

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) **PI9909439-8 B1**

(22) Data de Depósito: 19/03/1999
(45) Data da Concessão: 26/07/2011
(RPI 2116)



* B R P I 9 9 0 9 4 3 9 B 1 *

(51) *Int.Cl.:*
A01N 37/16 2006.01
A01G 31/00 2006.01

(54) Título: **TRATAMENTO COM PEROXIÁCIDO PARA CONTROLAR ORGANISMOS PATOGÊNICOS SOBRE PLANTAS EM CRESCIMENTO.**

(30) Prioridade Unionista: 06/04/1998 US 09/055.609

(73) Titular(es): Ecolab, Inc.

(72) Inventor(es): Bruce R. Cords, Heidi M. Hanson, Keith D. Lokkesmoe, Leanne J. Adkins, Robert D. P. Hei

"TRATAMENTO COM PEROXIÁCIDO PARA CONTROLAR ORGANISMOS PATOGÊNICOS SOBRE PLANTAS EM CRESCIMENTO"

Campo da Invenção

A invenção refere-se a um processo de uso de composições de perácido, especialmente sistemas perácido mistos, para tratar tecido, sementes, frutos de planta crescendo no campo, hidropônica ou estufa, meios de crescimento e recipientes. O perácido pode diminuir a carga microbiana patogênica humana e patógeno de planta, natural resultando em menos desperdício para mofo, estrago, e destruição devido a venenos patogênicos.

Antecedentes da Invenção

Na produção de frutos e vegetais, plantas podem ser crescidas no campo, em estufas, e hidroponicamente. Cada localização tem seu próprio meio de crescimento, ambiente e condições de crescimento. Pessoal de agricultura trabalha para maximizar produção através de maximização de condições de crescimento enquanto minimizando ataque sobre sementes, plântulas, plantas e frutos por pestes vivas. Tais pestes incluem insetos, roedores, bactérias, fungos, etc.

Substancial atenção tem sido dada a compostos antimicrobianos que atacam bactérias e fungos sobre sementes, plantas crescendo e frutos no ciclo de produção sobre plantas crescendo. O uso de fungicidas em agricultura é necessário pelas grandes perdas causadas por uma ampla variedade de microorganismos patogênicos - planta. Para serem econômicos, os custos de controle de doenças de plantas por aplicação de bactericidas e fungicidas têm de

ser compensados por potenciais ganhos de várias vezes. Grandes toneladas de fungicidas são requeridas na agricultura de maçãs, pêras, bananas, cereais, cacau, café, algodão, batatas, tabaco, uvas, couves de Bruxelas e outras
5 frutas comuns e vegetais incluindo aipo, alho-poró, cebolas, alface, espinafre, couve de Bruxelas, batatas, trufas, alho, cebolinha, pimentas, feijões, tomates, amêndoas, pêras, maçãs, amendoins, e outros. Fungicidas são tipicamente aplicados em suspensão em água com borrifador hidráulico ou
10 na forma de pó, grânulos ou fumigantes. Fungicidas iniciais incluíram enxofre e poli sulfetos, metais pesados e outros. Tais fungicidas fortes foram substituídos por materiais novos mas ainda tóxicos quais como quinonas, compostos organo enxofre, imidazolininas e guanidinas, tricloro metil
15 tiocarboximidas, benzenos clorados e nitrados, oxitinas, benzimidazóis, pirimidinas e outros. Estes materiais protetores de amplo espectro afetam sistemas de membrana e enzima do microorganismo alvo. Tipicamente, o modo de ação inclui inibição de produção de energia de fungo ou
20 bacterial, interferência com biossíntese ou interrupção de estrutura de membrana de célula.

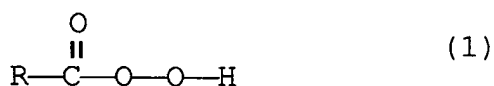
Os fungicidas acima tiveram algum sucesso; entretanto, eles são vistos como materiais tóxicos e uma substancial quantidade de produção de planta é desperdiçada
25 devido a seu efeito prejudicial. Da mesma maneira, existe uma substancial necessidade de continuação de desenvolvimento de materiais antimicrobiais que possam proteger plantas crescendo incluindo sementes, cortes,

plântulas, plantas crescendo, partes de plantas, frutos e outros produtos de agricultura.

Peroxiácidos

Ainda, bactérias e fungos patogênicos de plantas e humanos podem ser um problema de contaminação em plantas crescendo. Nós verificamos que coliformes, salmonella, e outras bactérias comuns no ambiente de agricultura e estufa podem contaminar plantas crescendo e possuem uma ameaça para saúde humana em consumo de vegetais frescos, frutos e produtos agrícolas. Existe uma substancial necessidade de tratamentos que possam reduzir contaminação bacterial .

Peroxiácidos são oxidantes fortes e têm a estrutura genérica simples dada como fórmula (1), onde R pode ser essencialmente qualquer grupo hidrocarboneto:



Tratamentos Antimicrobiais

Composições contendo peróxi são conhecidas para uso na produção de agentes microbicidas. Uma tal composição é mostrada em Bowing et al., patente Norte-Americana 4.051.059 contendo ácido peracético, ácido acético ou misturas de ácido peracético e acético, peróxido de hidrogênio, compostos tensoativos aniônicos tais como sulfonatos e sulfatos e água.

Ácido peracético foi mostrado ser um bom biocida, mas somente em concentrações bem altas (geralmente maiores que 100 partes por milhão (ppm)). Similarmente, ácidos

peróxi graxos também foram mostrados ser biocidas, mas somente em altas concentrações (maiores que 200ppm), tal como na composição mostrada no pedido de patente EP 233.731.

GB 2187958 A e EU 0242990 A2 descrevem o uso de
5 ácido peracético ou per-propiónico para controle de patógenos de plantas sobre flores e tecido de fruto. Elas são direcionadas a plantas crescendo no campo comestíveis e colheitas de cereais.

WO 94/06294 descreve o uso de uma composição
10 perácido simples junto com misturas de ácidos alifáticos para desinfecção vegetal.

US 5.168.655 refere-se a tratamento hidropônico usando perácidos. A referência descreve tratamentos perácido de substratos crescendo hidropônicos (por exemplo, lâ de
15 rocha) antes de crescimento; isto é, o substrato de crescimento é tratado após um ciclo de produção de colheita e antes de um subsequente ciclo de produção de colheita. Em contraste, a presente invenção descreve tratamento hidropônico durante o ciclo de crescimento.

20 A patente Norte-Americana 5.200.189 para Oakes et al. Descreve uso de composições perácido mistas para aperfeiçoar morte microbial para sanitização de superfície dura. Certos perácidos mistos foram verificados úteis para aperfeiçoar morte microbial sobre tecido de planta crescendo
25 sensível ou sua matéria frutificando colhida.

A patente Norte-Americana 2.512.640 para Greenspan et al., mostra o uso de composições perácido simples para aperfeiçoar redução microbial sobre produtos agrícolas,

reduzir cor marrom de produtos agrícolas e evitar estrago. Greenspan não mostra quaisquer sinergias perácido mistos e aplica somente o perácido a fruto colhido.

GB 2257630A descreve o uso de um perácido simples
5 que é ativado por um ativador (Fe, Cu, Br, I) para controle de contagens microbiais sobre superfícies duras, água efluentes, e tecidos de plantas crescendo. Novamente, está é uma composição perácido simples que falha em ensinar sinergias entre perácidos misturados.

10 DK 9300538 descreve o uso de ácido peracético, seguido por um combate biológico, para controle de patógenos em sistemas de aguar recirculantes para colheitas de plantas. Esta referência não descreve quaisquer tratamentos diretos de colheita.

15 JP 07031210 ensina o uso de 5 a 200ppm de perácido e/ou ácidos per-propiónicos para tratamento de meio de cultura de plântula antes de plantio; especificamente para o controle de lodo, algas ou fungos sobre o meio de cultura. O ensinamento é limitado ao uso de ácidos C₂ e C₃ e não tem
20 aplicação a tecido de planta crescendo.

JP 07258005 ensina o uso de altos níveis (1000ppm) de ácido peracético para controle de bactérias sobre arroz. Este pedido de patente é pretendido somente efetuar controle de doença e não para crescimento hidropônico da matéria
25 grão.

DE 3003875 A descreve o uso de perácidos C₁-C₄ e peróxido de hidrogênio para controlar pestes fitopatogênicas

sobre o solo. Esta referência não mostra qualquer aplicação direta a plantas.

Breve Descrição da Invenção

Nós verificamos que uma composição de tratamento
5 perácido mista pode ser usada para proteger tecido de planta
crescendo dos efeitos indesejáveis de ataque microbial. Os
materiais perácido mistos usados nesta invenção podem ser
aplicados a tecidos de planta crescendo e podem prover
efeitos antimicrobiais residuais após a planta ter
10 completado seu ciclo de crescimento, fruto ou material
vegetal ter sido colhido e enviado ao mercado. Os materiais
da invenção foram verificados excelentes compostos
antimicrobiais mas possuem pequenos efeitos tóxicos para
trabalhos de agricultura ou para o último consumidor.

15 Nós verificamos que materiais peroxiácido podem
ser um tratamento efetivo de tecidos de plantas vivas ou
crescendo incluindo sementes, raízes, tubérculos, plântulas,
cortes, estoque de enraizamento, plantas crescendo, produtos
agrícolas, frutas e vegetais, etc. Sob certas
20 circunstâncias, um material peroxiácido simples pode ser
eficaz, entretanto, em outras circunstâncias, um peroxiácido
misto tem propriedades surpreendentes e substancialmente
aperfeiçoadas.

A invenção envolve um concentrado antimicrobial
25 peroxiácido e composição de uso final diluída incluindo uma
quantidade microbicida efetiva de um ácido peróxi
carboxílico C_2-C_4 tal como ácido peracético, uma quantidade
microbicida efetiva de um peroxiácido C_{5-12} , preferivelmente

com um peroxiácido C_{6-12} ou C_{8-12} , ou suas misturas. A composição concentrada pode ser diluída com uma maior proporção de água para formar uma solução de uso sanitizante antimicrobial tendo um pH na faixa de cerca de 2 a 8, com
5 uma concentração de ácido peróxi carboxílico C_2-C_4 de pelo menos cerca de 4ppm, preferivelmente cerca de 10 a 75ppm, e uma concentração de peroxiácido C_{5-12} , um C_{6-12} ou C_{8-12} de pelo menos cerca de 1ppm, preferivelmente cerca de 1 a 25ppm. Outros componentes podem ser adicionados tais como um agente
10 de acoplamento hidrótropo para solubilização de ácido peróxi graxo na forma concentrada e quando a composição concentrada é diluída com água.

A invenção envolve um processo de controle de fungos e patógenos microbiais de plantas em plantas
15 crescendo através de tratamento das ditas plantas crescendo com uma solução aquosa diluída compreendendo uma quantidade efetiva de um ácido peróxi carboxílico C_2-C_4 e um ácido peróxi carboxílico C_{5-12} , C_{6-12} ou C_{8-12} .

A invenção ainda envolve um processo para controle
20 de fungos e patógenos de planta microbiais em plantas crescendo por diluição em um líquido aquoso um concentrado contendo: cerca de 1 a 20% em peso de um ácido peróxi carboxílico C_2-C_4 ; cerca de 0,1 a 20% em peso de um ácido peróxi carboxílico C_{5-12} , C_{6-12} ou C_{8-12} para formar uma
25 solução; e contactando as ditas plantas crescendo com a dita solução.

A invenção ainda envolve um processo para controle de fungos e patógenos microbiais de plantas em plantas

crescendo através de diluição em um líquido aquoso um concentrado contendo: cerca de 1 a 20% em peso de um ácido peróxi carboxílico C_{2-4} ; cerca de 0,1 a 20% em peso de um ácido peróxi carboxílico C_{5-12} , C_{6-12} ou C_{8-12} alifático; cerca
 5 de 5 a 40% em peso de um ácido carboxílico C_{2-4} ; cerca de 1 a 20% em peso de um ácido carboxílico C_{8-12} alifático; e cerca de 1 a 30% em peso de peróxido de hidrogênio para formar uma solução; e contactando as ditas plantas crescendo com a dita solução.

10 Em contraste à técnica anterior, nós verificamos que em um baixo pH, (por exemplo, preferivelmente menos que 7) peroxiácidos C_5 , tais como ácidos peróxi graxos são biocidas muito potentes em baixos níveis quando usados em combinação com um ácido C_{2-4} peróxi carboxílico tal como
 15 ácido peróxi acético, um efeito sinérgico é obtido, provendo um biocida muito mais potente do que pode ser obtido através do uso destes componentes separadamente. Isto significa que concentrações substancialmente menores de biocida podem ser usadas para obtenção de iguais efeitos
 20 biocidas.

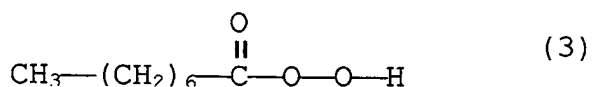
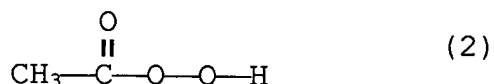
Como o termo é aqui usado, um peroxiácido C_{5-12} (ou perácido) é pretendido significar o produto da oxidação de um ácido C_{5-12} tal como um ácido graxo, ou uma mistura de ácidos, para formar um peroxiácido tendo de cerca de 5 a 12
 25 átomos de carbono por molécula. Os peroxiácidos C_{5-12} são preferivelmente alifáticos (retos ou ramificados).

Ácido peróxi carboxílico é pretendido significar o produto de oxidação de um ácido C_{2-4} carboxílico, ou uma sua

mistura. Isto inclui ambos, ácidos C₂₋₄ carboxílicos retos e ramificados.

A invenção reivindicada inclui um processo de controle de fungos e patógenos microbiais de plantas em plantas crescendo. Este tratamento utiliza uma combinação de dois diferentes peroxiácidos. Esta mistura compreende pelo menos 4 partes por milhão (ppm) de um menor ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico e pelo menos 1 ppm de um maior ácido C₅₋₁₂ peróxi carboxílico. A mistura preferida compreende pelo menos 4ppm de um menor peroxiácido C₂₋₄ e pelo menos 1ppm de um maior peroxiácido C₈₋₁₂ alifático.

Uma realização especialmente preferida da composição inclui uma mistura de ácido peroxiacético (dado como fórmula (2)) e ácido peroctanóico (aqui dado como fórmula (3)).



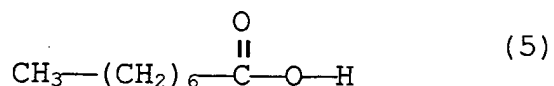
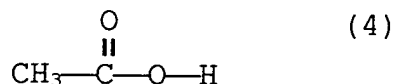
A composição também pode conter um hidrótropo para o propósito de aumento da solubilidade aquosa de vários compostos orgânicos levemente solúveis. A realização preferida da invenção utilizada um hidrótropo escolhido do grupo de sulfonato de n-octano, um sulfonato de xileno, um sulfonato de naftaleno, sulfato de etil hexila, sulfato de laurila, um óxido de amina, ou mistura dos mesmos.

A composição também pode conter um agente quelante para o propósito de remoção de íons da solução. A realização preferida da invenção usa ácido 1-hidroxi etilideno-1,1-difosfônico.

5 Ainda, a invenção também provê um processo de controle de fungos e patógenos microbiais de plantas em plantas em crescimento. Nesta realização, a planta é contactada com uma solução fabricada por diluição em um líquido aquoso de um concentrado compreendendo dois
10 peroxiácidos. Esta mistura inclui ácido C_{2-4} peróxicarboxílico e um maior ácido C_{8-12} peróxi carboxílico. A mistura preferida inclui cerca de 1-20 por cento em peso (% em peso) de um menor peroxiácido C_{2-4} e cerca de 0,1-20% em peso de um maior peroxiácido C_{8-12} . Uma realização
15 especialmente preferida da composição inclui uma mistura de ácido peróxi acético e ácido peróxi octanóico. A composição ainda pode conter cerca de 1-15% em peso de um hidrótropo e cerca de 5% em peso de um agente quelante.

 Finalmente, a invenção também provê um processo de
20 controle de fungos e patógenos microbiais de plantas crescendo. Nesta realização, a planta é contactada com uma solução fabricada por diluição em um líquido aquoso de um concentrado contendo dois peroxiácidos. Esta mistura inclui um menor ácido C_{2-4} peróxi carboxílico e um maior ácido C_{8-12}
25 peróxi carboxílico alifático. Uma realização especialmente preferida da composição inclui uma mistura de ácido peróxi acético e ácido per-octanóico. A composição ainda pode conter um hidrótropo e um agente quelante. Ainda, a solução

contem cerca de 1-30% em peso de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A composição preferida inclui uma mistura de ácido acético (fórmula (4)) e ácido octanóico (5)).



Descrição Detalhada da Invenção

5

Perácidos

Nós surpreendentemente verificamos que compostos peroxiácido da invenção podem ser diretamente contactados com tecido de planta vivo na forma de uma semente, um corte, um estoque raiz, enxerto, tubérculo juvenil ou planta adulto e reduzidas populações microbiais sem afetar substancialmente a saúde do tecido vivo.

A invenção é também baseada na surpreendente descoberta de que quando um peroxiácido C₅₋₁₂ é combinado com um ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico, um efeito sinérgico é produzido e atividade antimicrobial grandemente aperfeiçoada é exibida quando comparada ao peroxiácido C₈₋₁₂ ou o ácido peróxi carboxílico C₂₋₄ sozinho. A presente combinação de peroxiácido C₈₋₁₂ e um ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico pode eliminar efetivamente microorganismos (por exemplo, uma redução de 5log₁₀ em 30 segundos) a partir de um nível de concentração abaixo de 100ppm e tão baixo como 20ppm da combinação de perácido.

Uma variedade de peroxiácidos C_{5-12} pode ser empregada na composição da invenção tal como ácidos peróxi graxos, ácidos mono peróxi ou diperóxi dicarboxílicos, e ácidos peróxi aromáticos. Os peróxi ácidos C_{5-12} empregados na presente invenção podem ser estruturalmente representados como: R_1-CO_2H , onde R_1 é uma metade hidrocarboneto tendo de cerca de 4 a 11 átomos de carbono. R_1 pode ter substituintes na cadeia, por exemplo, $-OH$, CO_2H , ou heteroátomos (por exemplo, $-O-$ como em ácidos alquil éter carboxílicos), tanto quanto as propriedades antimicrobiais da composição total não sejam significativamente afetadas. Deve ser reconhecido que substituintes " R_1 " ou heteroátomos podem mudar a acidez total (isto é, pK_a) dos ácidos carboxílicos aqui descritos. Tal modificação está dentro da contemplação da presente invenção contanto que a performance antimicrobiana vantajosa seja mantida. Além disso, R_1 pode ser linear, ramificado, cíclico ou aromático. Metades hidrocarbonetos preferidas (isto é, R_1 's preferidos_ incluem metades alifáticas hidrocarboneto, saturado, linear, tendo de 7 a 11 átomos de carbono (ou 8 a 12 átomos de carbono por molécula).

Exemplos específicos de ácidos graxos carboxílicos C_{8-12} apropriados que podem ser reagidos com peróxido de hidrogênio para formação de ácidos peróxi graxos incluem ácidos graxos saturados tais como caprílico (octanóico) (C_8), pelargônico (nonanóico) (C_9), cáprico (decanóico) (C_{10}), undecílico (undecanóico) (C_{11}), laúrico (dodecanóico) (C_{12}). Estes ácidos podem ser derivados de fontes naturais e sintéticas. Fontes naturais incluem gorduras ou óleos

animais e vegetais que podem ser inteiramente hidrogenados. Ácidos sintéticos podem ser produzidos pela oxidação de cera de petróleo. Ácidos peróxi graxos particularmente preferidos para uso na composição da invenção são ácidos graxos alifáticos monoperóxi lineares tais como ácido peróxi octanóico, ácido peróxi decanóico, ou suas misturas.

Outros peróxi ácidos apropriados são derivados da oxidação de ácidos dicarboxílicos e ácidos aromáticos. Ácidos dicarboxílicos apropriados incluem ácido sebácico (C_{10}). Um exemplo de um ácido aromático apropriado é ácido benzóico. Estes ácidos podem ser reagidos com peróxido de hidrogênio para formação de perácido apropriado para uso na composição da invenção. Perácidos preferidos neste grupo incluem ácido mono peróxi- ou diperóxi adípico, mono peróxi- ou diperóxi sebácico, e ácido peróxi benzóico .

Os peróxi ácidos acima provêm atividade antibacterial contra uma ampla variedade de microorganismos, tais como microorganismos gram positivos (por exemplo *Staphylococcus aureus*) e gram negativos (por exemplo, *Escherichia coli*, *salmonella*, etc.), leveduras, mofos, esporos bacteriais, etc. Quando os peroxiácidos acima C_{5-12} são combinados com um ácido C_{2-4} peróxi carboxílico, atividade grandemente aperfeiçoada é mostrada comparada ao ácido C_{2-4} peróxi carboxílico sozinho ou o peroxiácido C_{8-12} sozinho. O componente ácido C_{2-4} peróxi carboxílico pode ser derivado de um ácido C_{2-4} carboxílico ou ácido dicarboxílico por reação de ácido, ou o correspondente anidrido ou cloreto ácido, com peróxido de hidrogênio. Exemplos de ácidos C_{2-4}

carboxílicos apropriados incluem ácido acético, ácido propiônico, ácido glicólico, e ácido succínico ou seus correspondentes anidridos ou cloretos ácidos. Ácidos peróxi carboxílicos C₂₋₄ preferíveis para uso na composição da
5 invenção incluem ácido peróxi acético, ácido peróxi propiônico, ácido peróxi glicólico, ácido peróxi succínico ou suas misturas.

O concentrado antimicrobial da presente invenção pode compreender cerca de 0,1 a 20% em peso, preferivelmente
10 cerca de 0,1 a 5% em peso, e mais preferivelmente cerca de 0,1 a 2 % em peso de um peroxiácido C₈₋₁₂, e cerca de 1 a 20% em peso, preferivelmente cerca de 1 a 15% em peso e mais preferivelmente 4-15% em peso de um ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico. A composição concentrada preferivelmente tem
15 uma razão em peso de ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico para peroxiácido C₈₋₁₂ de cerca de 15:1 a 1:1. O concentrado contém ácido suficiente de modo que a solução de uso final tem um pH de cerca de 2 a 8, preferivelmente cerca de 3 a 7. Alguma acidez pode vir de um acidulante inerte que pode ser
20 opcionalmente adicionado (por exemplo, ácido sulfúrico ou fosfórico).

Os componentes perácido usados na composição da invenção podem ser produzidos em uma maneira simples por mistura de uma solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), ou
25 através de utilização de geradores peróxido pulverizados tais como percarbonato ou perboratos, com a desejada quantidade de ácido. Com os ácidos graxos de maior peso molecular, um acoplador hidrótropo pode ser requerido para

auxiliar solubilização de ácido graxo. A solução de H_2O_2 também pode ser adicionada a perácidos fabricados anteriormente tais como ácido peracético ou vários ácidos per-graxos para produção de composição perácido da invenção.

5 O concentrado pode conter cerca de 1 a 30% em peso, preferivelmente cerca de 5 a 25% em peso de peróxido de hidrogênio.

A composição concentrada ainda pode compreender um ácido carboxílico C_{8-12} , um ácido carboxílico C_{2-4} , ou suas
10 misturas. Os ácidos livres preferivelmente corresponderão aos materiais de partida usados na preparação dos componentes peróxi ácido. O ácido carboxílico C_{8-12} livre é preferivelmente linear e saturado, tem 8 a 12 átomos de carbono por molécula, e também pode compreender uma mistura
15 de ácidos. O ácido carboxílico C_{8-12} livre e ácido carboxílico C_{2-4} livre podem estar presentes como um resultado de uma reação de equilíbrio com o peróxido de hidrogênio para formar os peróxi ácidos.

Outros Componentes

20 Vários materiais opcionais podem ser adicionados à composição da invenção para auxiliar solubilização de ácidos graxos, restringir ou aperfeiçoar a formação de espuma, para controlar água dura, para estabilizar a composição, ou para ainda aperfeiçoar a atividade antimicrobial da composição.

25 A composição da invenção pode conter um agente acoplante hidrótopo tensoativo ou solubilizante que permite combinação de ácidos per-graxos de cadeia curta em líquidos aquosos. Funcionalmente falando, os acopladores apropriados

que podem ser empregados são não - tóxicos e retêm o ácido graxo e o ácido per-graxo em solução aquosa por toda a faixa de temperatura e concentração às quais um concentrado ou qualquer solução de uso é exposta.

5 Qualquer acoplador hidrótropo pode ser usado contanto que ele não reaja com os outros componentes da composição ou afete negativamente as propriedades antimicrobiais da composição. Classes representativas de agentes acoplantes hidrotrópicos ou solubilizadores que
10 podem ser empregados incluem tensoativos aniônicos tais como sulfatos de alquila e alceno sulfonatos, alquil benzeno ou naftaleno sulfonatos lineares, alceno sulfonatos secundários, alquil éter sulfatos ou sulfonatos, fosfatos ou fosfonatos de alquila, ésteres de ácido dialquil sulfo
15 succínico, ésteres de açúcar (por exemplo, ésteres de sorbitano), óxidos de amina (mono-, di- ou tri-alquila) e C₈₋₁₀ alquil glucosídeos. Agentes de acoplamento preferidos para uso na presente invenção incluem n-octano sulfonato, disponível como NAS8D de Ecolab, óxido de n-octil dimetil
20 amina, e os sulfonatos aromáticos comumente disponíveis tais como os alquil benzeno sulfonatos (por exemplo, sulfonatos de xileno) ou naftaleno sulfonatos.

 Alguns dos agentes de acoplamento hidrotrópicos acima independentemente exibem atividade antimicrobiana em
25 baixo pH. Isto adiciona à eficácia da presente invenção, mas não é o primeiro critério usado na seleção de um agente de acoplamento apropriado. Uma vez que é a presença de ácido per-graxo no estado neutro protonado que provê atividade

biocida, o agente de acoplamento deve ser selecionado não por sua atividade antimicrobiana independente mas por sua habilidade em prover efetiva interação entre os ácidos pergraxos substancialmente insolúveis como aqui descritos e os microorganismos que as presentes composições controlam.

O agente de acoplamento hidrótropo pode compreender cerca de 0,1 a 30% em peso, preferivelmente cerca de 1 a 15% em peso, e mais preferivelmente cerca de 2 a 15% em peso da composição concentrada.

Compostos tais como mono, di e trialquil fosfato ésteres podem ser adicionados à composição para suprimir espuma. Tais fosfato ésteres genericamente podem ser produzidos a partir de álcoois lineares alifáticos, ali havendo de 8 a 12 átomos de carbono nas porções alifáticas dos alquil fosfato ésteres. Alquil fosfato ésteres possuem alguma atividade antimicrobiana por si próprios sob as condições da presente invenção. Esta atividade antimicrobiana também tende a adicionar à atividade antimicrobiana total das presentes composições embora os fosfato ésteres possam ser adicionados por outras razões. Além disso, a adição de tensoativos não-iônicos pode tender a reduzir a formação de espuma ali. Tais materiais tendem a aperfeiçoar a performance dos outros componentes da composição, tensoativo não-iônico particularmente útil para uso como um antiespumante é nonilfenol tendo uma média de 12 moles de óxido de etileno condensados sobre o mesmo, ele sendo capeado com uma porção hidrofóbica compreendendo uma média de 30 moles de óxido de propileno.

Agentes quelantes podem ser adicionados à composição da invenção para aperfeiçoamento de atividade biológica, performance de limpeza e estabilidade dos peroxiácidos. Por exemplo, ácido 1-hidroxi etilideno-1,1-
5 difosfônico comercialmente disponível de Monsanto Company sob a designação "DEQUEST" foi verificado ser eficaz. Agentes quelantes podem ser adicionados à presente composição para controlar ou seqüestrar íons de dureza tais como cálcio e magnésio. Desta maneira ambas capacidades, de
10 detergência e sanitização, podem ser aperfeiçoadas.

Outros materiais que são suficientemente estáveis no baixo pH contemplado pela presente composição podem ser adicionados à composição para proporcionar desejáveis qualidades dependendo do uso final pretendido. Por exemplo,
15 ácido fosfórico (H_3PO_4) pode ser adicionado à composição da invenção. Compostos adicionais podem ser adicionados ao concentrado (e assim por último à solução de uso) para mudar sua cor ou odor, para ajustar sua viscosidade, para aperfeiçoar sua estabilidade térmica (isto é, congelamento -
20 descongelamento) ou para provimento de outras qualidades que tendem a torná-los mais comercializáveis.

A composição da invenção pode ser fabricada por combinação através de simples mistura de uma quantidade efetiva de um peroxiácido C_{8-12} tal como um ácido peróxi
25 graxo com a mesma fonte de um ácido C_{2-4} peróxi carboxílico tal como ácido peróxi acético. Esta composição pode ser formulada com ácido per-graxo pré-formado e ácido peróxi acético pré-formado. Uma composição preferida da invenção

pode ser fabricada através de mistura de um ácido carboxílico C_{2-4} , um ácido carboxílico C_{8-12} , um acoplador e um estabilizador e reação desta mistura com peróxido de hidrogênio. Uma mistura de equilíbrio estável é produzida
5 contendo um ácido peróxi carboxílico C_{2-4} e um peróxi ácido C_{8-12} permitindo-se que a mistura repouse de um a sete dias a $15-25^{\circ}\text{C}$. Como com qualquer reação aquosa de peróxido de hidrogênio com um ácido carboxílico livre, esta rende uma verdadeira mistura em equilíbrio. Neste caso, a mistura em
10 equilíbrio conterá peróxido de hidrogênio, um ácido peróxi carboxílico C_{2-4} , um ácido carboxílico C_{8-12} , um ácido peróxi carboxílico C_{2-4} , um peróxi ácido C_{8-12} , água, e vários acopladores e estabilizadores.

Através do uso da abordagem acima, a composição da
15 invenção pode ser formulada por meramente mistura de materiais em bruto facilmente disponíveis, por exemplo, ácido acético, peróxido de hidrogênio, e ácido graxo. Permitindo-se tempo de solução para equilíbrio ser obtido, o produto contendo ambos biocidas ativos é obtido. Variando-se
20 a razão de ácido carboxílico C_{2-4} para ácido carboxílico C_{8-12} , é fácil variar-se a razão de ácido C_{2-4} peróxi carboxílico para peróxi ácido C_{8-12} .

Processo de Tratamento

A presente invenção contempla uma composição
25 concentrada que é diluída para uma solução de uso antes de sua utilização como um microbicida. Primariamente por razões econômicas, o concentrado pode ser comercializado normalmente e o usuário final pode diluir o concentrado com

água para uma solução de uso. Uma composição concentrada antimicrobial preferida compreende cerca de 0,1 a 20% em peso, preferivelmente cerca de 0,1 a 5% em peso, de um ácido peróxi graxo C_{8-12} , cerca de 1 a 20% em peso de um ácido peróxi carboxílico C_{2-4} , cerca de 1 a 15% em peso de um agente de acoplamento hidrótopo, e cerca de 1 a 30% em peso de peróxido de hidrogênio. Outros acidulantes opcionalmente podem ser empregados na composição tal como ácido fosfórico.

O nível de componentes ativos na composição concentrada é dependente do fator de diluição pretendido e acidez desejada na solução de uso. O componente peróxi ácido C_{8-12} é genericamente obtido por reação de um ácido carboxílico C_{8-12} com peróxido de hidrogênio na presença de um ácido C_{2-4} carboxílico. O concentrado resultante é diluído com água para prover a solução de uso. Genericamente, uma diluição de 29,57cm³ a 15,12 litros (isto é, diluição de 1 para 500 em volume) de água pode ser obtida com 2% a 20% perácidos totais no concentrado.

As composições da invenção podem ser aplicadas a tecido de planta crescendo em uma variedade de técnicas. A solução aquosa pode ser borrifada, pintada, borrada, embaçada, inundada sobre ou na planta, o substrato hidropônico de planta, a terra de agricultura. O material pode ser periodicamente reaplicado quando necessário.

25

Exemplos

Testes Iniciais

Os exemplos dados aqui descrevem o tratamento de um fungo de mofo neve isolado de uma árvore freixo da

montanha (Sorbus Americana). Testes consistiram em um controle não-tratado versus tratamento do fungo com composição de ácido peróxi acético (POAA) (C₂) e peróxi acético / peróxi octanóico (POAA/POOA) (C₂/C₈). Estes testes
 5 mostraram que o último foi muito eficaz na eliminação do fungo.

Assim, aproximadamente 10cm² de "mofo neve" foram removidos da seção de galho e divididos em três partes; colocando cada uma em água. Uma seção foi não-tratada. Uma
 10 segunda foi tratada com 500ppm de ácido peróxi acético, e uma terceira foi tratada usando-se um sistema perácido misto (C₂/C₈). Após dois dias:

1. O controle ainda estava prosperando e muito úmido ao toque; com um grande volume semelhante a geléia de
 15 fungos.

2. A amostra tratada com POAA estava ½ morta com o que parece ser uma crosta externa morta sobre aproximadamente 2/3 da amostra e uma mancha morta completamente secada sobre o resto. A área de crosta de 2/3
 20 ainda teve a massa semelhante a geléia macia.

3. Os fungos tratados com combinação de peróxi ácidos C₂/C₈ pareceram todos mortos e secos. Nenhuma massa de geléia deixada.

Efeitos de Ácidos Peróxi Acéticos Sobre

25

Tecido de Planta Crescendo

O estudo foi conduzido sobre tecidos de planta crescendo usando-se borrifações feitas antes de 8:00AM. Testes foram conduzidos sobre plantas usualmente livres de

doença para investigar possíveis efeitos colaterais tal como queima de tecido de planta. Os dados demonstram que ambas composições de perácido são similares em efeito para o tecido de planta crescendo durante aplicação; com ambas sendo relativamente inertes sobre superfícies de tecido exceto para colheitas de alta área de superfície como folhas de Aspargo (sem efeito sobre caules).

Fórmula Perácido	Perácido Dosado (ppm) ³	Tipo de Planta/Área Tratada	Efeitos Observados 8 horas após aplicação
POAA ¹	100	Tília Americana/ folhas inferiores	Sem mudanças, nenhuma queima ou dano de tecido
POAA/POOA ²	100	Tília Americana/ folhas inferiores	Sem mudanças, nenhuma queima ou dano de tecido
POAA ¹	100	Tília Americana/ folhas inferiores (aprox.30')	Sem mudanças, nenhuma queima ou dano de tecido
POAA/POOA ²	100	Tília Americana/ folhas inferiores (aprox.30')	Sem mudanças, nenhuma queima ou dano de tecido
POAA ¹	100	Maçã State Fair/ árvore completa (aprox.7')	Sem mudanças, nenhuma queima ou dano de tecido
POAA/POOA ²	100	Maçã State Fair/ árvore completa (aprox.7')	Sem mudanças, nenhuma queima ou dano de tecido
POAA ¹ POAA/POOA ²	100 100	Roseira selvagem/ completa (3') Roseira selvagem/ completa (2')	Sem mudanças, nenhuma queima ou dano de tecido
POAA ¹	100	Aspargo/½ planta (aprox.4')	Encontrado Algum amarellecimento aparente, queima de folha em metades tratadas
POAA/POOA ²	100	Aspargo/½ planta (aprox.4')	Encontrado algum amarellecimento aparente, queima de folha em metades tratadas
POAA ¹	100	Groselha Pilriteiro/ ½ planta (aprox.3')	Sem mudança
POAA/POOA ²	100	Groselha Pilriteiro/ ½ planta (aprox.3')	Sem mudança

1. POAA = ácido peróxi acético (C₂).

2. POAA/POOA = ácidos peróxi acético / peróxi octanóico (C₂/C₈).

3. Perácido ativo total

Testes continuados para perácidos sobre tecido de planta

Perácido ^A	Ppm dosada	Planta/ Área ^B	Comentários
1	100	Tília americana/ galhos inferiores	Nenhum efeito notado, nenhuma queima ou alvejamento
2	100	Tília americana/ galhos inferiores	Nenhum efeito notado, nenhuma queima ou alvejamento
1	100	Rosa/completa	Nenhum efeito notado, nenhuma queima ou alvejamento
2	100	Rosa/completa	Nenhum efeito notado, nenhuma queima ou alvejamento
1	100	½ planta aspargo	Amarelecimento de fo- lha e mais alvejamento -interrompendo aplica- ção para evitar morte de planta
2	100	½ planta aspargo	Amarelecimento de fo- lha e mais alvejamento -interrompendo aplica- ção para evitar morte de planta
1	100	Maçã Beacon/ completa Maçã State Fair/ completa	Nenhum efeito, como acima
2	100	Maçã State Fair / completa NOTA: ordem de a- plicação comutada vs. última semana	Nenhum efeito, como acima
1	100	Groselha/metade	Nenhum efeito, como acima
2	100	Groselha/metade	Nenhum efeito, como acima
1	100	Planta de batata Pontiac /completa	Nenhum efeito, como acima
2	100	Planta de batata Pontiac /completa	Nenhum efeito, como acima
1	100	Parreira Beta/ ½ planta	Nenhum efeito, como acima
2	100	Parreira Beta/ ½ planta	Nenhum efeito, como acima
Testes de Dosagem Aumentada:			
1	300	Ameixa selvagem/ aprox. ½ árvore	Nenhum efeito, como acima
2	300	Ameixa selvagem/ aprox. ½ árvore	Nenhum efeito, como acima

(continuação)

1	300	Batata Pontiac/ completa	Nenhum efeito, como acima
2	300	Batata Pontiac/ completa	Nenhum efeito, como acima

- A. Como para a Tabela anterior
 B. Mesmas plantas testes e área testada como para a tabela anterior, à menos que notado.

Perácido	Ppm dosada	Planta/área	Comentários
1	300	Ameixa selvagem aproximadamente 10'/completa	Nenhum efeito notado, nenhuma queima ou alvejamento
2	300	Ameixa selvagem aproximadamente 8'/completa	Nenhum efeito notado, nenhuma queima ou alvejamento
1	300	Pontiac vermelha/ completa	O mesmo como acima - nenhum efeito
2	300	Pontiac vermelha/ completa	O mesmo como acima - nenhum efeito
1	300	Groselha/½	O mesmo como acima - nenhum efeito
2	300	Groselha/½	O mesmo como acima, nenhum efeito
1	300	Erva cidreira (menarda)/ 10 plantas	Leve amarelecimento de folha - mofo de neve morto sobre todas as plantas - (aprox. 16 com mofo antes de tratamento)
2	300	Erva cidreira (menarda)/ 10 plantas	Leve amarelecimento de folha - mofo de neve morto sobre todas as plantas - (aprox. 16 com mofo antes de tratamento)
1	300	Rosa/completa	Nenhum efeito, como acima
2	300	Rosa/completa	Nenhum efeito, como acima
1	300	Maçã Beacon/ completa	Nenhum efeito como acima
2	300	Maçã Fair State, completa	Nenhum efeito, como acima
1	300	Tília americana/ fundo	Nenhum efeito como acima
2	300	Tília americana/ fundo	Nenhum efeito, como acima

(continuação)

1	300	Pilriteiro (aprox. 7')/ completo	Nenhum efeito, como acima
2	300	Pilriteiro (aprox. 8½')/ completo	Nenhum efeito, como acima
1	300	Tomate Betterboy/ completo	Nenhum efeito, como acima
2	300	Tomate Betterboy/ completo	Nenhum efeito, como acima
1	300	Uva Beta/½ (10') planta	Nenhum efeito, como acima
1	300	Uva Beta/½ (10') planta	Nenhum efeito como acima

Exemplos de TrabalhoExemplo de Trabalho 1:

Concentração Inibidora Mínima de Ácido Peracético
vs. Composição Perácido Mista Contra Patógeno de Planta
Botrytis cinera

5

Este exemplo compara o efeito da técnica anterior usando ácido peracético (POAA) vs. a fórmula de perácido de combinação da presente invenção. O objetivo é determinar as concentrações inibidoras mínimas contra o organismo patógeno de planta Botrytis cinera ATCC 11542.

10

Cultura de Botrytis cinera foi preparada através de inoculação do centro de dez placas enchidas com Sabouraud Dextrose Agar e incubando a 26°C-30° por 15 dias. Esteiras miceliais foram removidas pela adição de 10ml de água estéril e usando-se uma espátula estéril para escovar o crescimento microbial a superfície de agar. A suspensão foi transferida para um triturador de tecido e macerada com 10-25ml de água estéril, então filtrada através de gaze e

15

estocada em uma garrafa de vidro a 4°C até o momento de teste.

Diluições de produto foram preparadas em um caldo Sabouraud Dextrose em níveis de % de POAA ajustada para
5 liberar uma parte por milhão de consternação de 30, 45, 60, 75, 150 e 300. Soluções foram inoculadas com 0,5ml das suspensões de cultura preparadas e incubadas a 26-30°C por 15 dias para observar crescimento. Um tubo de caldo Sabouraud Dextrose foi usado como um controle de crescimento
10 positivo para cada cultura, e 1 tubo foi usado para observar esterilidade de caldo.

A Tabela 1 compara a concentração inibidora mínima (o mais baixo nível de eficácia de perácido para proporcionar nenhum crescimento no patógeno de planta) das
15 composições de perácidos mistos (linha 1) e aquelas do perácido simples (linhas 2) para a redução patógenos de plantas comuns. Os resultados demonstram que eficácia aperfeiçoada 5 vezes resulta das composições de perácido mistos para a redução de *Botrytis cinera* ATCC 11542 (cf.,
20 linhas 1 e 2); isto é, a concentração inibidora mínima para controle de *Botrytis cinera* é 60ppm com as fórmulas correntes, enquanto 300ppm de perácido são requeridos usando-se a técnica anterior.

Tabela 1

Concentração Inibidora Mínima de Ácido Peracético vs.
um Perácido Misturado Novo
Composição Contra Patógeno de Planta *Botrytis cinera*

Concentração Inibidora Mínima								
Corrida #	Teste Perácido	Organismo	30 (ppm)	45 (ppm)	60 (ppm)	75 (ppm)	250 (ppm)	300 (ppm)
Técnica Atual								
1	Fórmula Perácido Misto (POAA/POOA) ₁	<i>Botrytis cinera</i>	+	+	-	-	-	-
Técnica Anterior:								
2	Técnica Anterior (POAA) ³	<i>Botrytis cinera</i>	+	+	+	+	+	-

(-) = nenhum crescimento, (+) = crescimento

1 POAA/POOA = ácidos peróxi acético/peróxi octanóico

2 técnica anterior como demonstrada em GB 2187958A.

3 POAA = ácido peróxi acético

Exemplo de Trabalho 2:

A Tabela 2 compara o efeito antimicrobial de uso do presente sistema perácido misto e materiais conhecidos anteriores como tratamentos de frutos e vegetais para
5 redução de patógeno humano. Assim, nós comparamos o novo sistema perácido C₂/C₈ misto ao uso de hipoclorito de sódio ou ácido peracético.

Testes foram realizados sobre três superfícies de produtos: tomates, folha de alface e maçãs, e também usando
10 quatro organismos testes-*Listeria monocytogenes*, *Salmonella javiana*, flora bacteriana natural e *penicillium expansum*. Para os organismos patogênicos, uma diluição 1:10 de uma suspensão de sistema teste 10⁷ CFU/ml foi preparada. 50 gramas da folha de alface, um tomate inteiro, ou maçã

inteira foram colocados em um saco plástico. Cada saco foi inoculado com 10,0 MI de suspensão de sistema teste resultando em um nível de inoculum de 10^7 CFU/ml) unidades formadoras de colônia por mililitro). Sacos foram suavemente
5 agitados para distribuição uniforme do sistema teste por 5 minutos. Os tipos de produtos foram então estocados por toda a noite a 4°C. Controles não-tratados (nenhum inoculum bacterial - 10ml de água de diluição tamponada com fosfato) também foram preparados. Volumes de dois litros das soluções
10 testes foram preparados em bécheres de 4 litros. Soluções foram preparadas em água da bica de laboratório para simular condições de indústria. Os vegetais então foram expostos à solução teste por submersão por 5 minutos a 22,2°C. No final de um especificado tempo de exposição, os vegetais foram
15 removidos da solução teste e rinçados inteiramente sob água bica fresca correndo. Cinquenta gramas do vegetal (alface) ou todo produto (tomate ou maçã) + 100ml de água de diluição tamponada foram colocados em um saco 'stomacher'. Os vegetais foram 'stomached' (alface) ou massageados (tomate
20 ou maçã) por 60 segundos. Diluições seriadas foram feitas e feitas placas sobre TGE (Salmonella), SAB (penicillium) e BHI (Listeria). Placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Os seguintes controles foram realizados em cada teste: controle não-tratado (nenhuma inoculação, nenhum tratamento
25 químico) para a carga microbial de fundo, um controle inoculado (inoculado mas nenhum tratamento químico) para o inoculum plus carga microbial de fundo sobre superfície de vegetal, e um controle de água da bica com uma diluição

serial para determinar se contaminação microbial estava presente na água de rinçagem ou diluente de produto.

Os resultados demonstram que eficácia aperfeiçoada do sistema perácido misto vs. os sistemas de tratamento
5 convencionais (hipoclorito de sódio ou ácido peracético). Assim, aperfeiçoamentos substanciais sobre os tratamentos com hipoclorito de sódio são encontrados quando usando-se as fórmulas perácido. Adicionalmente, a composição perácido mista da presente invenção (C_2/C_8) rende aperfeiçoamentos de
10 redução log de 0,5-1,0 log vs. uma composição de perácido C_2 simples; ou reduções log comparáveis usando 50% menos dos perácidos ativos.

Tabela 2

O Efeito Comparativo de um Sistema Perácido Misto vs.
Técnica Anterior para Efetuar Controle Microbial sobre
Frutos e Vegetais Colhidos

Teste #	Produto Tratado & Organismo Teste	Processo de Tratamento	Concentração de Tratamento Ativo (ppm)	Contagem Microbial Média (CFU/mL)	Redução Log
<u>Tomates</u>					
1	L.monocytogenes	controle inoculado	0 (controle)	$4,8 \times 10^5$	0 ¹
2	L.monocytogenes	ácido peracético	50 ppm POAA ¹	$1,4 \times 10^5$	0,5
3	L.monocytogenes	novos perácidos misturados ²	50 ppm (POAA+POOA) ²	$2,4 \times 10^4$	1,3
4	S.javiana	controle inoculado	0 (controle)	$1,6 \times 10^6$	0 ¹
5	S.javiana	hipoclorito de sódio ³	25 ppm NaOCl ³	$7,4 \times 10^5$	0,3
6	S.javiana	ácido peracético ¹	25 ppm POAA ¹	$1,7 \times 10^4$	2,0
7	S.javiana	ácido peracético ¹	50 ppm POAA ¹	$8,1 \times 10^3$	2,3
8	S.javiana	ácido peracético ¹	75 ppm POAA ¹	$4,6 \times 10^3$	2,5
9	S.javiana	ácido peracético ¹ novos perácidos mistos ²	50 ppm (POAA+POOA) ²	$2,3 \times 10^3$	2,8
<u>Alface</u>					
10	flora natural	controle não tratado ¹	0 (controle)	$1,3 \times 10^8$	0 ¹
11	flora natural	hipoclorito de sódio ³	100ppm NaOCl ³	$1,4 \times 10^8$	0,2
12	flora natural	ácido peracético ¹	75 ppm POAA ¹	$2,1 \times 10^7$	1,0
13	flora natural	hipoclorito de sódio ³ novos perácidos mistos ²	50 ppm (POAA+POOA) ²	$1,8 \times 10^7$	1,1
<u>Maçã</u>					
14	P.expansum	controle inoculado	0 (controle)	$2,8 \times 10^4$	0 ¹
15	P.expansum	ácido perácido ¹	80 ppm POAA ¹	$7,5 \times 10^3$	0,6
16	P.expansum	novos perácidos mistos ²	80 ppm (POAA+POOA) ²	$1,4 \times 10^3$	1,3

¹ técnica anterior GB 2187958A

1 nenhum controle de tratamento

2 presente invenção

3 lavagens de cloro

Exemplo de Trabalho 3

Efeitos de temperatura para composições perácido mistas

O Exemplo 3 compara o efeito de temperatura de uso de ácido peracético (POAA) vs. um sistema perácido misto sob
5 aplicações de água fria. Os experimentos foram corridos como no exemplo 2; entretanto, uma temperatura de aplicação de água fria (4,4°C) foi usada.

Em contraste aos experimentos da Tabela 2 onde aplicações de ácido peracético superaram hipoclorito de
10 sódio para redução de superfície de micróbios, os resultados da Tabela 3 demonstram que temperaturas de tratamento mais frias impedem a atividade da composição de perácido simples. Ao contrário, o sistema perácido misto é inesperadamente menos afetado, e ainda substancialmente supera os sistemas
15 conhecidos.

Tabela 3

Avaliação de temperatura para tratamento com perácido de tomates

Corrida #	Condição de Tratamento (todos em 4,4°C)	Nível Tratamento Perácido (ppm)	Redução Log (de S.javiana) sobre Tomates
Exemplos da Técnica Anterior:			
1	Hipoclorito de Sódio	80 ppm	1,4
2	Ácido Peracético	80 ppm	0,0
Exemplo da Técnica Atual:			
3	Mistura de Ácido Peracético-Peroctanóico	80 ppm	2,3

Exemplo de Trabalho 4:

Tratamento perácido comparativo de um substrato vs. brotos
de alfafa para controle microbial durante crescimento
hidropônico

5 O objetivo deste exemplo foi comparar o uso de um
perácido simples vs. perácidos mistos para redução microbial
durante crescimento hidropônico de brotos de alfafa. Atual
conceito na indústria é o controle de populações microbiais;
especialmente patógenos humanos e de plantas, mas também
10 solução - nutrição de mofos e fungos. O teste que se segue
foi conduzido para determinar potencial controle microbial
durante o ciclo de crescimento hidropônico.

 A Tabela 4 compara os resultados de utilização de
técnica de tratamento hidropônico contínuo da presente
15 invenção em contraste a US 5 168 655 que utiliza desinfecção
de substratos hidropônicos com ácido peracético; isto é,
substanciais reduções microbiais (>5-log) podem ser
encontradas se o tratamento perácido está em andamento vs.
essencialmente nenhuma redução se somente o substrato é
20 tratado para crescimento hidropônico.

Tabela 4

Tratamentos com Ácido Peracético (POAA) e Peracético-Peractanóico (POAA-POOA) de Brotos de Alfafa comparando a Técnica Anterior e a Presente

Resultados Contagem Placa Aeróbica

1	2	3	4	5	6
Redução Microbial ¹					
Condição Tratamento Perácido	Concentração Perácido (ppm)	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4
Estudo Controle					
1 Controle Água (sem tratamento perácido) ²	0	0	0	0	0
Exemplos Técnica Atual					
6 Tratado POAA-POOA ³	40 ppm	1,5	<0,1	sem redução	sem redução
7	80 ppm	1,8	1,9	0,5	0,2
8	160 ppm	1,9	5,4	3,1	2,9
9	320 ppm	1,6	5,9	5,0	2,5
Exemplos Técnica Anterior					
9 Substrato Tratado POAA ⁴	40 ppm	<0,5	sem	sem	sem
10	80 ppm	<0,5	redução	redução	redução
11	160 ppm	<0,5	em qualquer nível	em qualquer nível	em qualquer nível
	320 ppm	<0,5	nível	nível	nível

1) Redução microbial vs. o estudo controle água sem qualquer tipo de tratamento perácido

2) O controle água foi usado como a base de fundo para as reduções Log de eficiência de tratamento para cada dia de tratamento. Tipicamente contagens log de $\sim 1 \times 10^9$ cfu/ml foram verificadas.

3) POAA-POOA = ácido peróxi acético de uma composição em equilíbrio, usando-se o processo de aplicação de US 5.168.655.

4) POAA = ácidos peroxiacético-peroxi octanóico de uma composição em equilíbrio, usando o processo corrente de aplicação.

Exemplo de Trabalho 5

Tratamento com POAA e POAA-POOA de brotos de alfafa com concentrações variáveis de perácidos

O objetivo deste exemplo foi avaliar redução
5 microbial usando borrifação de perácido durante o
crescimento hidropônico diário de brotos de alfafa; contra
flora bacteriana natural. Comercialmente, brotos de feijão e
alfafa são crescidos por borrifação superior de placas de
sementes por 3-5 dias. Os brotos são colhidos e o despejo de
10 semente eliminado. Um conceito atual na indústria é o
controle de populações microbianas; especialmente patogênicos
para humanos e plantas, mas também solução - nutrição mofo
e fungos. O seguinte teste foi conduzido para determinar
potencial controle microbiano durante o ciclo de crescimento
15 hidropônico.

Os brotos de alfafa foram encharcados em várias
concentrações de soluções de peracético (POAA) ou
peracético-peroctanóico POAA-POOA de equilíbrio obtido. Uma
amostra foi encharcada em água como controle. Na manhã
20 seguinte os brotos de alfafa foram colocados em uma placa de
petri estéril espalhando uniformemente as sementes sobre o
fundo da placa. As placas de petri foram cobertas com gaze
para o procedimento de crescimento.

Durante crescimento (dias 1-4) as sementes de
25 alfafa foram tratadas duas vezes diariamente em 8:00AM e
4:45 PM por borrifação com 10ml da mesma concentração de
perácido no qual elas foram encharcadas. O controle água foi
borrifado com água. Amostras microbianas foram tomadas em

8:00AM de cada de 4 dias de tratamento. Uma mistura 1:1, peso:peso, de broto: água foi 'stomached' e feita placa sobre meios de subcultura TGE Agar usando-se uma Pour Plate Technique com diluições tamponadas com fosfato de 10^{-3} , 10^{-5} ,
5 10^{-7} . Após 48 horas a 35°C os resultados micro foram determinados e são mostrados na Tabela 2.

Os resultados da Tabela 5 demonstram a habilidade em afetar populações microbiais durante crescimento hidropônico de tecido de planta usando-se contínuas
10 aplicações de perácido. Em contraste a US 5 168 655 que utiliza desinfecção de substratos hidropônicos com perácido antes de um ciclo de produção de colheita, os perácidos microbiais da presente invenção demonstram a nova utilidade de uso de perácidos para efetuar contínuo controle microbial
15 durante o inteiro ciclo de crescimento hidropônico, sem perda de rendimento de colheita (ver exemplos 4 e 5). Os dados também indicam a necessidade de modificar o procedimento de dosagem para aperfeiçoar a redução microbial perto do fim do ciclo hidropônico. Esta hipótese é testada
20 no Exemplo 3.

Tabela 5

Tratamentos com Ácido Peracético (POAA) e Peracético-Peractanóico (POAA-POOA) de Brotos de Alfafa Usando Concentrações Variáveis de Tratamento

Resultados de Contagem de Placa Aeróbica

	1	2	3	4	5	6
	Condição Tratamento Perácido	Concentração Perácido (ppm)	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4
1	Controle Água (sem tratamento perácido) ^a	0	0	0	0	0
2	Tratado POAA ^b	40 ppm	0,4	0,1	sem redução	sem redução
3		80 ppm	1,7	0,5	0,2	0,1
4		160 ppm	1,9	2,2	0,4	0,2
5		320 ppm	1,7	4,7	4,2	0,3
6	Tratado POAA-POOA ^c	40 ppm	1,5	<0,1	sem redução	sem redução
7		80 ppm	1,8	1,9	0,5	0,2
8		160 ppm	1,9	5,4	3,1	2,9
9		320 ppm	1,6	5,9	5,0	2,5

a) O controle água foi usado como a base de fundo para as reduções Log de eficiência de tratamento para cada dia de tratamento. Tipicamente 10^9 cfu/ml.

b) POAA = ácido peróxi acético de uma composição em equilíbrio.

c) POAA-POOA = ácidos peróxi acético-peróxi octanóico de uma composição em equilíbrio

Exemplo de Trabalho 6:

Tratamentos POAA e POAA-POOA de brotos de alfafa com um
procedimento de borrifação alternativo

O objetivo deste exemplo foi avaliar redução
5 microbial usando um procedimento de borrifação de perácido
mais contínuo (horário) durante o crescimento hidropônico
diário de brotos de alfafa; contra flora bacteriana natural.
Isto pode permitir um menor perfil de dosagem de perácidos.

Usando a técnica microbiana acima, os brotos de
10 alfafa foram encharcados em 80ppm de soluções de POAA ou
POAA-POOA. Uma amostra foi encharcada em água como um
controle. Na manhã seguinte os brotos de alfafa foram
colocados em uma placa de petri estéril através de
espalhamento uniforme das sementes sobre o fundo da placa.
15 As placas de petri foram cobertas com gaze para o
procedimento de crescimento.

Durante crescimento (dias 1-4) as sementes de
alfafa foram tratadas de 8:00AM a 3:00PM em uma base horária
por borrifação com 10ml da mesma concentração de perácido no
20 qual elas foram encharcadas. O controle água foi borrifado
com água. Amostragens microbianas foram tomadas em 4:00PM
cada um dos 4 dias de tratamento.

Os resultados da Tabela 6 demonstram a
aperfeiçoada eficácia de: uso de um sistema de dosagem mais
25 contínuo, e para uso de um sistema perácido misto para
controle microbiano durante crescimento hidropônico de tecido
de planta. Embora perácido possa proporcionar uma redução
microbiana inicial (dia 1-2) vs. o controle (cf., experimento

1,2), ele falha após o segundo dia de crescimento. Ao contrário, o sistema de ácido peracético - peroctanóico (POAA-POOA) misto rende contínuo controle microbial ($>20\log$) no inteiro tempo de crescimento de broto (experimento 3).

5 Para todos os experimentos a taxa de germinação da semente foi maior que 95%.

Tabela 6

Tratamentos com Ácido Peracético (POAA) e Peracético-Peractanólico (POAA-POOA) de Brotos de Alfafa Usando um Procedimento de Borrifação de Sete Horas por Dia

Resultados de Contagem de Placa Aeróbica

	1	2	3	4	5	6	7	
	Dia 1		Dia 2		Dia 3		Dia 4	
Identificação de Amostra	CFU/ml	Log R ^a	CFU/ml	Log R ^a	CFU/ml	Log R ^a	CFU/ml	Log R ^a
1 Controle Água	2,0 x 10 ⁸	0 ^b	1,1 x 10 ⁹	0 ^b	7,8 x 10 ⁸	0 ^b	2,1 x 10 ⁹	
2 ácido peracético (POAA) 80 ppm	2,5 x 10 ⁶	1,9	3,1 x 10 ⁸	0,6	8,7 x 10 ⁸	sem red ^c	2,1 x 10 ⁹	sem red
3 ácidos peracético-peractanólico (POAA-POOA) 80ppm	4,0 x 10 ⁴	3,7	8,0 x 10 ⁶	2,1	6,5 x 10 ⁶	2,1	1,3 x 10 ⁷	2,2

a) Log R = redução log

b) O controle água foi usado como a base de fundo para as reduções Log de eficiência de tratamento.

c) sem red = nenhuma redução da carga microbiana dentro da faixa de erro de testes.

Exemplo de Trabalho 7:

Tratamentos de borrifação Contínua de POAA e POAA-POOA de
brotos de alfafa

O objetivo deste exemplo foi avaliar redução
5 microbial usando um procedimento de borrifação de perácido
contínuo (horário sobre 24 horas) durante o crescimento
hidropônico diário de brotos de alfafa; contra flora
bacterial natural.

Usando-se a técnica microbial acima, os brotos de
10 alfafa foram encharcados em 80ppm de soluções de POAA ou
POAA-POOA. Uma amostra foi encharcada com água como um
controle. Na manhã seguinte os brotos de alfafa foram
colocados em uma placa de petri estéril através de
espalhamento uniforme das sementes sobre o fundo da placa.
15 As placas de petri foram cobertas com gaze para o
procedimento de crescimento.

Durante crescimento (dias 1-4) as sementes de
alfafa foram tratadas em uma base horária (por 24 horas do
dia) através de borrifação com 10ml da mesma concentração de
20 perácido no qual elas foram encharcadas. O controle água foi
borrifado com água. Amostras microbiais foram tomadas em
4:00PM cada um dos 4 dias de tratamento.

Os resultados da Tabela 7 demonstram o inesperado
resultado de contínua borrifação 24 horas por dia não
25 aperfeiçoa - acima dos prévios exemplos 7 vezes por dia de
aplicação de perácido - a eficácia de controle microbial de
crescimento diário final para qualquer sistema perácido
durante produção hidropônica de tecido de planta (cf.,

Tabela 6, experimentos 2.3 vs. Tabela 7 experimento 2.3). Adicionalmente, o rendimento de germinação caiu tremendamente (<50%) em todos os estudos de 24 horas por dia como comparados aos resultados do exemplo 3.

Tabela 7

Tratamentos com ácido peracético (POAA) e peracético-peroctanóico (POAA-POOA) de brotos de alfafa usando-se um procedimento de borrifação de vinte e quatro horas por dia

Resultados de Contagem de Placa Aeróbica

		1	2	3
		Resultados 4 Dias		
	Identificação de Amostra	Microbial CFU/mL	Log R ^a	Taxa Germinação ^b
1	Controle Água	1,0 x 10 ^b	0 ^c	<50%
2	Ácido Peracético (POAA) 80ppm	6,0 x 10	0,2	<50%
3	Ácidos peracético-peroctanóico (POAA-POOA) 80 ppm	3,5 x 10 ⁶	1,9	<40%

- a) Log R = redução
- b) Uma avaliação visual de % de sementes crescendo vs. não brotadas.
- c) O controle água foi usado como a base de fundo para as reduções log de eficiência de tratamento

5

Exemplo de Trabalho 8:

Taxas de germinação de borrifação diária de POAA e POAA-POOA de brotos de alfafa

O objetivo deste exemplo foi avaliar a taxa de germinação para as várias aplicações de perácido durante o ciclo de crescimento hidropônico de brotos de alfafa.

10

Usando-se a técnica microbial acima, os brotos de alfa foram encharcados em 80ppm de soluções de POAA ou POAA-POOA. Uma amostra foi encharcada em água como um controle.

Na manhã seguinte os brotos de alfafa foram colocados em uma placa de petri distribuindo-se uniformemente as sementes sobre o fundo da placa. As placas de petri foram cobertas com gaze para o procedimento de crescimento.

5 Durante crescimento (dias 1-4) as sementes de alfa foram tratadas usando-se vários tempos de aplicação como para exemplos 2-4 por borrifação com 10ml da mesma concentração de perácido no qual elas foram encharcadas. O controle água foi borrifado com água. Após 4 dias a taxa de
10 germinação foi determinada visualmente.

Os resultados da Tabela 8 demonstram: que própria seleção da taxa de aplicação e composição perácido são necessárias para proporcionar ambas, redução microbial e germinação hidropônica de semente. Ambos limites de
15 aplicação superior e inferior são verificados.

Tabela 8

Tratamentos com ácido peracético (POAA) e peracético peroctanóico (POAA-POOA) de brotos de alfafa usando taxas variáveis de tratamento

Resultados de contagem de placa aeróbica

		1	2	3
	Taxa Tratamento Perácido	Resultados de Germinação e Microbial 4 Dias (Redução Log e %) ^a		
		2 tratamentos por dia	7 tratamentos por dia	24 tratamentos por dia
1	Tratado POAA, Redução Log ^b	0	0	0,2
2	Tratado POAA-POOA, Redução Log ^b	<0,1	2,2	1,9
3	Tratado POAA, % germinação	>95%	>95%	<50%
4	Tratado POAA-POOA, % germinação	>95%	>95%	<80%

- a) O controle água foi usado como a base de fundo para a redução Log de eficiência de tratamento no final do ciclo de tratamento.
- b) redução Log vs. o controle água.
- c) % de germinação como para avaliação visual de % de sementes não-brotadas.

Exemplo de Trabalho 9

Tratamentos Hidropônicos com POAA e POAA-POOA de brotos de alfafa com um procedimento de borrifação de pré-dosagem

O objetivo deste exemplo foi avaliar redução
5 microbial usando uma pré-dosagem de um perácido, seguido por
subsequentes borrifações somente-água durante o crescimento
hidropônico diário de brotos de alfafa; contra flora
bacterial natural .Novamente, isto permite um menor perfil
de dosagem diária de perácidos.

10 Usando a técnica microbial acima, os brotos de
alfafa foram encharcados em 80ppm de soluções de POAA ou
POAA-POOA por 16 horas. Uma amostra foi encharcada em água
como um controle. Na manhã seguinte os brotos de alfafa
foram colocados em uma placa de petri distribuindo-se
15 uniformemente as sementes sobre o fundo da placa. As placas
de petri foram cobertas com gaze para o procedimento de
crescimento.

Durante crescimento (dias 1-4) as sementes de alfa
foram tratadas de 8:00AM a 3:00PM em uma base horária por
20 borrifação com água somente (nenhum perácido nestes
subsequentes ciclos de crescimento hidropônico). Da mesma
maneira, o controle água foi borrifado com água. Amostras

microbiais foram tomadas em 4:00PM cada um dos 4 dias de tratamento.

Os resultados da Tabela 9 demonstram que os sistemas perácido proporcionam um efeito antimicrobial residual sobre o ciclo de crescimento hidropônico inteiro. Surpreendentemente, o sistema perácido misto rende uma eficácia muito aperfeiçoada versus a fórmula perácido sozinho; isto é, enquanto perácido pode proporcionar uma redução microbial inicial (dia 1) ($>1\text{-log}$) vs. o controle (cf., experimento 1,2), ele falha após o segundo dia de crescimento. Ao contrário, o sistema ácido peracético - peroctanóico (POAA-POOA) misto rende controle microbial contínuo ($>2\text{-log}$) sobre o inteiro tempo de crescimento de broto (experimento 3) embora as sementes crescendo fossem somente inoculadas na fórmula perácido. Para todos os experimentos a taxa de germinação de semente foi maior que 95%.

Tabela 9

Tratamentos com ácido peracético (POAA) e peracético-peroctanóico (POAA-POOA) de brotos de alfafa usando um procedimento de borrifação simples

Resultados de Contagem de Placa Aeróbica

	1	2	3	4	5	6	7	
	Dia 1		Dia 2		Dia 3		Dia 4	
	CFU/ml	Log R ^a	CFU/ml	Log R ^a	CFU/ml	Log R ^a	CFU/ml	Log R ^a
1 Controle Água	2,0 x 10 ⁶	0 ^b	7,0 x 10 ⁶	0 ^b	5,8 x 10 ⁸	0 ^b	5,2 x 10 ⁸	0 ^b
2 ácido peracético (POAA) 80 ppm	9,4 x 10 ⁴	1,3	1,8 x 10 ⁶	0,6	2,9 x 10 ⁸	0,3	3,9 x 10 ⁸	0,1
3 ácidos peracético-peroctanóico (POAA-POOA) 80ppm	1,8 x 10 ⁴	2,1	8,0 x 10 ³	2,9	1,0 x 10 ⁶	2,8	5,0 x 10 ⁵	2,0

a) Log R = redução log

b) O controle água foi usado como uma base de fundo para as reduções Log de eficiência de tratamento.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo de controle de patógenos microbiais sobre tecido de planta viva, **CARACTERIZADO** pelo fato de compreender tratamento do dito tecido de planta com uma
5 solução aquosa diluída compreendendo uma quantidade efetiva de um ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico e um ácido C₈₋₁₂ peróxi carboxílico alifático.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o tecido de planta compreende
10 uma semente.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o tecido de planta compreende um tubérculo.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o tecido de planta compreende
15 uma planta crescendo.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o tecido de planta compreende um corte.

20 6. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o tecido de planta compreende estoque de raiz.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a solução aquosa compreende:

25 (a) pelo menos 4 partes por milhão (ppm) de um ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico; e

(b) pelo menos 1 parte por milhão (ppm) de um ácido C₈₋₁₂ peróxi carboxílico alifático.

8. Processo, de acordo com a reivindicação
CARACTERIZADO pelo fato de que o ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico é ácido peróxi acético.

9. Processo, de acordo com a reivindicação 1,
5 **CARACTERIZADO** pelo fato de que o dito ácido C₈₋₁₂ peróxi carboxílico alifático é ácido peróxi octanóico.

10. Processo para controle de patógenos de plantas microbiais e de fungos em plantas crescendo,
CARACTERIZADO pelo fato de compreender:

10 (a) diluição de um concentrado líquido aquoso compreendendo:

(i) de 1 a 20% em peso de um ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico; e

(ii) de 0,1 a 20% em peso de um ácido C₈₋₁₂ peróxi
15 carboxílico para formar uma solução; e

(b) contactando as ditas plantas crescendo com a dita solução.

11. Processo, de acordo com a reivindicação 10,
CARACTERIZADO pelo fato de que o ácido C₂₋₄ peróxi
20 carboxílico é ácido peróxi acético.

12. Processo, de acordo com a reivindicação 10,
CARACTERIZADO pelo fato de que o ácido C₈₋₁₂ peróxi carboxílico alifático é ácido peróxi octanóico.

13. Processo, de acordo com a reivindicação 10,
25 **CARACTERIZADO** pelo fato de que o concentrado ainda compreende de 1 a 15% em peso de um hidrótropo.

14. Processo, de acordo com a reivindicação 13,
CARACTERIZADO pelo fato de que o hidrótropo é n-octano

sulfonato, um xileno sulfonato, um naftaleno sulfonato, um óxido de amina ou uma mistura dos mesmos.

15. Processo, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o concentrado ainda
5 compreende um agente quelante.

16. Processo, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quelante é ácido 1-hidroxi etilideno-1,1-difosfônico.

17. Processo para controle de patógenos de
10 plantas microbiais e de fungos em plantas crescendo, **CARACTERIZADO** pelo fato de compreender:

(a) diluição de um concentrado líquido compreendendo:

(i) de 1 a 20% em peso de um ácido C₂₋₄ peróxi
15 carboxílico; e

(ii) de 0,1 a 20% em peso de um ácido C₈₋₁₂ peróxi carboxílico alifático;

(iii) de 5 a 40% em peso de um ácido C₂₋₄ carboxílico;

20 (iv) de 1 a 20% em peso de um ácido C₈₋₁₂ carboxílico alifático; e

(v) de 1 a 30% em peso de peróxido de hidrogênio para formar uma solução; e

25 b) colocar em contato as ditas plantas crescendo com a dita solução.

18. Processo, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ácido C₂₋₄ peróxi carboxílico é ácido peróxi acético.

19. Processo, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ácido C₈₋₁₂ alifático peróxi carboxílico é ácido peróxi octanóico.

20. Processo, de acordo com a reivindicação 17, **5 CARACTERIZADO** pelo fato de que o concentrado ainda compreende de 1 a 15% em peso de um hidrótropo.

21. Processo, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o hidrótropo é n-octano sulfonato, um xileno sulfonato, um naftaleno sulfonato, um
10 óxido de amina ou uma mistura dos mesmos.

22. Processo, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o concentrado ainda compreende um agente quelante.

23. Processo, de acordo com a reivindicação 22, **15 CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quelante é ácido 1-hidroxi etilideno-1,1-difosfônico.

24. Processo, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o dito ácido C₂₋₄ carboxílico é ácido acético.

20 25. Processo, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o dito ácido C₈₋₁₂ carboxílico alifático é ácido octanóico.

RESUMO

"TRATAMENTO COM PEROXIÁCIDO PARA CONTROLAR ORGANISMOS PATOGÊNICOS SOBRE PLANTAS EM CRESCIMENTO"

Ambos, um processo e um método de uso de
5 composições perácido, especialmente sistemas perácido
mistos, para tratar tecido, sementes e frutos de plantas
crescidas no campo ou estufa, e meios de crescimento e
recipientes. O perácido pode diminuir o patógeno de planta
natural e carga microbial patogênica humana resultando em
10 menos desperdício para mofo, estragos, e destruição devido a
venenos patogênicos.