílice, un alcohol graso, una silicona, un polietilenglicol, un polipropilenglicol, un copolímero y un poliacrilato de alquilo.

15 El regulador del crecimiento de las plantas puede elegirse de entre un carbamato, un hidrocarburo clorado, ciclohexadiona, un ácido orgánico, ancimidol, etefón, ácido giberélico, giberelinas y benazladenina, hidrazida maleica,
20 NAA, naftalenacetamida, paclobutrazol, ácido N-acetilaspártico.

Según otra realización, se proporciona un método para usar la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención, que comprende la etapa de diluir la formulación de
25 nanoemulsión acuosa con agua.

Según otra realización, se proporciona un método para desinfectar una superficie que comprende aplicar la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención a una superficie que se necesita desinfectar.

Según otra realización, se proporciona un método para el control de una plaga de un suelo, una semilla o una planta, el método comprende poner en contacto la semilla o planta con una cantidad pesticida de la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención.

En la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención, o el método de la presente invención, en que la plaga se puede elegir de entre un insecto, un nematodo, un hongo, una bacteria, una larva, una planta, un animal, un virus, un parásito, un gasterópodo, un artrópodo, un caracol, una babosa, un alga o combinaciones de los mismos.

En la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención, o el método de la presente invención, en que la plaga puede ser el tizón del fuego, el mildiú polvoriento, septoria y botrytis.

La planta puede ser una maleza.

El artrópodo puede ser un ácaro.

El insecto puede ser una polilla.

5

Según otra realización, se proporciona un método para regular el crecimiento de una semilla o una planta, el método comprende poner en contacto la semilla o planta con una cantidad reguladora del crecimiento de la formulación desinfectante acuosa de la presente invención.

10

La regulación del crecimiento puede comprender un aumento en el número de frutas, verduras, bulbos o tubérculos de la planta.

15

La regulación del crecimiento puede comprender un aumento del tamaño de la fruta, verdura, bulbo o tubérculo de la planta.

20

La regulación del crecimiento puede comprender un aumento del número de plantas sanas.

La planta se puede elegir de entre una planta de plátano, un manzano, un peral, una planta de papa, una planta

de arroz, una planta de café, un árbol de cítricos, una cebolla, ginseng, soja, una hierba, una planta de tomate.

Los siguientes términos se definen a continuación.

5

El uso de la palabra "un" o "una" cuando se usa junto con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o la especificación puede significar "uno", pero también es coherente con el significado de "uno o más", "al menos uno" y
10 "uno o más de uno". De manera similar, la palabra "otro" puede significar al menos un segundo o más.

Como se usa en esta especificación y en la(s) reivindicación(es), las palabras "que comprende" (y cualquier
15 forma de comprender, como "comprenden" y "comprende"), "tener" (y cualquier forma de tener, como "tienen" y "tiene"), "incluyendo" (y cualquier forma de incluir, como "incluyen" e "incluye") o "que contiene" (y cualquier forma de contener, como "contienen" y "contiene"), son inclusivos o abiertos y no
20 excluyen elementos o pasos de proceso adicionales no citados.

El término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye una variación inherente de error para el dispositivo o el método que se emplea para determinar el valor.

25

Se observa que términos como "preferiblemente", "comúnmente" y "típicamente" no se utilizan en este documento para limitar el alcance de la invención reivindicada o para implicar que ciertas características son críticas, esenciales o incluso importantes para la estructura o función de la invención reivindicada. Más bien, estos términos están destinados simplemente a resaltar características alternativas o adicionales que pueden o no pueden utilizarse en una realización particular de la presente invención.

10

Para los fines de describir y definir la presente invención, se observa que el término "sustancialmente" se utiliza en este documento para representar el grado inherente de incertidumbre que puede atribuirse a cualquier comparación cuantitativa, valor, medición u otra representación. El término "sustancialmente" también se utiliza en el presente documento para representar el grado en el que una representación cuantitativa puede variar de una referencia establecida sin dar como resultado un cambio en la función básica del tema en cuestión.

20

El término "formulación", como se usa en el presente documento, pretende abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que derive, directa o indirectamente,

25

de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas. Además, la formulación se refiere a la mezcla en que las sustancias de la mezcla no reaccionan entre sí, pero tienen propiedades deseables como mezcla. Dicho

5 término en relación con la composición farmacéutica pretende abarcar cualquier composición preparada mezclando la formulación de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por "farmacéuticamente aceptable" o "aceptable" se entiende que el vehículo, diluyente o

10 excipiente debe ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no perjudicial para el receptor de la misma.

El porcentaje en peso, % en peso, y similares son sinónimos que se refieren a la concentración de una sustancia

15 como el peso de la misma dividido por el peso de la composición y multiplicado por 100.

El término "desinfectante" como se usa en el presente documento se refiere a un agente antimicrobiano que en la

20 aplicación destruye o reduce el crecimiento de microorganismos que viven en la superficie del objeto sobre el que se aplica.

El término "antimicrobiano" como se usa en el presente documento se refiere a un agente que mata microorganismos o

25 detiene su crecimiento.

El término "pesticida", como se usa en el presente documento, se refiere a sustancias que están destinadas a controlar plagas, incluyendo malezas. El término pesticida incluye todos los siguientes: herbicida, insecticidas (que pueden incluir reguladores del crecimiento de insectos, termiticidas, etc.) nematocida, molusquicida, piscicida, avicida, raticida, bactericida, repelente de insectos, repelente de animales, antimicrobiano, fungicida y desinfectante (antimicrobiano). Los más comunes son los herbicidas, que representan aproximadamente el 80% de todo el uso de pesticidas. La mayoría de los pesticidas están destinados a servir como productos fitosanitarios que, en general, protegen a las plantas de malezas, hongos o insectos.

15

El término "biopesticida" como se usa en el presente documento se refiere a la contracción de "pesticidas biológicos" y se refiere a ciertos tipos de pesticidas derivados de materiales naturales como animales, plantas, bacterias y ciertos minerales.

20

El término "antiséptico", como se usa en el presente documento, se refiere a sustancias antimicrobianas que se aplican a cualquier superficie, como pisos, paredes, techos, así como tejidos vivos para reducir la posibilidad de

25

contaminación microbiana, incluyendo infección, sepsis o putrefacción.

El término "origen natural" como se usa en el presente
5 documento se refiere a compuestos fenólicos y saponinas que
existen o se producen en la naturaleza. Tales compuestos
fenólicos y saponinas pueden extraerse o aislarse de su entorno
natural por cualquier medio adecuado. Por supuesto, tales
compuestos fenólicos y saponinas también pueden producirse
10 sintéticamente por la mano del hombre. Tales equivalentes
sintéticos están dentro de la definición de "origen natural".

El término "micelas", como se usa en el presente
documento, se refiere a agregados formados por moléculas
15 anfifílicas cuando se suspenden en una solución acuosa. La
longitud de la cola no polar de un detergente, la naturaleza y
el tamaño de la cabeza polar o iónica de un detergente, la
cantidad y tipo de saponinas, la acidez de la solución, la
temperatura y la presencia de sales agregadas son los factores
20 más importantes que determinan la forma y el tamaño de las
micelas obtenidas. Las micelas se utilizan ampliamente en el
campo industrial y biológico por su capacidad para disolver y
transportar sustancias polares a través de un medio acuoso. La
capacidad de transporte de las micelas depende en gran medida
25 de su tamaño y forma.

El término "nanoemulsión" como se usa en el presente documento se refiere a emulsiones de aceite en agua (o/w) con diámetros medios de gota que varían de aproximadamente 10 a

5 aproximadamente 1000 nm, o aproximadamente 20 a aproximadamente 1000 nm, o aproximadamente 30 a aproximadamente 1000 nm, o aproximadamente 40 a aproximadamente 1000 nm, o aproximadamente 50 a aproximadamente 1000 nm, y a menudo con un tamaño medio de gota entre aproximadamente 10 y aproximadamente 500 nm, o

10 aproximadamente 20 a aproximadamente 500 nm, o aproximadamente 30 a aproximadamente 500 nm, o aproximadamente 40 a aproximadamente 500 nm, o aproximadamente 50 a aproximadamente 500 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 500 nm o aproximadamente 70 a aproximadamente 300 nm, o aproximadamente

15 50 a aproximadamente 300 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 20 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 30 a aproximadamente aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 40 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 50 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente

20 60 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 125 a aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 150 a

25 aproximadamente 200 nm, o aproximadamente 175 a aproximadamente

200 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 175 nm, o
 aproximadamente 20 a aproximadamente 175 nm, o de
 aproximadamente 30 a aproximadamente 175 nm, o de
 aproximadamente 40 a aproximadamente 175 nm, o aproximadamente
 5 50 a aproximadamente 175 nm, o aproximadamente 60 a
 aproximadamente 175 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente
 175 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 175 nm, o
 aproximadamente 90 a aproximadamente 175 nm, o aproximadamente
 100 a aproximadamente 175 nm, o alrededor de 125 a alrededor de
 10 175 nm, o alrededor de 150 a alrededor de 175 nm, o alrededor
 de 10 a alrededor de 150 nm, o alrededor de 20 a alrededor de
 150 nm, o alrededor de 30 a alrededor de 150 nm, o alrededor de
 40 a alrededor de 150 nm, o aproximadamente 50 a
 aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente
 15 150 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 150 nm, o
 aproximadamente 80 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente
 90 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 100 a
 aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 125 a aproximadamente
 150 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 125 nm, o
 20 aproximadamente 20 a aproximadamente 125 nm, o aproximadamente
 30 a aproximadamente 125 nm, o aproximadamente 40 a
 aproximadamente 125 nm, o aproximadamente 50 a aproximadamente
 125 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 125 nm, o
 aproximadamente 70 a aproximadamente 125 nm, o aproximadamente
 25 80 a aproximadamente 125 nm, o aproximadamente 90 a

aproximadamente 125 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 125 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 100 nm, o aproximadamente 20 a aproximadamente 100 nm, o alrededor de 30 a alrededor de 100 nm, o alrededor de 40 a alrededor de 100 nm, o alrededor de 50 a alrededor de 100 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 100 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 100 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 100 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 100 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 90 nm, o aproximadamente 20 a aproximadamente 90 nm, o aproximadamente 30 a aproximadamente 90 nm, o aproximadamente 40 a aproximadamente 90 nm, o aproximadamente 50 a aproximadamente 90 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 90 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 90 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 90 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente aproximadamente 80 nm, o aproximadamente 20 a aproximadamente 80 nm, o aproximadamente 30 a aproximadamente 80 nm, o aproximadamente 40 a aproximadamente 80 nm, o aproximadamente 50 a aproximadamente 80 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 80 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 80 nm, o alrededor de 10 a alrededor de 70 nm, o alrededor de 20 a alrededor de 70 nm, o alrededor de 30 a alrededor de 70 nm, o alrededor de 40 a alrededor de 70 nm, o alrededor de 50 a alrededor de 70 nm, o alrededor de 60 a alrededor de 70 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 60 nm, o aproximadamente

20 a aproximadamente 60 nm, o aproximadamente 30 a aproximadamente 60 nm, o aproximadamente 40 a aproximadamente 60 nm, o aproximadamente 50 a aproximadamente 60 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 50 nm, o aproximadamente 20 a aproximadamente 50 nm, o aproximadamente 30 a aproximadamente 50 nm, o aproximadamente 40 a aproximadamente 50 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 40 nm, o aproximadamente 20 a aproximadamente 40 nm, o aproximadamente 30 a aproximadamente 40 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 30 nm, o aproximadamente 20 a aproximadamente 30 nm, o aproximadamente 10 a aproximadamente 20 nm.

El término "patógeno" significa un agente que puede producir una enfermedad. Un patógeno también puede denominarse agente infeccioso o simplemente germen. Típicamente, el término se usa para describir un microorganismo o agente infeccioso, como un virus, bacteria, protozoo, prión, viroide u hongo, gasterópodos, artrópodos, caracoles, babosas, algas. Los animales pequeños, como ciertos tipos de gusanos y larvas de insectos, y los vertebrados (mamíferos y aves), también pueden producir enfermedades. Sin embargo, a estos animales se les suele llamar parásitos en lugar de patógenos.

Los términos "regulación del crecimiento de la planta" y "cantidad reguladora del crecimiento" significan que el método y la composición de la presente invención regulan al menos un aspecto del crecimiento de una planta. La regulación del crecimiento no necesita estar en todos los aspectos del crecimiento de las plantas. Por ejemplo, la composición de la presente invención puede regular el crecimiento de cualquiera de los follajes, hojas, flores, tallos, ramas, frutas, verduras, bulbos, tubérculos o cualquier otra parte de la planta, independientemente de otras partes de la planta. Como se usa en el presente documento, el término "cantidad reguladora del crecimiento" pretende significar una cantidad de la composición de la presente invención que hace que al menos uno de los aspectos del crecimiento de una planta se regule como se definió anteriormente. La regulación del crecimiento de las plantas también puede incluir un aumento general del crecimiento de una planta. La regulación del crecimiento de las plantas también puede mostrarse como un aumento en el número de plantas sanas en un cultivo que comprende varios individuos. La regulación del crecimiento de las plantas también puede incluir la estimulación de la maduración de la fruta. La regulación del crecimiento de las plantas también puede incluir la inhibición del crecimiento de plantas y brotes. La regulación del crecimiento de las plantas también puede incluir un aumento en la floración. La regulación del crecimiento de las plantas

también puede incluir la regulación de la senescencia de hojas y frutos. La cantidad reguladora del crecimiento puede abarcar un intervalo de concentración en el que se puede observar el efecto, y cada efecto regulador del crecimiento puede observarse en detrimento del crecimiento de otras partes de la planta. Preferiblemente, el efecto regulador del crecimiento puede obtenerse sin efectos fitotóxicos en el resto de las plantas, pero en algunas realizaciones esto puede no ser posible.

10

El término "cantidad pesticida" significa una cantidad de la composición de la presente invención que será suficiente para controlar una plaga determinada. La cantidad puede variar según la plaga objetivo, lo que implica que una concentración más baja puede ser suficiente para controlar una plaga y que puede ser necesaria una concentración más alta para controlar otra plaga.

Los términos "fruta" y "verdura" se refieren al uso del lenguaje común de "fruta" y "verdura", que normalmente significa las estructuras carnosas asociadas a semillas de una planta que son dulces o agrias y comestibles en estado crudo, como manzanas, plátanos, uvas, limones, naranjas y fresas. También incluye el uso botánico de "frutas" y "verduras", que incluye muchas estructuras que no se llaman comúnmente "frutas"

o "verduras", como vainas de frijoles, granos de maíz, tomates y granos de trigo.

El término "tubérculo" se refiere a las estructuras
5 agrandadas en algunas especies de plantas utilizadas como
órganos de almacenamiento de nutrientes. Se utilizan para la
perennización de la planta (supervivencia del invierno o meses
secos), para proporcionar energía y nutrientes para el rebrote
durante la próxima temporada de crecimiento y como medio de
10 reproducción asexual. Los tubérculos del tallo se forman a
partir de rizomas engrosados (tallos subterráneos) o estolones
(conexiones horizontales entre organismos). Las especies de
plantas comunes con tubérculos de tallo incluyen la papa y el
ñame. Algunas fuentes también tratan las raíces laterales
15 modificadas (tubérculos de raíz) según la definición; se
encuentran en la batata, la mandioca y la dalia.

Las características y ventajas del tema de la presente
serán más evidentes a la luz de la siguiente descripción
20 detallada de realizaciones seleccionadas, como se ilustra en
las figuras adjuntas. Como se comprenderá, el tema descrito y
reivindicado es susceptible de modificaciones en varios
aspectos, todo ello sin apartarse del alcance de las
reivindicaciones. Por consiguiente, los dibujos y la
25 descripción deben considerarse de naturaleza ilustrativa y no

restrictiva, y el alcance completo del tema se expone en las reivindicaciones.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

5

Otras características y ventajas de la presente divulgación resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, tomada en combinación con los dibujos adjuntos, en que:

10

La Fig. 1A ilustra el tamaño de las micelas en la formulación desinfectante acuosa de la presente invención en comparación con tecnologías anteriores.

15

La Fig. 1B ilustra el tamaño de las micelas en la formulación desinfectante acuosa de la presente invención en comparación con tecnologías anteriores.

20

La Fig. 2 ilustra la eficacia antibacteriana de la formulación desinfectante acuosa de la presente invención elaborada con aceite de tomillo natural y cristales de timol sintéticos.

La Fig. 3 ilustra la eficacia antibacteriana de formulaciones desinfectantes acuosas que tienen diferentes composiciones.

5 La Fig. 4 ilustra la eficacia antibacteriana de formulaciones desinfectantes acuosas a base de aceites de tomillo sintéticos idénticos al natural.

La Fig. 5 ilustra la eficacia antibacteriana de
10 formulaciones desinfectantes acuosas a base de aceites esenciales de orégano.

La Fig. 6 ilustra la eficacia antibacteriana de formulaciones desinfectantes acuosas a base de aceites
15 esenciales de orégano.

La Figura 7 ilustra la eficacia antibacteriana de formulaciones desinfectantes acuosas a base de aceites
esenciales de romero.

20

La Fig. 8 ilustra la eficacia antibacteriana de formulaciones desinfectantes acuosas a base de aceites de tomillo sintéticos idénticos al natural de acuerdo con realizaciones de la presente invención.

25

La Fig. 9 ilustra la eficacia antibacteriana de formulaciones desinfectantes acuosas a base de aceites de tomillo sintéticos idénticos al natural de acuerdo con realizaciones de la presente invención, usadas como
5 concentrado.

La Fig. 10 ilustra la eficacia antibacteriana de formulaciones desinfectantes acuosas a base de aceites de tomillo sintéticos idénticos al natural según realizaciones de
10 la presente invención, utilizadas como una dilución 1/256.

La Fig. 11 ilustra la eficacia antibacteriana de formulaciones desinfectantes acuosas a base de aceites de tomillo sintéticos idénticos al natural según realizaciones de
15 la presente invención, utilizadas como una dilución 1/512.

La Fig. 12 ilustra la eficacia antibacteriana de Tratamientos de control Thymox™ en bacterias resistentes a la estreptomicina.

20

La Fig. 13 ilustra las propiedades inhibidoras de enfermedades de los tratamientos de control Thymox™ en plantas infectadas con *Septoria* y *Mildiú polvoriento*.

La Fig. 14 ilustra las propiedades inhibidoras de *Botrytis* de los tratamientos de control Thymox™ sobre Stevia.

La Fig. 15 ilustra la ausencia de fitotoxicidad de
5 Tratamientos de control Thymox™ en *Artimesia Silvermound*.

La Fig. 16 ilustra la ausencia de fitotoxicidad de
Tratamientos de control Thymox™ en *Artimesia "Powis Castle"*.

10 La Fig. 17 ilustra la actividad antibacteriana de las
formulaciones de la presente invención que contienen vitamina
C.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

15 En algunas realizaciones se describe una formulación
acuosa de nanoemulsión que comprende aceite de tomillo,
disolvente, sorbato, saponinas y agua. Según realizaciones, la
formulación acuosa de nanoemulsión puede ser:

20 a) de aproximadamente un 0.05% a aproximadamente un 55% en
peso de aceite;

b) de aproximadamente un 0.04% a aproximadamente un 65% en
25 peso de un disolvente;

c) de aproximadamente un 0.01% a aproximadamente un 25% de un sorbato;

5 d) de aproximadamente 0.00025% a aproximadamente 0.37% en peso de una saponina, en una cantidad suficiente para formar una nanoemulsión del aceite en agua; y

e) suficiente agua para hacer el 100 por ciento en peso.

10

La presente invención se puede preparar como formulaciones concentradas así como formulaciones diluidas para usos específicos.

15 **Aceites**

En una realización, el término aceite pretende significar cualquier sustancia química no polar que sea un líquido viscoso a temperatura ambiente y que sea tanto
20 hidrófoba como lipófila. Los aceites pueden tener un alto contenido de carbono e hidrógeno y suelen ser inflamables y tensioactivos. Como se usa en el presente documento, aceite incluye aceites tanto orgánicos como minerales.

Según una realización, el aceite puede ser un aceite esencial, o un ingrediente activo de un aceite esencial, que también tiene una naturaleza aceitosa cuando está sustancialmente aislado. Un aceite esencial, como se usa en el presente, es un líquido hidrofóbico concentrado que contiene compuestos químicos volátiles (que se evaporan fácilmente a temperaturas normales) de plantas. Los aceites esenciales también se conocen como aceites volátiles, aceites etéreos, aetherolea o simplemente como el aceite de la planta de la que se extrajeron, como el aceite de clavo. Un aceite esencial es "esencial" en el sentido de que contiene la "esencia de" la fragancia de la planta, es decir, la fragancia característica de la planta de la que se deriva. Los aceites esenciales generalmente se extraen por destilación, a menudo usando vapor. Otros procesos incluyen expresión, extracción con disolvente, sfumatura, extracción de aceite absoluto, roscado de resina, incrustación de cera y prensado en frío. Se utilizan en perfumes, cosméticos, jabones y otros productos, para aromatizar alimentos y bebidas, y para añadir aromas al incienso y productos de limpieza del hogar.

Con respecto al aceite esencial, se sabe que algunos son aceites esenciales antimicrobianos, antibacterianos, desinfectantes y/o aceite esencial pesticida, o una combinación de los mismos. Por supuesto, tales aceites se pueden usar para

preparar nanoemulsiones acuosas que conservan y aprovechan tales propiedades del aceite o los aceites esenciales que comprenden.

- 5 El aceite esencial puede ser aceite de anís, aceite de limón, aceite de naranja, aceite de orégano, aceite de romero, (incluyendo aceite de romero español), aceite de gaulteria, aceite de tomillo, aceite de lavanda, aceite de clavo, aceite de lúpulo, aceite de árbol de té, aceite de citronela, aceite
- 10 de trigo, aceite de cebada, aceite de hierba de limón, aceite de hoja de cedro, aceite de madera de cedro, aceite de canela, aceite de hierba de pulgas, aceite de geranio, aceite de sándalo, aceite de violeta, aceite de arándano, aceite de eucalipto, aceite de verbena, aceite de menta, aceite de
- 15 albahaca, aceite de hinojo, aceite de abeto, aceite de bálsamo, aceite de ocmea origanum, aceite de Hydastis carradensis, aceite de Berberidaceae daceae, aceite de ratanhiae, aceite de cúrcuma longa, aceite de sésamo, aceite de nuez de macadamia, aceite de onagra, aceite de cilantro, aceite de bayas de
- 20 pimienta, aceite de rosa, aceite de bergamota, aceite de palo de rosa, aceite de manzanilla, aceite de salvia (incluyendo aceite de salvia española), aceite de esclarea, aceite de ciprés, aceite de hinojo marino, aceite de incienso, aceite de jengibre, aceite de toronja, aceite de jazmín, aceite de
- 25 enebro, aceite de lima, aceite de mandarina, aceite de

mejorana, aceite de mirra, aceite de neroli, aceite de pachuli, aceite de pimienta, aceite de pimienta negra, aceite de petitgrain, aceite de pino, aceite de rosa de Damasco, aceite de menta verde, aceite de nardo, aceite de vetiver, un aceite
 5 esencial de coníferas, ylang ylang o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el aceite esencial de conífera puede ser de cualquier conífera adecuada, como cedros, abetos
 10 de Douglas, cipreses, abetos, enebros, kauri, alerces, pinos, falsos abetos, secuoyas, abetos y tejos. Los ejemplos de abeto se pueden seleccionar del grupo que consta de *Picea breweriana*, *Picea sitchensis*, *Picea engelmannii*, *Picea glauca*, *Picea brachytyla*, *Picea chihuahuana*, *Picea farreri*, *Picea*
 15 *likiangensis*, *Picea martinezii*, *Picea maximowiczii*, *Picea morrisonicola*, *Picea neoveitchii*, *Picea orientalis*, *Picea purpurea*, *Picea schrenkiana*, *Picea smithiana*, *Picea spinulosa*, *Picea torano*, *Picea wilsonii*, *Picea abies*, *Picea alcoquiana*, *Picea alpestris*, *Picea asperata*, *Picea crassifolia*, *Picea*
 20 *glehnii*, *Picea jezoensis*, *Picea koraiensis*, *Picea koyamae*, *Picea mariana*, *Picea meyeri*, *Picea obovate*, *Picea omorika*, *Picea pungens*, *Picea retroflexa*, y *Picea rubens*.

Según otras realizaciones, el aceite también puede ser aceite de neem, aceite de semilla de algodón o combinaciones de los mismos.

5 **Aceite de tomillo**

En una realización, el ingrediente desinfectante activo en la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención es aceite de tomillo. El timol es un derivado fenólico monoterpenoide natural de cimenol, $C_{10}H_{14}O$, isomérico con carvacrol, que se encuentra en el aceite de tomillo y se extrae del *Thymus vulgaris* y varios otros tipos de plantas. Los compuestos fenólicos de origen natural que se utilizan en la presente invención se pueden preparar sintéticamente mediante métodos conocidos o se pueden obtener a partir de extractos de aceites vegetales.

En una realización de la presente invención, los compuestos fenólicos de origen natural se obtienen a partir de extractos vegetales. En una realización adicional, los compuestos fenólicos de origen natural están disponibles en el mercado. En otra realización más, la formulación acuosa de nanoemulsión de la presente invención comprende aceite de tomillo de origen natural, de origen sintético o una combinación de los mismos. En la tabla 1 se mencionan ejemplos

de aceites de tomillo que pueden usarse para preparar las formulaciones de nanoemulsión acuosa de la presente invención.

Aceites de tomillo		
5	VDH Organics 1	Aceite de tomillo (sintético) VDH/TO/451109/18-19
	VDH Organics 2	Aceite de tomillo (sintético) VDH/TO/444519/18-19
	Katyani Exports	Aceite de tomillo "KE" (Natural) K-5655-KE-2017
	Katyani Exports	Aceite de tomillo 60% (natural) K-1548-KE-2018
	Rakesh Sandal Industries	Aceite de tomillo "RS" (Comp) R000X3V14
	HBNO	Aceite de tomillo (Natural) HBNO - 4255
	HBNO	Tomillo Zygis Europa (Natural) 1007182
10	HBNO	Tomillo Vulgaris India (Natural) 3600
	BLAS LORENTE	Timol, Aceite de tomillo 100% natural n/d
	BLAS LORENTE	Aceite de tomillo blanco N.I. (Natural) n/d
	CARBONNEL	Tom. Blanco (sintético) 65059
	CARBONNEL	Tom. Blanco (sintético) 00420
	CARBONNEL	Aceite de tomillo (Natural) 00806
	Kush Aroma Exports	Aceite esencial de tomillo 100% puro KUSH/EO-100-003474/18-19
15	Natures Natural India	Aceite de tomillo (Natural) NNITHEO/234/1218
	Natures Natural India	Aceite de tomillo (sintético) NNITSEO/433/1218
	AG Industries	Aceite de tomillo puro (natural) FM/TMOLN/1901001
	AG Industries	Aceite de tomillo sintético FM/TMOLN/19010021
	Shree Bankey	Aceite de tomillo puro SBBLBM/THYM/001/2017-18

Tabla 1. Aceite de tomillo ejemplar

20

Según una realización, la formulación acuosa de nanoemulsión de la presente invención comprende aceite de tomillo con porcentajes variables de compuestos fenólicos tales como carvacrol, timol, paracimeno y terpineno. La composición

25 de los aceites de tomillo naturales (Nat) o sintéticos

idénticos al natural (Sin) utilizados en la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención se enumeran en la tabla 2. Los aceites de tomillo pueden estar presentes desde aproximadamente el 0.05% hasta aproximadamente el 55% en peso de la formulación.

	Aceites naturales o idénticos al natural (sintéticos)	Sint/Nat	% de timol	% carvacrol	% paracimeno	% terpineno
10	VDH Organics 1	Sintético	44.4	19.2	11.4	19.9
	VDH Organics 2	Sintético	45	9.3	14.2	25.1
	Natures Natural India	Sintético	45.4	2.82	27.35	12.69
	Natures Natural India	Natural	45.83	3.03	27.39	12.78
15	AG Industries	Sintético	44.5	3.73	28.42	1.71
	AG Industries	Natural	27.03	3.66	24.54	0.61
	Katyani Exports	Natural	50	3.97	20.13	8.15
	Rakesh Sandal Industries	Natural	52.65	6.3	14.23	10.5

Tabla 2. Aceites de tomillo naturales o sintéticos idénticos al natural utilizados en la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención.

20

Aceite de romero

En una realización, el ingrediente oleoso en la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención es aceite de romero. α -pineno, alcanfor, 1,8-cineol, canfeno,

25

limoneno y linalool se encuentran entre los componentes de este aceite.. El aceite de romero puede ser de origen natural, de origen sintético o una combinación de los mismos.

5 **Principio activo de un aceite esencial**

El aceite usado en la nanoemulsión de la presente invención también puede ser un ingrediente activo aislado de un aceite esencial, que también tiene una naturaleza aceitosa cuando está sustancialmente aislado. Dichos ingredientes pueden ser timol, carvacrol, cinamaldehído, citral, mentol, geraniol, capsaicina, paracimeno o combinaciones de los mismos, por ejemplo.

15 **Disolvente**

En una realización, la formulación acuosa de nanoemulsión de la presente invención comprende además al menos un disolvente polar o no polar capaz de solubilizar los compuestos fenólicos en aceite de tomillo y otros constituyentes de la formulación. Ejemplos no limitativos de disolventes incluyen 1,2-dicloroetano, 2-butanona, acetona, acetonitrilo, benceno, tetracloruro de carbono, cloroformo, ciclohexano, hexano, pentano, tetrahidrofurano, 1,1-dicloroetano, 1,2-dicloroetano, 1-butanol, 1-heptanol, 1-

hexanol, 1-octanol, 1-pentanol, 1-propanol, 2-aminoetanol, 2-butanol, 2-butanona, 2-pentanol, 2-pentanona, 2-propanol, 3-pentanol, 3-pentanona, ácido acético, acetona, acetonitrilo, acetil acetona, anilina, anisol, benceno, benzonitrilo, alcohol

5 bencílico, acetato de butilo, lactato de butilo, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono, clorobenceno, cloroformo, ciclohexanol, ciclohexanona, diclorometano, éter dietílico, dietilamina, dietilenglicol, diglima, éter diisopropílico, dimetoxietano, dimetilformamida, ftalato de dimetilo, sulfóxido

10 de dimetilo, ftalato de di-n-butilo, dioxano, etanol, éter, acetato de etilo, acetoacetato de etilo, benzoato de etilo, etilenglicol, glicerol, heptano, hexano, i-butanol, isopropanol, metanol, acetato de metilo, metil-t-butil éter, cloruro de metileno, metil-t-butil éter, N,N-dimetilanilina,

15 pentano, p-xileno, piridina, alcohol t-butílico, tetrahidrofurano, tolueno, tricloroetileno, agua, agua pesada y xileno. En una realización, la formulación acuosa de nanoemulsión de la presente invención comprende además al menos dos disolventes, o al menos tres disolventes, o al menos cuatro

20 disolventes, o al menos cinco disolventes. Según una realización preferente, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención comprende al menos tres disolventes. En una realización preferente de la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención, los tres disolventes

25 comprenden isopropanol, glicerol y lactato de butilo. La

formulación de la presente invención puede comprender desde aproximadamente el 0.04% hasta aproximadamente el 65%, o desde aproximadamente el 0.4% hasta aproximadamente el 65%, o desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 65%, o desde

5 aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 65%, o desde aproximadamente el 20% a aproximadamente 65%, o desde aproximadamente 30% a aproximadamente 65%, o desde aproximadamente 40% a aproximadamente 65%, o desde aproximadamente 50% a aproximadamente 65%, o desde

10 aproximadamente 60% a aproximadamente 65%, o desde aproximadamente 0.4% a aproximadamente 60%, o de aproximadamente 1% a aproximadamente 60%, o de aproximadamente 10% a aproximadamente 60%, o de aproximadamente 20% a aproximadamente 60%, o de aproximadamente 30% a aproximadamente

15 60%, o de aproximadamente 40% a aproximadamente 60%, o desde aproximadamente 50% a aproximadamente 60%, o desde aproximadamente 0.4% a aproximadamente 50%, o desde aproximadamente 1% a aproximadamente 50%, o desde aproximadamente 10% a aproximadamente 50%, o desde

20 aproximadamente 20% a aproximadamente 50%, o de aproximadamente 30% a aproximadamente 50%, o de aproximadamente 40% a aproximadamente 50%, o de aproximadamente 0.4% a aproximadamente 40%, o de aproximadamente 1% a aproximadamente 40%, o de aproximadamente del 10% a aproximadamente el 40%, o

25 de aproximadamente el 20% a aproximadamente el 40%, o de

aproximadamente el 30% a aproximadamente el 40%, o de
aproximadamente el 0.4% a aproximadamente el 30%, o de
aproximadamente el 1% a aproximadamente el 30%, o de
aproximadamente 10% t o aproximadamente el 30%, o desde
5 aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 30%, o desde
aproximadamente el 0.4% hasta aproximadamente el 20%, o desde
aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 20%, o desde
aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 20%, desde
aproximadamente el 0.4% hasta aproximadamente 10%, o
10 aproximadamente 1% a aproximadamente 10%, o aproximadamente
0.4% a aproximadamente 1% en peso de disolvente.

Sorbato

15 En una realización, la formulación de nanoemulsión
acuosa de la presente invención comprende un sorbato. Los
sorbatos se utilizan principalmente como conservantes en la
industria alimentaria. Sin embargo, como se describió
anteriormente, el sorbato en la presente invención actúa además
20 como un co-tensioactivo para aumentar el número de micelas en
la nanoemulsión y amplificar el efecto antimicrobiano de la
formulación de nanoemulsión acuosa. El sorbato puede ser
sorbato de potasio, sorbato de sodio, sorbato de calcio, ácido
sorbico o combinaciones de los mismos.

En una realización preferente, el sorbato es sorbato de potasio. El sorbato de potasio también se utiliza como conservante de alimentos que se ha utilizado eficazmente durante décadas es GRAS para conservar productos alimenticios.

5 Los estudios que utilizaron concentraciones de potasio similares a las de los productos para cuidado corporal descubrieron que el sorbato de potasio prácticamente no es irritante ni sensibilizante [Informe final sobre la evaluación de la seguridad del ácido sórbico y el sorbato de potasio.

10 Revista Internacional de Toxicología de UITO, 7(6), 837-880 (1988)]. De hecho, la toxicidad del sorbato de potasio es cercana a la de la sal de mesa. El sorbato de potasio también está incluido en el Manual de Productos Químicos Ecológicos (Handbook of Green Chemicals), aprobado por la Asociación de

15 Productos Naturales, y también está aprobado por Whole Foods Premium Body Care.

Los hallazgos recientes continúan validando la seguridad del sorbato de potasio cuando se usa cerca de los humanos y

20 cuando se consume. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) estableció una ingesta diaria aceptable de 3 mg por kg de peso corporal por día. Se alimentó a las ratas con 300 mg por día sin efectos perjudiciales observados. En Estados Unidos, la ingesta diaria máxima aceptable para los seres

25 humanos es de 25 miligramos por kilogramo (mg por kg) de peso

corporal por día. Para un adulto de 150 libras, esto equivale a 1.750 mg por día.

Además, el sorbato de potasio se caracteriza por ser
5 seguro para uso agrícola como "inhibidor de hongos", y se sabe que el ácido sórbico y otros ácidos monocarboxílicos alifáticos insaturados y sus sales son eficaces para inhibir el crecimiento de microorganismos en la agricultura.

10 En la presente invención, el sorbato de potasio contribuye a la formación y estabilidad de gotitas o micelas de nanoemulsión de menos de 200 nm de diámetro. Se cree que el tamaño más pequeño de las micelas es ventajoso para hacer que la formulación en emulsión sea relativamente impermeable a la
15 sedimentación gravitacional o la formación de crema. Lo más importante es que la estabilidad de la formulación, a su vez, está directamente relacionada con su eficacia. Las nanoemulsiones más pequeñas, gotitas por unidad de volumen (de aceite de tomillo) generan un mayor número de micelas, lo que a
20 su vez causa una mayor incidencia de contacto entre la formulación antimicrobiana y los microbios objetivo. Una ventaja crucial de las nanoemulsiones pequeñas es la mayor estabilidad y solubilidad de la formulación concentrada. En consecuencia, el producto diluido final utilizado con fines de
25 limpieza o desinfección es más homogéneo y termodinámicamente

estable. Las formulaciones de la presente invención pueden comprender desde aproximadamente 0.01% hasta aproximadamente 25%, o desde aproximadamente 0.1% hasta aproximadamente 25%, o aproximadamente 1% hasta aproximadamente 25%, o aproximadamente 10% hasta aproximadamente 25%, o aproximadamente 15% hasta aproximadamente 25%, o aproximadamente 20% a aproximadamente 25%, o aproximadamente 0.01% a aproximadamente 20%, o aproximadamente 0.1% a aproximadamente 20%, o aproximadamente 1% a aproximadamente 20%, o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, o de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 20%, o de aproximadamente el 0.01% a aproximadamente el 15%, o de aproximadamente el 0.1% a aproximadamente el 15%, o de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 15%, o aproximadamente del 10% a aproximadamente el 15%, o aproximadamente el 0.01% hasta aproximadamente el 10%, o desde aproximadamente el 0.1% hasta aproximadamente el 10%, o aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 10%, o aproximadamente el 0.01% hasta aproximadamente el 1%, o desde aproximadamente el 0.1% hasta aproximadamente el 1%, o aproximadamente del 0.01% hasta aproximadamente el 0.1 % en peso de un sorbato.

Saponinas

En una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención comprende una saponina.

5

Las saponinas son una clase de compuestos químicos que se encuentran en particular abundancia en varias especies de plantas. Más específicamente, son glucósidos anfipáticos agrupados fenomenológicamente por la espuma similar a un jabón

10 que producen cuando se agitan en soluciones acuosas, y estructuralmente por tener uno o más restos glucósidos hidrófilos combinados con un triterpeno lipófilo o derivado esteroide. Las saponinas se utilizan comúnmente como tensioactivos no iónicos naturales, emulsificación, agentes

15 espumantes y detergentes, en una variedad de industrias que incluyen alimentos, cosméticos, agrícolas y farmacéuticos. Las formulaciones de la presente invención pueden comprender desde aproximadamente 0.00025% hasta aproximadamente 0.37%, o desde aproximadamente 0.0025% hasta aproximadamente 0.37%, o desde

20 aproximadamente 0.025% hasta aproximadamente 0.37%, o desde aproximadamente 0.25% hasta aproximadamente 0.37%, o desde aproximadamente 0.00025% hasta aproximadamente 0.35%, o desde aproximadamente 0.0025% hasta aproximadamente 0.35%, o desde aproximadamente 0.025% hasta aproximadamente 0.35%, o desde

25 aproximadamente 0.25% hasta aproximadamente 0.35%, o desde

aproximadamente 0.00025% hasta aproximadamente 0.30%, o desde
aproximadamente 0.0025% hasta aproximadamente 0.30%, o desde
aproximadamente 0.025% hasta aproximadamente 0.30%, o desde
aproximadamente 0.25% hasta aproximadamente 0.30%, o desde
5 aproximadamente 0.00025% hasta aproximadamente 0.25%, o desde
aproximadamente 0.0025% hasta aproximadamente 0.25%, o desde
aproximadamente 0.025% hasta aproximadamente 0.25%, o desde
aproximadamente 0.00025% hasta aproximadamente 0.20%, o desde
aproximadamente 0.0025% hasta aproximadamente 0.20%, o desde
10 aproximadamente 0.025% hasta aproximadamente 0.20%, o desde
aproximadamente 0.00025% hasta aproximadamente 0.15%, o desde
aproximadamente 0.0025% hasta aproximadamente 0.15%, o desde
aproximadamente 0.025% hasta aproximadamente 0.15%, o desde
aproximadamente 0.00025% hasta aproximadamente 0.10%, o desde
15 aproximadamente 0.0025% hasta aproximadamente 0.10%, o desde
aproximadamente 0.025% hasta aproximadamente 0.10%, o desde
aproximadamente 0.00025% hasta aproximadamente 0.05%, o desde
aproximadamente 0.0025% hasta aproximadamente 0.05%, o desde
aproximadamente 0.025% hasta aproximadamente 0.05% en peso de
20 saponinas.

En algunas realizaciones, la saponina se puede
proporcionar mediante un extracto vegetal, tal como *Quillaja*
saponaria, extracto de *Yucca schidigera*, extracto de castaño de
25 indias, extracto de semilla de té, extracto de soja y

combinaciones de los mismos. En una realización preferente de la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención, el extracto vegetal es un extracto de *Quillaja saponaria* y comprende de aproximadamente 0.004 a aproximadamente 0.5%, o de

5 aproximadamente 0.04 a aproximadamente 0.5%, o de aproximadamente 0.04 a aproximadamente 0.5%, o de aproximadamente 0.4 a aproximadamente 0.5%, o de aproximadamente 0.004 a aproximadamente 0.4%, o de aproximadamente 0.04 a aproximadamente 0.4%, o alrededor de

10 0.04 a alrededor de 0.4%, alrededor de 0.004 a alrededor de 0.3%, o alrededor de 0.04 a alrededor de 0.3%, o alrededor de 0.04 a alrededor de 0.3%, alrededor de 0.004 a alrededor de 0.2%, o alrededor de 0.04 a alrededor de 0.2%, o alrededor de 0.04 a aproximadamente 0.2%, aproximadamente 0.004 a

15 aproximadamente 0.1%, o aproximadamente 0.04 a aproximadamente 0.1%, o aproximadamente 0.04 a aproximadamente 0.1% en peso de extracto de *Quillaja saponaria*.

El extracto de *Quillaja* es un compuesto apto para

20 alimentos que tiene una alta capacidad hidrófila de saponinas y puede formar emulsiones estables de aceite en agua (O/W). Las emulsiones formadas son estables en condiciones ácidas y en presencia de sales. En la presente invención, las propiedades similares a los tensioactivos de las saponinas, como las que se

encuentran en el extracto de *Quillaja* se utilizan para producir un desinfectante a base de emulsión altamente eficaz.

En la presente invención, el uso de biotensioactivo natural *Quillaja* y el sorbato de potasio ofrece varias ventajas con respecto a la seguridad y conveniencia generales, el tamaño más pequeño de las micelas de la nanoemulsión y las propiedades antibactericidas y antimicrobianas efectivas como se describe a continuación. El presente trabajo utiliza las propiedades tensioactivas de sistemas tensioactivos mixtos aptos para alimentos de saponinas de *Quillaja* y un co-tensioactivo de calidad alimentaria como el sorbato de potasio. La aplicación práctica de las invenciones proporciona una alternativa necesaria a los antimicrobianos más tóxicos y engorrosos que se utilizan en la actualidad. En combinación con *Quillaja* y otros disolventes polares pequeños, el sorbato proporciona micelas más pequeñas en comparación con otros tensioactivos comunes disponibles en el mercado y otros tensioactivos a base de detergentes.

20

Agente de ajuste de pH

En una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención comprende además de aproximadamente 0.0002% a aproximadamente 0.3% en peso de un agente de ajuste

25

del pH. En una realización de la presente invención, el agente de ajuste del pH se usa para mantener el equilibrio iónico de la formulación. Ejemplos no limitativos de agentes de ajuste de pH de acuerdo con una realización de la presente invención

5 incluyen al menos ácido cítrico, ácido láctico, ácido clorhídrico, ácido bórico, ácido acético, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, ácido sulfúrico, carbonato de calcio (CaCO_3), carbonato de amonio, bicarbonato de amonio, citrato de amonio, citrato de sodio, carbonato de magnesio, carbonato de

10 sodio, fosfato mono, di y/o trisódico, fosfato mono, di y/o tripotásico, tris(hidroximetil) aminometano (TRIS), aminoácidos y zwitteriones, como la glicina, 2-amino-2metil-1,3-propanodiol (AMPD), Ácido N- (1,1-dimetil-2-hidroxietyl)-3-amino-2-hidroxiopropanosulfónico (AMPSO), N-glicilglicina (Gly-Gly),

15 ácido 4-(2-hidroxietyl)piperazina-1-propanosulfónico (EPPS o HEPPS), Ácido 3- (ciclohexilamino) -1-propanosulfónico (CAPS), Ácido 3-(ciclohexilamino)-2-hidroxi-1-propanosulfónico (CAPSO), Ácido 2-(ciclohexilamino)etanosulfónico (CHES), ácido N,N-bis [2-hidroxietyl]-2-aminoetanosulfónico (BES), (Ácido 2-[2-

20 hidroxil-1,1-bis(hidroximetil)etilamino]etanosulfónico) (TES), ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES), N-[Tris (hidroximetil)metil]glicina (tricina); Ácido N-tris(hidroximetil)metil-3-aminopropanosulfónico (TAPS) y ácido 3-N-morfolinopropanosulfónico (MOPS), ácido piperazina-N,N'-bis

25 [2-hidroxiopropanosulfónico] (POPSO) y combinaciones de los

mismos. En una realización adicional de la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención, el agente de ajuste del pH es al menos ácido cítrico.

5 En una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención comprende un rango de pH que varía de aproximadamente 6 a aprox. 9.

Las formulaciones de la presente invención pueden

10 comprender de aproximadamente 0.0002% a aproximadamente 0.3%, o de aproximadamente 0.002% a aproximadamente 0.3%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 0.3%, o de aproximadamente 0.2% a aproximadamente 0.3%, o de aproximadamente 0.0002% a aproximadamente 0.2%, o de

15 aproximadamente 0.002% a aproximadamente 0.2%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 0.2%, o de aproximadamente 0.0002% a aproximadamente 0.1%, o de aproximadamente 0.002% a aproximadamente 0.1%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 0.1%, o de

20 aproximadamente 0.0002% a aproximadamente 0.05%, o de aproximadamente 0.002% a aproximadamente 0.05%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 0.05%, o de aproximadamente 0.0002% a aproximadamente 0.005%, o de aproximadamente 0.002% a aproximadamente 0.005%, o de

aproximadamente 0.0002% a aproximadamente 0.0005% en peso del agente de ajuste del pH.

Vitamina C

5

En algunas realizaciones, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención puede comprender vitamina C, también conocida como ácido ascórbico y ascorbato. La formulación de nanoemulsión acuosa comprende de aproximadamente 10 0,002 a aproximadamente 10%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 10%, o de aproximadamente 0.2% a aproximadamente 10%, o de aproximadamente 1% a aproximadamente 10%, o aproximadamente 2% hasta aproximadamente el 10%, o desde aproximadamente el 3% hasta aproximadamente el 10%, o desde 15 aproximadamente el 4% hasta aproximadamente el 10%, o desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 10%, o desde aproximadamente el 6% hasta aproximadamente el 10%, o desde aproximadamente el 7% a aproximadamente 10%, o de aproximadamente 8% a aproximadamente 10%, o de aproximadamente 20 9% a aproximadamente 10%, o de aproximadamente 0.002 a aproximadamente 9%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 9%, o de aproximadamente 0,2% a aproximadamente el 9%, o desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 9%, o desde aproximadamente el 2% hasta aproximadamente el 9%, 25 o desde aproximadamente el 3% hasta aproximadamente el 9%, o

desde aproximadamente el 4% hasta aproximadamente el 9%, o
 desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 9%, o
 desde aproximadamente el 6% hasta aproximadamente el 9%, o
 desde aproximadamente el 7% hasta aproximadamente el 9%, o
 5 desde aproximadamente el 8% hasta aproximadamente el 9%, o
 desde aproximadamente el 0.002 hasta aproximadamente el 8%, o
 desde aproximadamente el 0.02% hasta aproximadamente 8%, o de
 aproximadamente 0.2% a aproximadamente 8%, o de aproximadamente
 1% a aproximadamente 8%, o de aproximadamente 2% a
 10 aproximadamente 8%, o de aproximadamente 3% a aproximadamente
 8%, o de aproximadamente 4% a aproximadamente 8%, o de
 aproximadamente 5% a aproximadamente 8%, o aproximadamente 6% a
 aproximadamente 8%, o aproximadamente 7% a aproximadamente 8%,
 o aproximadamente 0.002 a aproximadamente 7%, o aproximadamente
 15 0.02% a aproximadamente 7%, o aproximadamente 0.2% a
 aproximadamente 7%, o de aproximadamente 1% a aproximadamente
 7%, o de aproximadamente 2% a aproximadamente 7%, o de
 aproximadamente 3% a aproximadamente 7%, o de aproximadamente
 4% a aproximadamente 7%, o de aproximadamente 5% a
 20 aproximadamente 7%, o de aproximadamente 6% a aproximadamente
 7%, o de aproximadamente 0.002 a aproximadamente 6%, o de
 aproximadamente 0.02% a aproximadamente 6%, o de
 aproximadamente 0.2% a aproximadamente 6%, o de aproximadamente
 1% a aproximadamente 6% %, o de aproximadamente 2% a
 25 aproximadamente 6%, o de aproximadamente 3% a aproximadamente

6%, o de aproximadamente 4% a aproximadamente 6%, o de aproximadamente 5% a aproximadamente 6%, o de aproximadamente 0.002 a aproximadamente 5%, o desde aproximadamente el 0.02% hasta aproximadamente el 5%, o desde aproximadamente el 0.2% hasta aproximadamente el 5%, o desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 5%, o desde aproximadamente el 2% hasta aproximadamente el 5%, o desde aproximadamente el 3% hasta aproximadamente el 5%, o de aproximadamente 4% a aproximadamente 5%, o de aproximadamente 0.002 a aproximadamente 4%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 4%, o de aproximadamente 0.2% a aproximadamente 4%, o de aproximadamente 1% a aproximadamente 4%, o desde aproximadamente el 2% hasta aproximadamente el 4%, o desde aproximadamente el 3% hasta aproximadamente el 4% %, o de aproximadamente 0.002 a aproximadamente 3%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 3%, o de aproximadamente 0.2% a aproximadamente 3%, o de aproximadamente 1% a aproximadamente 3%, o de aproximadamente 2% a aproximadamente 3%, o de aproximadamente 0.002 a aproximadamente 2%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 2%, o de aproximadamente 0.2% a aproximadamente 2%, o de aproximadamente 1% a aproximadamente 2%, o de aproximadamente 0.002 a aproximadamente 1%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 1%, o de aproximadamente 0.2% a aproximadamente 1%, o de aproximadamente

0.002 a aproximadamente 0.2%, o de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 0.2%, o de aproximadamente 0.002 a aproximadamente 0.02% en peso de vitamina C.

5 En una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención comprende:

a) de aproximadamente un 0.05% a aproximadamente un 55% en peso de aceite;

10

b) de aproximadamente un 0.005% a aproximadamente un 7.5% en peso de isopropanol;

15

c) de aproximadamente un 0.02% a aproximadamente un 30% en peso de glicerol;

d) de aproximadamente un 0.02% a aproximadamente un 27% en peso de lactato de butilo;

20

e) de aproximadamente un 0.01% a aproximadamente un 25% de sorbato de potasio;

25

f) de aproximadamente 0.0004% a aproximadamente 0.5% en peso de extracto de *Quillaja saponaria*, en una cantidad suficiente para formar una nanoemulsión del aceite en agua;

g) de aproximadamente un 0.0002% a aproximadamente un 0.3% en peso de ácido cítrico; y

5 h) suficiente agua para hacer el 100 por ciento en peso.

En una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención no comprende tensioactivo adicional. La formulación de nanoemulsión acuosa puede estar libre de cualquier tensioactivo no natural que pueda considerarse
10 perjudicial para cultivos o semillas, por ejemplo.

En una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención no comprende desinfectantes, pesticidas o sanitizantes adicionales. La formulación de
15 nanoemulsión acuosa puede estar libre de cualquier ingrediente adicional que tenga una actividad desinfectante, pesticida o sanitizante adicional sobre la del aceite de tomillo y los ingredientes descritos en el presente documento que tengan tales actividades.

20

En una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención comprende un rango de pH que varía de aproximadamente 6 a aprox. 9.

Tensioactivos

En otra realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención puede comprender además un
5 tensioactivo. Como se usa en este documento, el término "tensioactivo" pretende significar los compuestos anfifílicos que tienen grupos hidrófobos (a menudo denominados "colas") y grupos hidrófilos (a menudo denominados "cabezas"). También se denominan detergentes y son distintos de las saponinas
10 descritas anteriormente. Un tensioactivo (agente tensioactivo) generalmente se refiere a una sustancia que, cuando se disuelve en agua u otros sistemas acuosos, reduce la tensión superficial o interfacial entre él y otra sustancia o material.

15 En una realización de la presente invención, el tensioactivo ayuda en la dispersión o emulsificación de los aceites esenciales dentro del vehículo acuoso. En una realización adicional de la presente invención, el tensioactivo aumenta el número de micelas en la nanoemulsión y amplifica el
20 efecto antimicrobiano de la formulación acuosa de nanoemulsión.

Los ejemplos no limitantes de tensioactivos según una realización de la presente invención incluyen:

1. Alfa sulfo metil aniónico metil 2-sulfolaurato de sodio
149458--07-1
2. Óxido de difenilo aniónico difenilo dodecil de sodio 1
19345--04-9
- 5 3. Óxido de difenilo aniónico óxido de difenilo decil de
sodio 36445--71-3
4. Dodecil benceno de sodio aniónico 68081--81-2
5. Dodecil benceno aniónico Dodecil benceno sulfónico 68584--
22-5
- 10 6. Éter carboxilato aniónico Ácido carboxílico caprílico-9
53563--70--5 y Ácido carboxílico hexanal-4 105391-15-9
7. Éter carboxilato aniónico Lauril etoxilato ácido glicólico
27306--90-7
8. Isetionato aniónico Cocoil isetionato de sodio 61789--32-0
- 15 9. Lauril éter sulfato aniónico Lauril éter sulfato de sodio
9004--82-4
10. Lauril sulfato aniónico Lauril sulfato de sodio 151--21-3
11. Lauril sulfato aniónico Lauril de trietanolamina 90583--
18-9
- 20 12. Lauril sulfato aniónico Lauril sulfato de magnesio 3097-
08-3
13. Éster fosfato aniónico Fosfato de nonoxinol-10 51609--41-7
14. Éster fosfato aniónico Decil-4 fosfato 68921--24-4
15. Fosfanatos aniónicos Ácido aminotrismetilenfosfónico
20592--85-2
- 25

16. Fosfanatos aniónicos Ácido 1-hidroxietiledieno-1,1,-difosfórico 2809--21 -4
17. Sarcosinato aniónico Lauroil sarcosinato de sodio 137--16-6
- 5 18. Sulfosuccinatos aniónicos Lauriletoxi disódico 68815--56-5
19. Xilen sulfonato aniónico Xilen sulfonato de sodio 1300--72-7
20. Óxido de amina catiónica Óxido de laurilamina 1643--20-5
21. Óxido de amina catiónica Óxido de cocamidopropilamina
10 68155--09-9
22. Óxido de amina catiónica Óxido de lauril 61792--31--2/miristil 67806--10--4 amidopropilamina
23. Óxido de amina catiónica Amina de sebo + 2 EO 61791--46-6
24. Óxido de amina catiónica Óxido de miristamina 3332--27-2
- 15 25. Compuesto de onio catiónico Etanosulfonato de morfolina de soya 61791-34-2
26. Dioleiloiletil cuaternizado catiónico 94095--35-9
27. Cuaternizado catiónico Quaternium 18 (Distearil 61789--80--8)
- 20 28. Cuaternizado catiónico Alquil dimetil bencil 68424--85-1
29. Cuaternizado catiónico Quaternium 12 (Distearil 7173--51--5)
30. Cuaternizado catiónico Dialquil dimetil de amonio 68424--95-3
- 25 31. Betaína anfotérica Cocamidopropil Betaína 61789--40-0

32. Betaína anfotérica cetil betaína 693--33--4 y 0683-10-3
33. Betaína anfotérica Lauramidopropil Betaína 4292-10-8
34. Imidazol anfotérico disódico 68604--71--7 Compuesto
cocoanfodipropionato
- 5 35. Imidazol anfotérico disódico 68650--39--5 Compuesto
cocoanfodiacetato
36. Imidazol anfotérico Compuesto cocoanfoacetato de sodio
68608--65--1
37. Sultaína anfotérica Lauril hidroxisultaína 13197--76-7
- 10 38. Alcohol etoxilato no iónico Alcohol lineal (C1 1) 34398-
01-1 Etoxilato, POE-7
39. Alcohol etoxilato no iónico Alcohol lineal (C9-1 1) 68439-
-46--3 etoxilato, POE-2.5
40. Alcohol etoxilato no iónico Lauril alcohol etoxilato 9002-
-92-0
- 15
41. Alcohol etoxilado no iónico Alcohol secundario 84133--50-7
42. Alcanolamidas no iónicas Tridecil-2 Carboxamida 107628-04-
6
43. Alcanolamidas no iónicas PEG-4 Amida de semilla de colza
85536-23-8
- 20
44. Alcanolamidas no iónicas PEG 5 Cocamida 68425-445
45. Alcanolamidas no iónicas Cocamida 68603-42-9
46. Alcanolamidas no iónicas Lauramida MEA 142-78-9
47. Alcanolamidas no iónicas Cocamida MEA 68140-00-1
- 25 48. Alcanolamidas no iónicas Lauramida DEA 120-40-1

49. Alcanolamidas no iónicas Oleamida DEA 93-83-4
50. Poliglicósidos alquílicos no iónicos Caprilil/Miristil glucósido 68515-73-1 y 1 10615-47-9
51. Poliglicósidos alquílicos no iónicos Lauril/Miristil glucósido 1 10615-47-9
52. Poliglicósidos alquílicos no iónicos Caprilil/Decil glucósido 68515-73-1
53. Amida N no iónica, N-dimetildecanamida 14433-76-2
54. Biosurfactante soforolipídico no iónico - Ésteres no iónicos isopropil miristato 1 10-27-0
55. Ésteres no iónicos isopropil palmitato 142-91-6
56. Ácido graso no iónico, Glycereth-17 Cocoato de origen natural 68201-46-7
57. Ácido graso no iónico, Glycereth-6 Cocoato de origen natural 68201-46-7
58. Ácido graso no iónico, Gliceril PEG/PPG-6/2 72245-1-1-5 Cocoato de origen natural
59. Alcohol graso no iónico Alcohol cetoestearílico 67762-27-0
60. Amina grasa no iónica PEG 2 Cocamina 61791-14-8
61. Amina grasa no iónica PEG 2 Amina de sebo 61791-26-2
62. Acilglicérido no iónico Glycereth-7 36145938-3
63. Acilglicérido no iónico Triglicérido caprílico/cáprico 73398-61-5
64. Acilglicérido no iónico Gliceril oleato 37220-82-9
65. Acilglicérido no iónico Gliceril estearato 123-94-4

- 66. Lactato no iónico Lauril Lactil Lactato 910661-93-7
- 67. Éster de sorbitano no iónico Polisorbato 80 9005-65-6
- 68. Lecitina 8002-43-5
- 69. Éter oleilpolioxietileno (20) 9004-98-2
- 5 70. Éter hexadecil glicol polietileno (20) Éter cetil
polioxietileno 2724259
- 71. Éter oleil glico polietileno(2) Éter oleil polioxietileno
9004-98-2
- 72. Éter hexadecil glicol polietileno (10) Éter cetil
10 polioxietileno 9004-95-9
- 73. Éter dodecil glicol polietileno (4) Éter lauril
polioxietileno 9002-92-0
- 74. Éter estearil polioxietileno 9005-00-9;
- 75. Éter octadecil glicol polietileno (10) Éter estearil
15 polioxietileno 9005-00-9
- 76. Tetronic 90R4 26316-40-5
- 77. Tetronic 701 26316-40-5
- 78. Éter isooctilfenil polioxietileno (12) Éter octilfenil
polioxietileno (12), ramificado 9002-93-1
- 20 79. Éter tridecil polioxietileno (12) 78330-21-9
- 80. PEG-PPG-PEG Pluronic® L-64

Otros agentes emulsionantes

En otra realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención puede tener además otro agente emulsionante; es decir, agentes distintos de los tensioactivos discutidos anteriormente. Dicho agente emulsionante incluye, pero no se limita a, lecitina de yema de huevo, lecitina de soya, mostaza, fosfato de sodio, mono y diglicéridos, estearoil lactilato de sodio, éster de ácido diacetil tartárico de monoglicérido, celulosa, ácido oleico (oleato). Según una realización preferida, el agente emulsionante adicional es ácido oleico. El ácido oleico como su sal de sodio es un componente principal del jabón como agente emulsionante. También se utiliza como emoliente.

15

Agua

En una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención es un concentrado que comprende agua. El agua en la formulación del concentrado se usa en un porcentaje bajo para mantener la polaridad y solubilidad de la formulación y llevar el volumen total al 100%.

20

Fragancias

Los compuestos fenólicos suelen tener un olor acre
5 asociado que dificulta gravemente la aplicación. En una
realización, las composiciones pesticidas de la presente
invención pueden por tanto comprender además uno o más agentes
que tienen la doble función de mejorar más las propiedades
desinfectantes de las composiciones mientras les imparten un
10 olor más agradable. En otra realización más de la presente
invención, las composiciones pesticidas de la presente
invención pueden comprender además uno o más agentes que les
imparten un olor agradable (agente de fragancia). Los ejemplos
no limitantes de agentes que imparten un olor agradable y/o
15 potencian las propiedades desinfectantes comprenden carvacrol,
cimeno, cineol, eugenol, timol, mentol, citral y limoneno.
Otros ejemplos adecuados de tales agentes están dentro de la
capacidad de un técnico experto.

20 La composición pesticida de la presente invención puede
usarse sola o en combinación con una o más sustancias que se
usan en entornos agrícolas, es decir, como parte de
suplementos. Los ejemplos de sustancias incluyen pero no se
limitan a pesticidas, tales como desinfectantes, fungicidas,
25 bactericidas, virucidas, repelentes de insectos, repelentes de

artrópodos, nematocidas, insecticidas, acaricidas, herbicidas y reguladores del crecimiento de plantas. Las sustancias también incluyen fertilizantes, como fertilizantes inorgánicos, fertilizantes nitrogenados, fertilizantes de potasio, fertilizantes de fosfato, fertilizantes orgánicos, estiércol, composta, fosfato de roca, harina de huesos, alfalfa, astillas de madera, langbeinita, cultivos de cobertura, sulfato de potasio, polvo de roca, ceniza, harina de sangre, harina de pescado, emulsión de pescado, algas, quitosano y melaza. Las sustancias también incluyen desespumantes tales como aceite mineral, aceite vegetal, cera de parafina, cera de éster, sílice, alcohol graso, silicona, polietilenglicol, copolímeros de polipropilenglicol y poliacrilatos de alquilo.

15 **Pesticidas**

La mayoría de las medidas de control están dirigidas contra el inóculo del patógeno e involucran los principios de exclusión, erradicación, protección, resistencia y selección del huésped y terapia. Las medidas de control incluyen el control de vectores de patógenos (insectos y nematodos, por ejemplo) y el control químico (pesticidas). Hay una variedad de productos químicos disponibles que han sido diseñados para controlar las enfermedades de las plantas inhibiendo el crecimiento (por ejemplo, inactivando o desactivando los

patógenos) o matando los patógenos que causan enfermedades. Los productos químicos utilizados para controlar bacterias (bactericidas), hongos (fungicidas) y nematodos (nematicidas) se pueden aplicar a semillas, follaje, flores, frutos o el

5 suelo. Los tratamientos del suelo están diseñados para matar nematodos, hongos y bacterias que habitan en el suelo. Esta erradicación se puede lograr utilizando vapor o fumigantes químicos. Los nematodos del suelo se pueden matar aplicando nematicidas granulares o líquidos. La mayor parte del suelo se

10 trata antes de plantar; sin embargo, ciertos fungicidas se pueden mezclar con el suelo en el momento de la siembra. Las semillas, bulbos, cormos y tubérculos se tratan con frecuencia con productos químicos para erradicar bacterias patógenas, hongos y nematodos y para proteger las semillas contra los

15 organismos del suelo, principalmente hongos, que provocan la descomposición y el humedecimiento. Las semillas a menudo se tratan con fungicidas sistémicos que se absorben y brindan protección para las plántulas en crecimiento. Los aerosoles y polvos protectores aplicados al follaje y la fruta de cultivos

20 y plantas ornamentales incluyen una amplia gama de productos químicos orgánicos diseñados para prevenir infecciones. Los protectores no se absorben ni se trasladan a través de la planta; por lo tanto, protegen solo aquellas partes de la planta tratadas antes de la invasión del patógeno. A menudo es

25 necesaria una segunda aplicación porque la sustancia química

puede ser eliminada por el viento, la lluvia o el riego o puede ser degradada por la luz solar. El crecimiento nuevo y no tratado también es susceptible a la infección. Constantemente se desarrollan nuevos productos químicos.

5

Aparte de las enfermedades de las plantas causadas por los organismos enumerados anteriormente, los animales como los roedores y las aves son responsables de importantes daños previos a la cosecha. A escala mundial, se estimó recientemente
10 que casi 280 millones de personas desnutridas podrían beneficiarse adicionalmente si se prestara más atención a reducir las pérdidas por roedores antes y después de la cosecha. Los roedores son peligrosos, ya que pueden amplificar los patógenos del medio ambiente y formar reservorios de
15 enfermedades (zoonóticas). Con la aplicación de métodos adecuados de control de roedores, es posible reducir los peligros de las enfermedades transmitidas por roedores en áreas donde los humanos, los animales comestibles y los roedores viven cerca unos de otros. Estas medidas de control incluyen
20 repelentes de aves y animales y antimicrobianos para controlar los patógenos introducidos por ellos.

Cualquier organismo que dañe los cultivos o reduzca la fertilidad de la tierra puede definirse como una plaga. Estos
25 incluyen hongos, bacterias, virus, insectos, nematodos,

parásitos, gasterópodos, artrópodos, caracoles, babosas, vertebrados (mamíferos y aves), algas, etc. Los productos químicos utilizados para matar o repeler plagas se denominan pesticidas. Según lo informado por la EPA, aquí hay una lista

5 de ejemplos de pesticidas:

	Pesticida	Organismo objetivo (plaga)
	Alguicidas	Controlan las algas en lagos, canales, piscinas, tanques de agua y otros sitios.
	Agentes antiincrustantes	Matan o repelen los organismos que se adhieren a las superficies submarinas, como los fondos de los barcos.
	Antimicrobianos	Matan microorganismos (como bacterias y virus).
10	Atrayentes	Atraen plagas (por ejemplo, para atraer a un insecto o roedor a una trampa). (Sin embargo, los alimentos no se consideran pesticidas cuando se usan como atrayentes).
	Biocidas	Matan los microorganismos.
	Biopesticidas	Los biopesticidas son ciertos tipos de pesticidas derivados de materiales naturales como animales, plantas, bacterias y ciertos minerales.
	Desinfectantes y sanitizantes	Matan o inactivan los microorganismos que producen enfermedades en los objetos inanimados.
	Fungicidas	Mata hongos (incluidos tizón, mildiu, moho y roya)
	Fumigantes	Producen gas o vapor destinado a destruir plagas en edificios o el suelo.
	Herbicidas	Eliminan las malas hierbas y otras plantas que crecen donde no son deseadas.
15	Insecticidas	Matan insectos y otros artrópodos.
	Miticidas (también llamados acaricidas)	Matan a los ácaros que se alimentan de plantas y animales.
	Pesticidas microbianos	Microorganismos que matan, inhiben o compiten con las plagas, incluidos insectos u otros microorganismos.
	Molusquicidas	Matan caracoles y babosas.
	Nematicidas	Matan nematodos (organismos microscópicos parecidos a gusanos que se alimentan de las raíces de las plantas).
	Ovicidas	Matan los huevos de insectos y ácaros.
	Feromonas	Bioquímicos utilizados para alterar el comportamiento de apareamiento de los insectos.
	Repelentes	Repelen plagas, incluidos insectos (como los mosquitos) y aves.
20	Raticidas	Controlan ratones y otros roedores.
	Defoliantes	Hacen que las hojas u otro follaje caigan de una planta, generalmente para facilitar la cosecha.
	Desecantes	Promueven el secado de tejidos vivos, como las copas de las plantas no deseadas.
	Reguladores del crecimiento de insectos	Interrumpen la muda, la madurez desde la etapa de pupa hasta la edad adulta u otros procesos de vida de los insectos.
	Reguladores del crecimiento vegetal	Sustancias (excluyendo fertilizantes u otros nutrientes para plantas) que alteran la tasa de crecimiento, floración o reproducción esperada de las plantas.

Los pesticidas incluyen una amplia variedad de sustancias que normalmente se dirigen a plagas específicas. Los principales grupos químicos representados por pesticidas se resumen en la Tabla 3:

	GRUPO QUÍMICO	TIPO DE PESTICIDA
	Acetamida	Herbicida
	Acilalanina + Carboxamida + Ditiocarbamato + Neonicotinoide	fungicida/insecticida
	Acilalanina + Triazol	Fungicida
	Acilalaninas	Fungicida
	Acilalaninas + Cloronitrilos	Fungicida
10	Amida	Herbicida
	Amida/anilina	Insecticida
	Anilida	Fungicida
	Anilino Pirimidina	Fungicida
	Antibiótico	Fungicida
	Ariloxifenoxi propionato	Herbicida
	Ácidos ariloxifenoxi	Herbicida
	Avermectina, alcohol	miticida
	Benzamida	Herbicida
	Benzamida + Ditiocarbamato	Fungicida
	Bencenamina	Raticida
15	Bencimidazol	Fungicida
	Bencimidazol + Organofosfato + Ácido ftálico	insecticida/fungicida
	Ácido benzoico	Herbicida
	Benzotiadiazol	Herbicida
	Bipiridilio	Herbicida
	Carbamato (por ejemplo, aldicarb, carbofurano, carbaril, etienocarb, fenobucarb, oxamil y metomil)	Fungicida/regulador del crecimiento/insecticida/acaricida/nematicida
	Carbamato + Cloronitrilo	Fungicida
	Carboxamida	Fungicida
	Carboxamida + Ditiocarbamato + Neonicotinoide	fungicida/insecticida
20	Ácido carboxílico	Herbicida
	Hidrocarburo clorado	Regulador del crecimiento vegetal
	Cloroacetamida	Herbicida
	Cloro-nicotinilo	Insecticida
	Cloronitrilo	Fungicida
	Clorofenol	Fungicida
	Clorofenilo	Fungicida
	Cumarina	Raticida
	Cianoacetamida-	Fungicida
	Ciclohexanodiona	Herbicida/regulador del crecimiento vegetal
	Ciclohexanotriona	Regulador del crecimiento
25	Dicarboximida	Fungicida

	Dinitroanilina	Herbicida
	Difeniléter	Herbicida
	Ditiocarbamato	fumigante, nematicida, fungicida, raticida, insecticida
	Ácido graso	insecticida/herbicida
	Glicina	Herbicida
	Guanidina	Fungicida
5	Hidrocarburos halogenados	Fumigante
	Hidroxianilida	Fungicida
	Hidroxicumarina	Raticida
	Imidazolinona	Herbicida
	Indanodiona	raticida y repelente de ciervos
	Inorgánico	Fungicida, alguicida, insecticida, raticida
	Microbiano	Bactericida, insecticida,
	Morfolina	Fungicida
	Neonicotinoide + Triazol +	insecticida/fungicida
10	Acilalanina + Fenilpirrol	
	Nicotina	Insecticida
	Nitrilo	Herbicida
	Derivado de nitro	Fungicida
	nitroguanidina	Insecticida
	Ácido orgánico	Herbicida, regulador del crecimiento vegetal
	Organoclorado	Insecticida, miticida
	Organometálico	Fungicida, acaricida
	Organofosforado	insecticida/acaricida/nematicida
15	Organofosfato + Ácido ftálico	insecticida/fungicida
	Oxadiazol	Herbicida
	Fenoxi	Herbicida
	Carbamato de fenilo + carbamato de fenilo	Herbicida
	Fenilpirrol + Triazol + Neonicotinoide + Acilalanina	fungicida/insecticida
	Ftalamato	Herbicida
	Ácido ftálico + Organofosfato +	insecticida/fungicida
20	Bencimidazol	
	Ftalimida	Fungicida
	Piperazina	Fungicida
	Piretrinas	Insecticida
	Piretroide	Insecticida
	Piridazinona	insecticida/miticida
	Amonio cuaternario	Alguicida, desinfectante, herbicida
	Ácido de quinolina	Herbicida
	Estrobilurina	Fungicida

	Benzoilurea sustituida	Insecticida
	Sulfonilurea	Herbicida
	Piretroide sintético	Insecticida
	Tetrazina	miticida
	Tiadiazol	Fungicida
5	Tiocarbamato	Herbicida
	Triazapentadieno	Insecticida
	Triazina	Fungicida
	Triazol	Fungicida
	Uracil	Herbicida
	Urea	Herbicida
	dicloropropeno	Fumigante
	dicloropropeno + clorpicrina	Fumigante
10	metam sodio	fumigante, nematicida
	benzoato de oxina	Fungicida
	formaldehído	fungicida, fumigante
	solvente stoddard	Herbicida
	metaldehído	Molusquicida
	ancymidol	Regulador del crecimiento vegetal
	etefón	Regulador del crecimiento vegetal
	ácido giberélico	Regulador del crecimiento vegetal
	giberelinas + benazladenina	Regulador del crecimiento vegetal
15	hidrazida maleica	Regulador del crecimiento vegetal
	NAA	Regulador del crecimiento vegetal
	naftaleno acetamida	Regulador del crecimiento vegetal
	paclobutrazol	Regulador del crecimiento vegetal
	sólidos de huevo entero putrefactos	Repelentes
	estricnina	Raticida
	fosfuro de zinc	Raticida
20		

Tabla 4. Principales grupos químicos de pesticidas

Un experto en la técnica puede determinar qué cantidad de cualquier plaguicida se puede añadir a las composiciones de la presente invención para obtener el efecto plaguicida deseado.

Fertilizantes y uso combinado de pesticidas y fertilizantes

Los fertilizantes se definen como cualquier material de origen natural o sintético que se agrega al suelo para

5 suministrar uno o más nutrientes vegetales esenciales para el crecimiento de las plantas. Los fertilizantes vienen en varias formas. La forma más común es el fertilizante sólido en forma granulada o en polvo. La siguiente forma más común es el fertilizante líquido. Los fertilizantes generalmente

10 proporcionan, en proporciones variables: seis macronutrientes (nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S)); y ocho micronutrientes (boro (B), cloro (Cl), cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), zinc (Zn) y níquel (Ni)). Los fertilizantes se dividen en

15 términos generales en fertilizantes orgánicos (compuestos de materia orgánica vegetal o animal) o fertilizantes inorgánicos o comerciales. Los fertilizantes inorgánicos incluyen: nitrato de amonio, sulfato de amonio, tiosulfato de amonio, nitrato de calcio y amonio, nitrato de calcio, fosfato de diamonio,

20 fosfato monocálcico, cloruro de potasio, nitrato de potasio, sulfato de potasio y termopotasa. Los fertilizantes orgánicos incluyen: azomita, bioefector, biofertilizante, compost, harina de semilla de algodón, esparcimiento de efluentes, harina de plumas, emulsión de pescado, hidrolizado de pescado, harina de

pescado, estiércol, maxicrop, orujo de almazara, riverm, polvo de roca, fertilizante de algas y pozo de lodo.

Según una realización, en agricultura, los pesticidas se
5 usan para limitar los daños causados por plagas y estimular el crecimiento, y pueden usarse en combinación con fertilizantes. Un experto en la técnica puede determinar qué cantidad de cualquier fertilizante se debe añadir a las composiciones de la presente invención para obtener el efecto fertilizante deseado.

10

Métodos de uso y uso de las formulaciones

En una realización adicional, se describe un método que comprende una etapa para diluir aún más la formulación de
15 nanoemulsión acuosa. Dado que las formulaciones desinfectantes de nanoemulsión se preparan normalmente en el sitio a partir de mezclas de ingredientes en una solución concentrada, se usa agua para las diluciones adicionales según sea necesaria.

20 En otra realización, la formulación desinfectante de nanoemulsión de la presente invención puede usarse para limpiar superficies poniendo en contacto las superficies con una cantidad de la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención.

25

La formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención se puede aplicar sobre una superficie que necesite desinfección por medio de una variedad de técnicas de pulverización. En una realización, la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención se aplica usando un difusor o un atomizador. Alternativamente, la formulación de nanoemulsión de la presente invención también se puede formular en formulaciones de aerosol. Otros medios para aplicar las soluciones de nanoemulsión de la presente invención están dentro de la capacidad de un técnico experto. Las formulaciones de nanoemulsión de la presente invención se pueden aplicar directamente o se pueden diluir antes de la aplicación. Debido a la naturaleza sustancialmente no corrosiva de las formulaciones de nanoemulsión de la presente invención, las formulaciones pueden aplicarse fácilmente sin dañar indebidamente la estructura física existente (es decir, la superficie).

En una realización, se proporciona un método para el control de una plaga de una semilla o una planta, el método comprende poner en contacto la semilla o planta con una cantidad pesticida de la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención. La formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención puede usarse para la desinfección del suelo (fungicida, bactericida, virucida), así como para la

desinfección de vegetales, plantas y materia vegetal, que incluyen entre otros ejemplo, semillas, granos, plantas, árboles, arbustos, raíces, follaje, maleza, frutas, flores, cultivos, injertos y similares. La formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención también puede usarse como repelente de insectos, repelente de artrópodos, pesticida, insecticida, nematocida, acaricida, ovicida, larvicida y adulticida.

10 Los cultivos con los que se puede usar la composición de la presente invención incluyen, por ejemplo entre otros, plátano, manzana, pera, papa, arroz, café, cítricos, cebollas, ginseng, soja, hierba y tomate.

15 Según otra realización, se proporciona un método para regular el crecimiento de una semilla o una planta, el método comprende poner en contacto la semilla o planta con una cantidad reguladora del crecimiento de la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención. Según otra
20 realización más, se describe un método para regular el crecimiento de una planta que comprende poner en contacto un suelo, una semilla, una planta o combinaciones de los mismos, con una cantidad reguladora del crecimiento de la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención.

De acuerdo con una realización, la regulación del crecimiento comprende un aumento en el número de frutas, verduras, bulbos o tubérculos de la planta. De acuerdo con otra realización, la regulación del crecimiento comprende un aumento
5 del tamaño de la fruta, verdura, bulbo o tubérculo de la planta. De acuerdo con otra realización, la regulación del crecimiento comprende un aumento del número de plantas sanas. En otra forma de realización, la regulación del crecimiento puede ser de particular importancia para las plantas cuyo
10 follaje sea de particular interés, como la lechuga u otras variedades de plantas cuyas hojas sean comestibles. Según otra realización, la regulación del crecimiento comprende una estimulación de la maduración del fruto. Según otra realización, la regulación del crecimiento comprende la
15 inhibición del crecimiento de plantas y brotes. De acuerdo con otra realización, regular el crecimiento aumenta la floración. De acuerdo con otra realización, la regulación del crecimiento comprende regular la senescencia de hojas y frutos.

20 La presente invención se entenderá más fácilmente haciendo referencia a los siguientes ejemplos que se dan para ilustrar la invención en lugar de limitar su alcance.

EJEMPLO 1**Evaluación del tamaño de la micela de la nanoemulsión
antimicrobiana utilizando *Quillaja* y sorbato de potasio como
co-tensioactivo**

5

El objetivo de este ejemplo es evaluar el tamaño de las micelas de la formulación de nanoemulsión acuosa de la presente invención en comparación con una nanoemulsión elaborada utilizando tecnología previa.

10

La nanoemulsión antimicrobiana de la presente invención se obtuvo mezclando primero los disolventes, *Quillaja* y sorbato de potasio hasta alcanzar el equilibrio. El aceite de tomillo se añadió lentamente de forma consecutiva para mantener una solubilidad persistente y continua. Luego se agitó la formulación final hasta obtener una solución de homogeneizado transparente, que representa la formación de pequeñas nanoemulsiones. La formulación resultante se analizó al microscopio con un aumento de 40 veces y se comparó con imágenes de una nanoemulsión preparada con lauril sulfato de sodio (SLS).

15

20

25

Las Fig. 1A-B muestran que las nanoemulsiones producidas con las formulaciones de la presente invención dan como resultado la formación de micelas muy pequeñas que tienen un

rango de diámetro de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 30 nm (la imagen de la derecha es la misma imagen que la de la izquierda, pero con barras de escala agregadas). En particular, la Fig. 1A son micrografías electrónicas de Thymox™ Control, una formulación según la presente invención [Listas para usar (RTU); dilución 1/200] con un aumento de 60 000x que muestra un tamaño de nanoemulsiones que varía por ejemplo entre aproximadamente 29 y aproximadamente 33 nm. La Fig. 1B son micrografías electrónicas de Thymox™ Control, una formulación de acuerdo con la presente invención (RTU; dilución 1/200) con un aumento de 100 000x que muestra un tamaño de nanoemulsiones tan pequeño como 10 nm. (la imagen de la derecha es la misma que la de la izquierda, pero con barras de escala agregadas).

15

EJEMPLO 2

Efectos antibacterianos de las nanoemulsiones antimicrobianas que contienen aceite de tomillo según la presente invención

Se prepararon varias formulaciones variando los ingredientes de la composición, así como su concentración. Las composiciones de las diversas formulaciones de nanoemulsión acuosa preparadas y probadas se presentan en la Tabla 5.

25

	Composiciones de formulaciones basadas en % p/p																				
Ingredientes	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16	F17	F18	F19	F20	F25
Aceite de tomillo	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	25	40	40	40	40	27
Isopropanol	14	14	14			14	14	14	14	14	14	14	14	14	7.5	15	7.5		3.5	3.5	4.3
Lactato de N-butilo	43	28							5			51.6	7.5		14	28	14	12	13.5	13	15.8
Oleato	20	20				30		40	48		20	10	40.5			12			33		0
Laurilsulfato sódico			48	41	36		50							48							0
Ácido cítrico			1				3					1.4		1.4							0
Sorbato de potasio							10										10	20		15	18.3
PGME				36																	0
Lauril glucósido					41																0
Glicerol						15		10							5	10	18.5	19	5	18.5	22.5
3% Quillaja + 1% ácido cítrico + 96% H ₂ O															5	10	10	9	5		12.1
Lecitina										48	35										0
H ₂ O		15	14			18	0	13	10	15	8		15	13.6	45.5					10	0
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Tabla 5. Formulaciones acuosas preparadas y probadas

Se probó la eficacia antibacteriana de las formulaciones de nanoemulsión acuosa de la presente invención *in vitro* siguiendo los estándares de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). Las bacterias (*Staphylococcus aureus*) se expusieron a cada formulación durante 30 segundos después de la incubación a 37°C durante 24 horas. Al día siguiente, se contaron las colonias y los resultados se expresaron en una escala logarítmica como una reducción en el número de colonias en comparación con un control positivo con efectos bactericidas conocidos.

Con referencia a la Fig.2, el efecto antibacteriano de las formulaciones de nanoemulsión que contienen aceite de tomillo de una fuente natural (es decir, las formulaciones F15 (1/256) y F15 (1/300)) se probó primero y se comparó con una formulación similar elaborada con cristales de timol sintéticos como control positivo (es decir, la formulación D25b130 que contiene 23% p/p de cristales de timol, 14% p/p de isopropanol, 48% p/p de SLS, 1.4% p/p de ácido cítrico y 13.6% p/p de H₂O). Como se ve, las formulaciones F15 (1/256) y F15 (1/300) que contienen aceite de tomillo natural demostraron una mayor eficacia

antibacteriana en comparación con el control positivo de la formulación D25b130 que contiene cristales de timol sintéticos.

Con referencia a la Fig. 3, también se probó la eficacia antibacteriana de diversas formulaciones de nanoemulsión antimicrobiana, como se describe en la Tabla 5. Como se puede apreciar, las formulaciones F17 (1/256) y F18 (1/256) que contienen *Quillaja* y sorbato de potasio como cotensioactivo tuvieron una mayor eficacia antibacteriana en comparación con las otras formulaciones analizadas.

Con referencia a la Fig. 4, también se analizó la eficacia antibacteriana de las formulaciones de nanoemulsión acuosas basadas en la formulación F25 que comprende aceites de tomillo sintéticos idénticos naturales VDH-1 y VDH-2. Los aceites VDH son Aceites Esenciales Naturales Idénticos, que son copias de aceites esenciales verdaderos que utilizan componentes idénticos aislados de fuentes naturales alternativas. Son aceites sintéticos que tienen la misma acumulación química que los de la planta. Como se ve, las formulaciones F25 (VDH1 (1/200)) y F25 (VDH2 (1/200)) que contienen aceite de tomillo natural demostraron tener una

mayor eficacia antibacteriana en comparación con el control positivo de la formulación D25b130 que contiene cristales de timol sintéticos.

EJEMPLO 3

Efectos antibacterianos de las nanoemulsiones antimicrobianas que contienen aceite(s) de orégano según la presente invención

Para demostrar la versatilidad de las nanoemulsiones de la presente invención con varios aceites esenciales antimicrobianos, se prepararon tres nanoemulsiones basadas en la formulación F25 de la Tabla 5 anterior, pero usando como ingrediente activo uno o ambos de los dos aceites de orégano enumerados en Tabla 6 a continuación. En particular, se preparó una nanoemulsión KEM1 con aceite esencial Orégano Carvacrol Alto a una concentración final del 27%, se preparó una nanoemulsión KEM2 con aceite esencial Orégano Timol Alto a una concentración final del 27% y una nanoemulsión KEM3 con aceite esencial Orégano Carvacrol Alto a una concentración final del 13.5% y aceite

esencial Orégano Timol Alto a una concentración final del 13.5% (resultando en una concentración final del 27% del total de aceites esenciales de Orégano). Todas las formulaciones se mezclaron a temperatura ambiente durante 5 horas. Después de alcanzar la estabilidad, se confirmaron las propiedades de estabilidad adecuadas incubando 2 muestras de cada una de las 3 nanoemulsiones a temperatura ambiente o a 54°C. A continuación, se prepararon soluciones de trabajo para las pruebas de actividad antibacteriana (como se describe a continuación) diluyendo 1 ml de cada formulación de concentrado en 199 ml de agua para dar una dilución final de 1/200 (v/v).

Aceites Esenciales de Orégano	Propiedades de los pesticidas
Orégano Carvacrol Alto (84% de contenido de carvacrol; de KEMIN)	Bactericida, Fungicida
Orégano Timol Alto (86% de contenido de timol; de KEMIN)	Bactericida, Fungicida

Tabla 6. Aceites esenciales de orégano utilizados para la preparación de la nanoemulsión antimicrobiana según la presente invención.

Prueba de ensayo de pulverización EPA

Para evaluar la actividad antibacteriana, las nanoemulsiones KEM1, KEM2 y KEM3 fueron sometidas a un prueba de pulverización siguiendo los estándares de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). En esta prueba, las nanoemulsiones KEM1, KEM2 y KEM3 se rocían en cubreobjetos precargados con *Staphylococcus aureus* y los cubreobjetos se incuban en tubos que contienen medio de cultivo. Después de 2 días de cultivo, el número de tubos libres de crecimiento de *Staphylococcus aureus* se expresa como un porcentaje que representa la eficacia antibacteriana de las formulaciones KEM1, KEM2 y KEM3. La condición de control positivo utilizó CO-LCL (Thymox-CO) disponible comercialmente, que tenía una concentración final de timol de 0.207%. El CO-LCL es un producto de control hecho de cristal de timol (es decir, no a base de

aceite), disolvente [éter metílico de propilenglicol (PGME)] y tensioactivo [lauril sulfato de sodio (SLS)].

Como se muestra en la Fig. 5, las tres nanoemulsiones KEM1, KEM2 y KEM3 mostraron una eficacia antibacteriana muy alta durante la prueba de ensayo de pulverización y fueron generalmente comparables al control positivo.

Prueba antimicrobiana en seco contada en Petri (PAMB)

Para evaluar más a fondo la actividad antibacteriana, las nanoemulsiones KEM1, KEM2 y KEM3 se sometieron a una prueba cuantitativa que compara la eficacia de una nanoemulsión determinada en función de su capacidad para prevenir la formación de colonias bacterianas, la denominada Prueba antimicrobiana en seco contada en Petri (PAMB). Brevemente, las nanoemulsiones KEM1, KEM2 y KEM3 se agregaron a placas de Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus* 10^6 y la reducción logarítmica en el número de colonias se contó después de un período de incubación de 24 horas, donde una mayor reducción logarítmica representa una mayor actividad antibacteriana. La condición de control positivo utilizó nuevamente CO-LCL disponible comercialmente, que tenía una concentración final de timol de 0.207%.

Como se muestra en la Fig.6, el control positivo de CO-LCL obtuvo una puntuación de reducción logarítmica de 2.85, mientras que las tres formulaciones KEM1, KEM2 y KEM3 obtuvieron una eficacia antibacteriana significativamente mayor con una puntuación de reducción logarítmica de casi 5.50, destacando la actividad antimicrobiana superior de la nanoemulsión KEM1, KEM2 y KEM3 sobre el control positivo CO-LCL.

EJEMPLO 4

Efectos antibacterianos de las nanoemulsiones antimicrobianas que contienen otra(s) fuente(s) de aceite(s) esencial(es) según la presente invención

Para demostrar aún más la versatilidad de las nanoemulsiones de la presente invención con respecto a los aceites esenciales antimicrobianos, se prepararon varias nanoemulsiones basadas en la formulación de la Tabla 7.

Ingredientes	P/V%
Aceite esencial	15
Glicerol	27
Isopropanol	4.5
Lactato de butilo	25

Sorbato de potasio	18.5
3% <i>Quillaja</i> + 1% ácido cítrico + 96% H ₂ O	10
Total	100

Tabla 7. Formulación utilizada para producir las nanoemulsiones de la presente invención con aceite(s) esencial(es) distintos al aceite de tomillo y el aceite de orégano

En la Tabla 8 se muestran ejemplos de fuentes de aceites esenciales que se pueden usar para preparar la formulación de nanoemulsión de la Tabla 7. Estos aceites esenciales, que pueden ser, por ejemplo, aceite de romero, cinamaldehído y/o citral, tienen principalmente propiedades insecticidas y acaricidas y se utilizan en la industria, el hogar o la agricultura.

Aceites esenciales	Propiedad pesticida
Romero-1 (KEMIN)	Insecticida/miticida
Romero-2 (KEMIN)	Insecticida/miticida
Mezcla KEMIN	Insecticida/miticida
Romero (Rakesh)	Insecticida/miticida
Romero (Katyani)	Insecticida/miticida
Romero (Nature Natural)	Insecticida/miticida
Cinamaldehído (Sigma-Aldrich)	Insecticida, Bactericida
Citral (Sigma-Aldrich)	Insecticida, Bactericida

Tabla 8. Fuentes de aceites esenciales ejemplares que pueden usarse para producir las formulaciones de nanoemulsión de la Tabla 7

Como ejemplos de nanoemulsiones que se pueden preparar con aceites esenciales distintos al aceite de tomillo y al aceite de orégano, se prepararon dos nanoemulsiones basadas en la formulación de la Tabla 7 utilizando como ingrediente activo el aceite de romero-1 o romero-2 de la Tabla 8, diluidas cada una al 0.5% en agua antes de su uso. Las

nanoemulsiones así preparadas se sometieron a un bioensayo acaricida para evaluar sus respectivas propiedades insecticidas y/o acaricidas. Se colocaron diez ácaros adultos de segundo estadio sobre discos de hojas y se trataron por separado con cada una de las nanoemulsiones. La condición de control positivo utilizó Competitive Control (CC), Tetracurb™-B (TC-B) y Tetracurb™-E (TC-E) (de Kemin) disponibles comercialmente. La condición de control negativo no se pulverizó para confirmar el manejo y la configuración del estadio adecuados. Los bioensayos se puntuaron tras un tiempo de incubación de 24 horas en el que se registró el recuento de ácaros vivos/muertos para determinar el porcentaje de mortalidad y, por tanto, la actividad antimicrobiana de las nanoemulsiones preparadas con romero-1 o romero-2. Los ensayos se replicaron 6 veces (N = 60).

Como se muestra en la Fig.7, las nanoemulsiones que contienen romero-1 y romero-2 obtuvieron una tasa de mortalidad de araña roja de dos puntos (TSSM) por encima de la condición de control negativo e igual o por arriba de la

condición de control positivo, con la nanoemulsión que contiene romero-2 obteniendo la mayor mortalidad de TSSM.

EJEMPLO 5

Evaluación de los efectos antibacterianos sinérgicos de las nanoemulsiones antimicrobianas según la presente invención

Se prepararon varias formulaciones de nanoemulsiones antimicrobianas variando los ingredientes de la composición, así como su concentración. La composición de las diversas formulaciones de nanoemulsión acuosa preparadas y probadas se presentan en la Tabla 9. Se probó la eficacia antibacteriana de las formulaciones de nanoemulsión acuosa de la presente invención *in vitro* siguiendo los estándares de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). Las bacterias (*Staphylococcus aureus*) se expusieron a cada formulación durante 30 segundos después de la incubación a 37°C durante 24 horas. Al día siguiente, se contaron las colonias y los resultados se expresaron en una escala logarítmica como una reducción en el número de colonias en comparación con un control positivo con efectos bactericidas conocidos.

	Formulaciones					
Ingredientes% (p/p)	F (10S + 0Q)	F (0S + 10Q)	F (10S + 10Q)	F (15S + 10Q)	F (280 + 10Q)	F (350 + 10Q)
Aceite de tomillo	40	40	40	40	40	40
Glicerol	18.5	18.5	18.5	18.5	5	5
Isopropanol	7.5	7.5	7.5	3.5	3.5	0
Lactato de butilo	14	14	14	13	13.5	10
Sorbato de potasio	10	0	10	15	-	-
3% <i>Quillaja</i> + 1% Ácido cítrico +	0	10	10	10	10	10

96% H ₂ O						
Oleato	-	-	-	-	28	35
1% Ácido cítrico	10	10	0	0	0	0
Total	100	100	100	100	100	100

Tabla 9. Formulaciones antimicrobianas preparadas y probadas en la presente invención para evaluar efectos sinérgicos

Con referencia a la Fig.8, se muestran los efectos sinérgicos de la combinación de sorbato de potasio (S) y extracto de *Quillaja* (Q) sobre la eficacia antimicrobiana de las formulaciones probadas. Se utilizó oleato (O) como control alternativo para el sorbato de potasio. Los resultados muestran que las formulaciones que comprenden solo sorbato de potasio o extracto de *Quillaja* [F(10S+0Q) y F(0S+10Q)], y las formulaciones en las que el sorbato de potasio se reemplaza por oleato [es decir, F(28O+10Q) y F(35O+10Q)], tuvieron un desempeño peor que el control positivo de la formulación D25b130 (es decir, 23% p/p de cristales de timol, 14% p/p de isopropanol, 48% p/p de SLS, 1.4% p/p de ácido cítrico, 13.6% p/p de H₂O). Sorprendentemente, la combinación de concentraciones crecientes de sorbato de potasio con extracto de *Quillaja* mostró una mucho mejor eficacia antimicrobiana para la cual aproximadamente 0.5 log (aproximadamente 3.2x) sobre la formulación de control positivo D25b130 y más de 0.75 log (aproximadamente 5.6x) sobre las formulaciones que comprendían sorbato de potasio o extracto de *Quillaja* claramente demuestran un efecto sinérgico de las combinaciones de estos ingredientes en la formulación de la presente invención.

EJEMPLO 6

Evaluación adicional de los efectos antibacterianos sinérgicos de las nanoemulsiones antimicrobianas según la presente invención

Para caracterizar aún más el efecto sinérgico al combinar extracto de *Quillaja* y sorbato de potasio, se prepararon formulaciones de nanoemulsión antibacteriana variando los ingredientes en la composición, así como su concentración. La composición de las diversas formulaciones de nanoemulsión acuosa preparadas y probadas se presentan en la Tabla 10. Se probó la eficacia antibacteriana de las formulaciones de nanoemulsión acuosa de la presente invención *in vitro* siguiendo los estándares de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). Las bacterias (*Staphylococcus aureus*) se expusieron a cada formulación durante 30 segundos después de la incubación a 37°C durante 24 horas. Al día siguiente, se contaron las colonias y los resultados se expresaron en una escala logarítmica como una reducción en el número de colonias en comparación con un control positivo con efectos bactericidas conocidos.

Ingredientes	FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	FS6	FS7	FS8	FS9	FS10	FS11
Tomillo VDH2	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
IP	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	4	7.5	7.5	7.5
Butilo	14	14	14	14	14	14	14	13	14	14	14
Quillaja	15	5	10	5	5	5	10	15	20	20	0
Glicerol	13.5	20	8.5	18.5	15	10	3.5	3	8.5	13.5	20
Ácido cítrico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sorbato	10	10	20	0	15	20	25	25	10	5	5
H ₂ O	0	3.5	0	2.5	0	0	0	0	0	0	13.5
Oleato	0	0	0	12.5	3.5	3.5	0	0	0	0	0
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Tabla 10. Formulaciones antimicrobianas probadas para evaluar el efecto sinérgico

Concentrado											
	FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	FS6	FS7	FS8	FS9	FS10	FS11
Sorbato/Quillaja	0.7	2.0	2.0	0.0	3.0	4.0	2.5	1.7	0.5	0.3	0
Reducción log	3.1	3.0	2.5	1.8	2.5	2.4	2.0	2.1	2.2	2.7	1.6
Aumento exponencial en	20	15.8	5	0	5	4	1.6	2	2.5	7.9	-

comparación con FS4											
Aumento exponencial en comparación con FS11	32	25	8	-	8	6.3	2.5	3	8	12.6	0

**Tabla 11. Efecto antimicrobiano de las formulaciones
probadas - concentrado**

Dilución 1/256											
	FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	FS6	FS7	FS8	FS9	FS10	FS11
Sorbato/Quillaja	0.7	2.0	2.0	0.0	3.0	4.0	2.5	1.7	0.5	0.3	0
Reducción log	2.97	2.86	2.67	2.06	2.52	2.84	2.98	3.00	2.70	2.91	1.8
Aumento exponencial en comparación con FS4	8.1	6.3	4.1	0	2.9	6	8.3	8.7	4.4	7.1	-
Aumento exponencial en comparación con FS11	14.8	11.5	7.4	-	5.2	11	15	15.8	7.9	12.9	0

**Tabla 12. Efecto antimicrobiano de las formulaciones
probadas - dilución 1/256**

Dilución 1/512											
	FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	FS6	FS7	FS8	FS9	FS10	FS11
Sorbato/Quillaja	0.7	2.0	2.0	0.0	3.0	4.0	2.5	1.7	0.5	0.3	0
Reducción log	1.32	1.19	1.15	1.01	1.49	1.42	1.57	1.29	1.44	1.30	0.9
Aumento exponencial en comparación con FS4	2	1.5	1.4	0	3	2.6	3.6	1.9	2.7	1.9	-
Aumento exponencial en comparación con FS11	2.6	1.9	1.8	-	3.9	3.3	4.7	2.5	3.5	2.5	0

Tabla 13. Efecto antimicrobiano de las formulaciones probadas - dilución 1/512

Con referencia a la las Figuras 9 a la 11 y a las Tablas 11 a la 13, los resultados presentados muestran los efectos sinérgicos de la combinación de sorbato de potasio y extracto de *Quillaja* (proporcionado en el mismo como el porcentaje de un concentrado 3% *Quillaja* + 1% ácido cítrico + 96% H₂O) a diferentes concentraciones sobre la eficacia antimicrobiana de las formulaciones probadas. El oleato se

utilizó como un control alternativo para el sorbato de potasio, así como un ingrediente adicional en las formulaciones FS5 y FS6 para mejorar la estabilidad de estas formulaciones. Los resultados muestran que las formulaciones que no contienen sorbato de potasio (es decir, la formulación FS4) ni extracto de *Quillaja* (es decir, la formulación FS11), tuvieron un peor desempeño que cualquiera de las otras formulaciones y sirvieron como puntos de datos de referencia para la normalización de los resultados. Las proporciones de los porcentajes de sorbato sobre el extracto de *Quillaja* extractos se presentan en las Tablas 11 a 13.

Las Fig. 9 a la 11 también muestran gráficamente estas proporciones, así como también presentan la reducción logarítmica de cada formulación en comparación con la formulación FS4. En las tablas 11 a la 13, se presenta el aumento exponencial en la reducción en comparación con las formulaciones FS4 y FS11, para cada una de las formulaciones concentradas probadas directamente y para las diluciones 1/256 y 1/512. Sorprendentemente, todas las formulaciones concentradas mostraron una fuerte sinergia entre el sorbato de potasio y el extracto de *Quillaja*, al igual que todas las formulaciones diluidas a 1/256. La

mayoría de las formulaciones diluidas a 1/512 también mostraron un comportamiento sinérgico.

EJEMPLO 7

Uso contra el tizón de fuego de las manzanas mediante un ensayo de flor separada para la infección de las flores

El objetivo de este ejemplo es probar el potencial de las nanoemulsiones antibacterianas que contienen aceite de tomillo de la presente invención contra el fuego bacteriano y comparar los resultados obtenidos con los resultados obtenidos con la estreptomicina, que es un estándar de la industria.

El fuego bacteriano causado por *Erwinia amylovora* es la enfermedad más devastadora tanto de la manzana como de la pera. En la mayoría de las circunstancias, las infecciones durante la floración a través del nectario de flores son la mayor preocupación. Las estrategias de control suelen tener como objetivo proteger las flores con sustancias antagónicas a las bacterias cuando las condiciones de temperatura y humedad durante la floración favorecen la infección.

En muchas partes del mundo, los bactericidas como la estreptomicina se rocían de forma rutinaria durante la floración con este fin. Sin embargo, la creciente

preocupación por el uso de dicho compuesto y la propagación de cepas de bacterias resistentes a esta, ha llevado a esfuerzos para encontrar alternativas que sean rentables y aceptables para diferentes mercados, incluida la agricultura orgánica. Se ha demostrado que los ensayos de flores desprendidas (Pusey 1997) son un método eficaz para detectar posibles preparaciones. La prueba de la flor replica estrechamente las infecciones naturales y los resultados anteriores han mostrado una fuerte correlación con los datos de campo (Kunz y Haug 2006).

Materiales y Métodos

Los manzanos en macetas de 2 años inactivos y refrigerados (cv Gala) se vieron obligados a florecer a temperatura ambiente a fines de marzo de 2019. Las flores frescas individuales se recogieron a mano a medida que florecían y se colocaron en pequeños viales que contenían un 10% de sacarosa, asegurando que sus pedicelos estuvieran sumergidos. Los viales se insertaron en gradillas que se colocaron en pequeñas cajas herméticas para su incubación a 25°C. Una fina capa de una solución de agua con glicerol (33% p/p) en cada caja mantuvo una humedad constante. Las flores se inocularon individualmente directamente en el

hipanto con 10 μ l de una suspensión 10^5 CFU/ml de *Erwinia amylovora* en PBS con Tween 20 al 0.1% p/p. La mitad de las flores se inocularon con una cepa resistente a la estreptomicina (153sm5) recolectada en Oregon, EE. UU., y la otra mitad con una cepa local sensible a la estreptomicina (435s). Ambas cepas demostraron ser muy agresivas en ensayos anteriores. Aproximadamente 30 minutos después de la inoculación, 10 flores individuales seleccionadas al azar de cada cepa organizadas en 5 bloques se inundaron con 32 μ l de cada tratamiento. Los tratamientos consistieron en un tratamiento de control F25 VDH2 (1/200) (en lo sucesivo "control de Thymox") o un control estándar de estreptomicina 17 (0.6 g/l). También se incluyeron un control de agua y un control no inoculado (datos no mostrados). Después de 72 h de incubación, todas las flores se trataron con una suspensión acuosa de Scala (pirimetanil, 40% p/p) a una velocidad de 3 ml/l (es decir, una concentración final de 0.3% v/v) para minimizar la contaminación por hongos. Se utilizó una escala no paramétrica para estimar la gravedad de la enfermedad (DS) 7 días después de la inoculación. DS se calificó de la siguiente manera: 0 = ausencia de necrosis; 1 = necrosis

diminuta; 2 = ovario parcialmente necrótico; 3 = ovario muy necrótico; y 4 = necrosis que se extiende al pedicelo. Las puntuaciones de gravedad que excluyen las flores tratadas con estreptomicina se analizaron con un modelo mixto de enlace acumulativo (clmm) en el paquete "ordinal" de R (Christensen 2015) utilizando bloques como un efecto aleatorio. Debido a la separación, los datos con estreptomicina se analizaron con la función "bracl" del paquete "brglm2" bajo R utilizando la reducción del sesgo medio (Kosmidis, Pagui y Sartori 2019). Se exploró la formulación, concentración e interacción con la cepa bacteriana para modelar la eficacia del tratamiento.

Resultados

La Fig. 12 muestra los datos sin procesar representados como un gráfico de barras acumulativo para la gravedad de la enfermedad. Como era de esperarse, la estreptomicina inhibió fuertemente el fuego bacteriano en flores inoculadas con una cepa sensible de la bacteria, pero no mostró ningún efecto sobre la cepa resistente. No se encontró enfermedad en los controles no inoculados (no mostrados). Los tratamientos de control de Thymox redujeron la gravedad de la enfermedad en plantas sensibles a la estreptomicina (reducción del 27.5%) y, sorprendentemente,

se redujo considerablemente la gravedad de la enfermedad en las plantas resistentes a la estreptomicina (reducción del 52%). Estos resultados demuestran que cuando la resistencia a los antibióticos es un problema para proteger las plantas, el Thymox™ Control se puede utilizar para ayudar a las plantas a resistir las bacterias.

EJEMPLO 8

El tratamiento de control Thymox protege las peras y las manzanas contra el fuego bacteriano

La composición de la presente invención (control Thymox™) se usó en ensayos de campo en peras y manzanas, como se presenta en la Tabla 14 a continuación.

Aplicación	Prueba A	Prueba B	Prueba C
Tipo de cultivo	Peras (Concorde, Cornisa)	Manzanas (Pink Lady)	Peras (Bartlett y Anjou)
Fechas y frecuencia	20 de junio, 2019, 5:30 a.m., 18°C en el momento de la aplicación y soleado/despejado	7 de junio, 2019, 6 a.m., 22°C	4 de junio, 2019, 6:30 a.m., 22-26°C

Dilución / Forma ULA	Solución al 0.5% (2 cuartos en 100 galones (378,541 L)de agua por acre (4046.86m ²)) aplicada con una pistola para minimizar la deriva	0.5% v/v solución aplicada con Rears Power Blast con ventilador de 33''	Solución al 0.5% (2 cuartos en 100 galones (378,541 L) de agua por acre (4046.86m ²)) aplicada con Bexar, Assail. Rimon, Agri- Mek & Summer Pulverizador de chorro de aire con accionamiento por motor de aceite-aire
Resultados	No se observó fuego bacteriano	No se observó fuego	No se observó fuego bacteriano

		bacteriano	
--	--	------------	--

Tabla 14 - Parámetros y resultados de la prueba

EJEMPLO 9

**El tratamiento de control Thymox protege a los árboles de
manzanas contra el fuego bacteriano**

La composición de la presente invención (Thymox™ Control) se usó en ensayos de campo en peras y manzanas, como se presenta en la Tabla 15 a continuación.

Aplicación	Prueba A	Prueba B
Tipo de cultivo	Manzanas (Pink Lady)	Manzanas (Honeycrisp)
Frecuencia	4 aplicaciones y 1 aplicación de Previsto Organic Copper cada 5 días	
Superficie del campo	1 acre (4046.86m ²)	
Dilución/Formulación	control Thymox™ 0.5% 100 galones (378,541 L) RTU/acre (4046.86m ²)	

Tabla 15 - Parámetros de la prueba

La aplicación detiene por completo el ataque del fuego bacteriano, que resultó ser inesperado ya que el manzano Pink Lady es una variedad de manzana más susceptible al fuego bacteriano.

EJEMPLO 10

Tratamiento de control Thymox™ protege a las uvas y las cerezas contra el mildiú polvoriento

La composición de la presente invención (control Thymox™) se usó en ensayos de campo en cerezas y uvas contra el mildiú polvoriento, como se presenta en la Tabla 16 a continuación.

Aplicación	Prueba A	Prueba B
Tipo de cultivo	Cerezas	Uvas (Chardonnay)
Fecha y frecuencia	5 de junio, 2019, una aplicación; Chorro de aire 130 gal/acre (4046.86m ²)	10 de junio, 10 de julio, 13 de julio, 3 Aplicaciones
Superficie del campo	2 acres (8093,71m ²)	
Condiciones climáticas	Soleado y seco	Viento cálido, seco y ligero
Dilución/Formulación	Solución Thymox™ Control al 0.5%	Solución de control Thymox 0.5% Mezcla de tanque con azufre

Tabla 16 - Parámetros y resultados de la prueba

Las cerezas no mostraron ningún mildiú polvoriento después de la aplicación, e inesperadamente, las aves, que normalmente se comen las cerezas fueron repelidas con la aplicación de Thymox™ Control. Las uvas mostraron una disminución, pero no una eliminación del mildiú polvoriento y la aplicación conjunta de otro fungicida aumentaría el control de plagas.

EJEMPLO 11

Evaluación de la eficacia de la aplicación foliar de Thymox Control en cáñamo contra las enfermedades fúngicas de las plantas: Moho gris (*Botrytis spp.*) y mildiú polvoriento (*Leveillula sp.*)

Materiales y Métodos

El experimento se llevó a cabo en un invernadero con un diseño de bloques completos aleatorizado con 6 repeticiones/4 plantas por repetición. Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) y las medias de tratamiento se separaron a un nivel de probabilidad del 5% (es decir, $p = 0.05$). Las plantas se inocularon con *Botrytis spp.* o *Leveillula sp.* Se observaron los tratamientos y se evaluó la gravedad e incidencia de Septoria (*Septoria cannabis*) y mildiú polvoriento

(*Leveillula Taurica*). Los tratamientos fueron los siguientes: 1 = Sin tratamiento; 2 = Tratamiento comercial estándar (GreenCure® de GreenCure® Solutions, que contiene 85% de bicarbonato de potasio); y (iii) tratamiento de control de Thymox después de 3 tratamientos/30 días, 4 tratamientos/30 días, 5 tratamientos/30 días y 7 tratamientos/30 días.

Resultados

Ahora con referencia a la Fig. 13, se muestra que el tratamiento de control con Thymox™ inhibió completamente la incidencia y la gravedad de la enfermedad en plantas infectadas con *Septoria* (lado izquierdo) y *Moho polvoriento* (lado derecho).

EJEMPLO 12

El tratamiento de Thymox™ Control inhibe significativamente la botrytis en la stevia

Materiales y Métodos:

Las propiedades inhibidoras de *Botrytis*Se del tratamiento de control con Thymox™ se evaluaron en la stevia. El tratamiento de control Thymox™ se diluyó 1/200 y se roció (es decir, a una tasa de 0.5% v/v) en plantas contaminadas con *Botrytis*. Un día después del tratamiento, el efecto de Thymox™ Control en *Botrytis* fue evaluado.

Resultados

El tratamiento de control Thymox™ inhibe completamente el *Botrytis* en Stevia. Como se muestra en la Figura 14, la mayoría de las hojas están infectadas con *Botrytis* (es decir, la condición previa al tratamiento en el lado izquierdo de la Fig.14), pero 24 horas después del tratamiento de *Botrytis*- el daño inducido a las hojas se revierte por completo (es decir, la condición de postratamiento en el lado derecho).

EJEMPLO 13

Thymox™ Control no es fitotóxico para las plantas

Se evaluó la fitotoxicidad del tratamiento de control con Thymox™. Uno de los problemas asociados con la aplicación de formulaciones a base de aceites esenciales es la sensibilidad de las plantas a estos aceites en términos de fitotoxicidad. En otras palabras, las hojas de las plantas pueden quemarse y volverse amarillas o anaranjadas debido a la fitotoxicidad de las formulaciones de aceites esenciales, lo cual no es deseado por los cultivadores y agricultores.

Materiales y Método

El tratamiento de control Thymox™ se diluyó 1/200 y se roció (es decir, a una tasa de 0.5% v/v) en diferentes especies de plantas para comprobar la fitotoxicidad.

Resultados

Como se muestra en la Fig.15, la aplicación del tratamiento de control Thymox™ en *Artemisia Silvermound* (es decir, la condición de postratamiento en el lado derecho de la Fig.15) no causa ninguna fitotoxicidad en comparación con *Artemisia Silvermound* después del tratamiento (es decir, la condición antes del tratamiento en el lado izquierdo de la Fig. 15). De hecho, las hojas de *Artemisia Silvermound* se vuelven aún más saludables y verdes después de la aplicación del tratamiento de control Thymox™ en comparación con las hojas de *Artemisia Silvermound* antes de la aplicación.

De manera similar, como se muestra en la Fig.16, la aplicación del tratamiento de control Thymox™ en *Artemisia "Powis Castle"* (es decir, la condición de postratamiento en el lado derecho de la Fig.16) no causa ninguna fitotoxicidad en comparación con *Artemisia "Powis Castle"* después del tratamiento (es decir, la condición antes del tratamiento en el lado izquierdo de la Fig. 16). De hecho, las hojas de *Artemisia "Powis Castle"* se vuelven aún más

saludables y verdes después de la aplicación del tratamiento de control Thymox en comparación con las hojas de *Artemisia "Powis Castle"* antes de la aplicación.

EJEMPLO 14

FÓRMULA QUE COMPRENDE VITAMINA C

Las formulaciones de acuerdo con la presente invención también se pueden formular para incluir vitamina C (es decir, ácido ascórbico o ascorbato). En la siguiente tabla 17 se muestran ejemplos de formulaciones que comprenden vitamina C, en comparación con la formulación F25 mostrada en la Tabla 5 anterior.

Ingredientes	F25-VC1 (% p/p)	F25-VC2 (% p/p)	F25 (% p/p)
Aceite de tomillo	25	24	27
Isopropanol	4.5	4.5	4.3
Lactato de butilo	16	16	15.8
Glicerol	22.5	22.5	22.5
Sorbato de potasio	18.5	18.5	18.3
Quillaja	0.35	0.35	0.35

Ácido cítrico	0.15	0.15	0.15
Vitamina C	2	3	0
H ₂ O	11	11	11.6
Total	100	100	100

Tabla 17. Formulaciones ejemplares basadas en la formulación F25, que comprenden vitamina C.

Para evaluar más a fondo la actividad antibacteriana de estas formulaciones, sometieron a una prueba cuantitativa que compara la eficacia de una nanoemulsión determinada en función de su capacidad para prevenir la formación de colonias bacterianas, la denominada Prueba antimicrobiana en seco contada en Petri (PAMB). Brevemente, las formulaciones se agregaron a placas de Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus* 10⁶ y la reducción logarítmica en el número de colonias se contó después de un período de incubación de 24 horas, donde una mayor reducción logarítmica representa una mayor actividad antibacteriana. Con referencia ahora a la figura 17, se muestra una comparación de las formulaciones de la presente invención que comprenden vitamina C detalladas en la tabla 17

anterior, en comparación con la formulación base. Los resultados muestran que la sustitución del aceite esencial (en este caso, aceite de tomillo) por vitamina C preserva la actividad antibacteriana de la formulación.

Si bien se han descrito anteriormente realizaciones preferidas y se han ilustrado en los dibujos adjuntos, será evidente para los expertos en la técnica que se pueden realizar modificaciones sin apartarse de esta descripción. Tales modificaciones se consideran como posibles variantes comprendidas en el alcance de la divulgación.

Bibliografía

Pusey, P. L. 1997. Crab apple blossoms as a model for research on biological control of fire blight. *Phytopathology*. 87:1096-1102

Kunz, S., and Haug, P. 2006. Development of a strategy for fire blight control in organic fruit growing. In *Ecofruit*, Weinsberg/Germany: Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau eV (FÖKO), p. 145-150.

Christensen, R. H. B. 2015. Ordinal-Regression Models for Ordinal Data.

Kosmidis, I., Pagui, E. C. K., and Sartori, N. 2019. Mean and median bias reduction in generalized linear models. *arXiv e-prints*. arXiv:1804.04085.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa que comprende:
 - a) del 0,05 % al 55 % en peso de un aceite esencial, o uno de sus ingredientes activos, en el que dicho aceite esencial es aceite de tomillo o aceite de romero;
 - b) de 0,04% a 65% en peso de un disolvente;
 - c) de 0,01% a 25% en peso de un sorbato;
 - d) de 0,00025% a 0,37% en peso de una saponina, en una cantidad suficiente para formar una nanoemulsión de dicho aceite en agua;
 - e) agua suficiente para obtener el 100 por ciento en peso.
2. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de la reivindicación 1, en la que dicho ingrediente activo es timol, carvacrol, paracimeno o combinaciones de los mismos.
3. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de la reivindicación 1, que comprende además de 0,0002% a 0,3% en peso de un agente de ajuste del pH.
4. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en la que dicho aceite de tomillo es de origen natural, de origen sintético o una combinación de los mismos.
5. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en la que dicho aceite de romero es de origen natural, de origen sintético o una combinación de los mismos.
6. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho disolvente es 1,2-dicloroetano, 2-butanona, acetona, acetonitrilo, benceno, tetracloruro de carbono, cloroformo, ciclohexano, hexano, pentano, tetrahidrofurano. , 1,1-dicloroetano, 1-butanol, 1-heptanol, 1-hexanol, 1-octanol, 1-pentanol, 1-propanol, 2-aminoetanol, 2-butanol, 2-pentanol, 2-pentanona, 2-propanol , 3-pentanol, 3-pentanona, ácido acético, acetil acetona, anilina, anisol, benzonitrilo, alcohol bencílico, acetato de butilo, lactato de butilo, disulfuro de carbono, clorobenceno, ciclohexanol, ciclohexanona, diclorometano, éter dietílico, dietilamina,

dietilenglicol, diglima, éter diisopropílico, dimetoxietano, dimetilformamida, ftalato de dimetilo, sulfóxido de dimetilo, ftalato de di-n- butilo , dioxano, etanol, éter, acetato de etilo, acetoacetato de etilo, benzoato de etilo, etilenglicol, glicerol, heptano, i -butanol, isopropanol, metanol, acetato de metilo, metil t-butil éter, cloruro de metileno, metil-t-butil éter, N,N-dimetilanilina, p- xileno, piridina, alcohol t-butílico, tolueno, tricloroetileno, agua, agua pesada, xileno o combinaciones de los mismos.

7. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que dicho disolvente es de dos a cinco disolventes.

8. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que dicho disolvente es tres disolventes.

9. La formulación desinfectante acuosa en nanoemulsión de la reivindicación 8, en la que dichos tres disolventes comprenden isopropanol, glicerol y lactato de butilo.

10. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que dicho sorbato es sorbato de potasio, sorbato de sodio, sorbato de calcio, ácido sórbico o combinaciones de los mismos.

11. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de la reivindicación 10, en la que dicho sorbato es sorbato de potasio.

12. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que dicha saponina es proporcionada por un extracto obtenido de una fuente vegetal.

13. La formulación desinfectante acuosa en nanoemulsión de la reivindicación 12, en el que dicho extracto obtenido de una fuente vegetal es un extracto de *Quillaja saponaria*, un extracto de *Yucca schidigera*, un extracto de *Castaño de indias*, un extracto de semilla de té, un extracto de soja y combinaciones de los mismos.

14. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de la reivindicación 12, donde dicho extracto obtenido de una fuente vegetal es un extracto de *Quillaja saponaria*.

15. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de la reivindicación 14, en donde dicha formulación acuosa de nanoemulsión comprende de 0,004 a 0,5% en peso de dicho extracto de *Quillaja saponaria*.

16. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 15, en el que dicho agente de ajuste del pH es ácido cítrico, ácido láctico, ácido clorhídrico, ácido bórico, ácido acético, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, ácido sulfúrico, carbonato de calcio (CaCO_3), carbonato de amonio, bicarbonato de amonio, citrato de amonio, citrato de sodio, carbonato de magnesio, carbonato de sodio, fosfato mono, di y/o trisódico, fosfato mono, di y/o tripotásico, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS), aminoácidos y zwitteriones, como glicina, 2-amino-2metil-1,3- propanodiol (AMPD), ácido N-(1,1-dimetil-2-hidroxietil)-3-amino-2-hidroxipropanosulfónico (AMPSO), N-glicilglicina (Gly-Gly), 4-(2-hidroxietil)piperazina-1 - ácido propanosulfónico (EPPS o HEPPS), ácido 3-(ciclohexilamino)-1-propanosulfónico (CAPS), ácido 3-(ciclohexilamino)-2-hidroxi-1-propanosulfónico (CAPSO), ácido 2-(ciclohexilamino) etanosulfónico (CHES), ácido N,N-bis[2-hidroxietil]-2-aminoetanosulfónico (BES), (ácido 2-[2-hidroxi-1,1-bis(hidroximetil)etilamino]etanosulfónico) (TES), 2-(N ácido -morfolino)etanosulfónico (MES), N-[Tris(hidroximetil)metil]glicina (Tricina); Ácido N-tris(hidroximetil)metil-3-aminopropanosulfónico (TAPS) y ácido 3-N-morfolinopropanosulfónico (MOPS), ácido piperazeno-N,N'-bis[2-hidroxipropanosulfónico] (POPSO), o combinaciones de los mismos.

17. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 15, en la que dicho agente de ajuste del pH es ácido cítrico.

18. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, que comprende además vitamina C.

19. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de la reivindicación 18, en la que dicha formulación en nanoemulsión acuosa comprende de 0,002 a 5% en peso de dicha vitamina C.

20. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en la que dicha formulación en nanoemulsión acuosa comprende:

- a) de 0,05% a 55% en peso de aceite;
- b) de 0,005% a 7,5% en peso de isopropanol;
- c) de 0,02% a 30% en peso de glicerol;
- d) de 0,02% a 27% en peso de lactato de butilo;
- e) de 0,01% a 25% de sorbato de potasio;
- f) de 0,0004% a 0,5% en peso de un extracto de *Quillaja saponaria*, en cantidad suficiente para formar una nanoemulsión de dicho aceite en agua;
- g) de 0,0002% a 0,3% en peso de ácido cítrico;
- h) agua suficiente para obtener el 100 por ciento en peso.

21. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en la que dicha formulación en nanoemulsión acuosa está libre de tensioactivo adicional.

22. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 27, que comprende un pH que oscila entre 6 y 9.

23. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 y 22, que comprende además un tensioactivo o un agente emulsionante adicional.

24. La formulación desinfectante en nanoemulsión acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, en la que dicha formulación en nanoemulsión acuosa está libre de desinfectante, pesticida o sanitizantes adicionales.

-/-