

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 961 392**

(51) Int. Cl.:

B01J 37/03 (2006.01)
B01J 35/00 (2006.01)
B01J 21/06 (2006.01)
B01J 23/06 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.05.2012 PCT/US2012/036337**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **08.11.2012 WO12151407**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.05.2012 E 12779504 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2023 EP 2704825**

(54) Título: **Usos de composiciones fotocatalíticas de dióxido de titanio**

(30) Prioridad:

04.05.2011 US 201161482393 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.03.2024

(73) Titular/es:

**AVERETT, STEWART, BENSON (50.0%)
2311 NE 48th Street
Lighthouse Point, FL 33064, US y
AVERETT, DEVRON, R. (50.0%)**

(72) Inventor/es:

**AVERETT, STEWART, BENSON y
AVERETT, DEVRON, R.**

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 961 392 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Usos de composiciones photocatalíticas de dióxido de titanio

Campo

- 5 La presente divulgación se refiere a novedosas composiciones photocatalíticas que comprenden nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2), que son útiles en el tratamiento de enfermedades microbianas, más específicamente, enfermedades microbianas en plantas.

Antecedentes

10 En las últimas décadas, el desarrollo y la exploración de las propiedades de materiales condujeron al reconocimiento de la naturaleza photocatalítica de óxidos metálicos cristalinos tales como el TiO_2 (Fujishima *et al.*, *Nature*, vol. 238, págs. 37-38, 1972). Se ha dedicado mucho esfuerzo a investigar en esta área, dando como resultado una amplia gama de posibles aplicaciones, tales como sensores, photocatalizadores y dispositivos fotovoltaicos. Las propiedades de tales materiales dependen de su composición química, tamaño y forma. En particular, a medida que disminuye el tamaño de partícula de los materiales, pueden surgir nuevas propiedades físicas y químicas como resultado del gran aumento del área de superficie. Sin embargo, la relación entre las propiedades físicas y las actividades photocatalíticas es compleja, y las estructuras y condiciones óptimas pueden variar de un caso a otro, tal como se comenta en la revisión extensa de Chen *et al.* de los métodos de síntesis y la fisicoquímica de las nanopartículas de TiO_2 (*Chemical Reviews*, vol. 107, págs. 2891-2959, 2007).

20 Algunos años después del descubrimiento de la photocatálisis por TiO_2 , algunos estudios mostraron que TiO_2 actúa como recubrimiento antimicrobiano activado por luz cuando se irradia durante 60-120 minutos con radiación ultravioleta (UV) (387 nm); se demostró que el recubrimiento tiene una alta acción bactericida contra *Escherichia coli* y *Lactobacillus acidophilus* (Matsunaga *et al.*, *FEMS Microbiology Letters*, vol. 29, págs. 211-214, 1985). El trabajo posterior condujo al desarrollo de formulaciones de TiO_2 a nanotalla que pueden tener efectos inhibidores sobre una gama de organismos bacterianos, fúngicos y virales (por ejemplo, Tsuang *et al.*, *Artificial Organs*, vol. 32, págs. 167-174, 2008 y Choi *et al.*, *Angle Orthodontist*, vol. 79, págs. 528-532, 2009), incluyendo organismos que aumentan el riesgo de infección adquirida en hospital cuando están presentes sobre las superficies (Dancer, S.J., *Lancet Infectious Diseases*, vol. 8, págs. 101-113, 2008). Por tanto, cuando se desea una contaminación microbiana reducida en superficies inanimadas, los recubrimientos de TiO_2 a nanotalla pueden aplicarse a esa superficie seguido de iluminación con UV.

30 Más recientemente, han surgido algunos informes que indican que TiO_2 puede aplicarse a plantas para proporcionar determinados beneficios. Kawai propuso que el efecto oxidativo photocatalizado a partir de la aplicación de una preparación de TiO_2 degrada el material orgánico y, de ese modo, aumenta las concentraciones locales de CO_2 en la superficie de las hojas, lo que conduce a un aumento del contenido de azúcar vegetal, y también crea una condición antibacteriana en al menos algunas plantas por la oxidación de lípidos vegetales para inducir mecanismos de defensa de la planta endógenos que reducen el impacto de los microbios patógenos (patente estadounidense n.º 6.589.912). Se informó que un TiO_2 a nanotalla photocatalítico comercial con un tamaño de partícula promedio de 30 nm aceleraba la floración y la fructificación y reducía la incidencia de determinadas enfermedades (patente japonesa n.º 2006-632721). Otro grupo también informó que las partículas de TiO_2 de 30 nm en promedio redujeron el grado de enfermedad a partir de dos bacterias en hojas de pepino y también aumentaron la tasa fotosintética (Zhang *et al.*, *Nanoscience*, vol. 12(1), págs. 1-6, 2007; Zhang *et al.*, *Journal of Inorganic Materials*, vol. 23(1), págs. 55-60, 2008; y Cui *et al.*, *NSTI-Nanotech*, vol. 2, págs. 286-289, 2009).

45 El TiO_2 a nanotalla absorbe luz en el intervalo UV, pero tiene muy poca absorbancia en el intervalo visible; esta característica hace que sea un componente útil en aplicaciones en las que resulta práctica la protección frente al daño por UV. Sin embargo, en algunas aplicaciones, sería preferible lograr el efecto photocatalítico con luz de longitud de onda más larga. Por ejemplo, la luz interior generalmente presenta una energía UV mínima, lo que reduce en gran medida la capacidad del TiO_2 a nanotalla para presentar photocatálisis. De manera similar, una mayor eficiencia photocatalítica en aplicaciones agrícolas puede reducir las tasas de aplicación y los costes, y pueden obtenerse múltiples beneficios al aumentar la fracción de irradiación solar disponible capturada por el photocatalizador. Por tanto, aumentar la absorbancia de longitudes de onda más largas permitiría los beneficios de los efectos photocatalíticos en una gama más amplia de aplicaciones.

50 La investigación durante muchos años ha demostrado que el espectro de absorción de TiO_2 puede alterarse por la introducción de agentes dopantes que cambian la estructura de red cristalina. Un informe más reciente muestra que el espectro de absorción puede ampliarse a todo el intervalo visible para producir un material que es negro a simple vista (Chen *et al.*, *Science Xpress*, págs. 1-10, publicación online del 20 de enero de 2011, *Science*, 1200448). Sin embargo, un espectro de absorción tan amplio es indeseable para su uso en plantas, las cuales dependen de la irradiación solar para la fotosíntesis.

55 La eficiencia fotosintética de las plantas varía a lo largo del espectro electromagnético. Puede medirse el número de fotones de una energía o longitud de onda dada que son necesarios para dar una tasa fotosintética determinada, y cuando esto se determina a lo largo de un intervalo de longitudes de onda, se obtiene un espectro de acción. Se han

informado espectros de acción detallados a lo largo de un amplio intervalo de luz monocromática para diversas especies de plantas. Se informó de un estudio sistemático de los espectros de acción para 33 especies de plantas superiores (Inada, K., Plant and Cell Physiology, vol. 17, págs. 355-365, 1976). De interés es la observación de que los espectros de acción para todas las plantas herbáceas son generalmente similares, con un pico alto y amplio a 500-680 nm, que se extiende a un hombro más bajo y más estrecho a aproximadamente 435 nm, con una rápida disminución a longitudes de onda más cortas. El espectro para plantas arbóreas es similar, aunque el tamaño del hombro a 435 nm se reduce en comparación con las plantas herbáceas.

El documento US20090104086 A1 da a conocer nanocristales de dióxido de titanio fotocatalíticos que pueden aplicarse a plantas para potenciar el crecimiento y prevenir una infección microbiana.

Por tanto, existe la necesidad de un material fotocatalítico eficiente que absorba la energía electromagnética de manera eficiente para longitudes de onda por debajo de aproximadamente 450 nm.

Existen requisitos adicionales para un agente potenciador del rendimiento y protector de cultivos fotocatalítico optimizado, incluyendo el coste y la abundancia de materias primas, la facilidad de síntesis y aplicación y especialmente una baja toxicidad medioambiental y, por tanto, una seguridad bien establecida para cualquier material que comprenda el agente.

Sumario

La presente invención se refiere a un método para tratar o prevenir enfermedades e infestaciones microbianas en una planta que comprende: aplicar a la superficie de una planta una composición fotocatalítica que comprende nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) dopadas con zinc (Zn) y Si, en el que la adición del agente dopante aumenta la absorbancia de luz a lo largo del intervalo de 200 nm a 500 nm, y en el que la absorbancia de luz de longitudes de onda más largas de 450 nm es menor del 50 % de la absorbancia de luz de longitudes de onda más cortas de 350 nm. La invención también se refiere a un método para aumentar el rendimiento de cultivo de una planta que comprende aplicar a la superficie de una planta una composición fotocatalítica que comprende nanopartículas de dióxido de titanio dopadas con zinc, que tienen una razón de dióxido de titanio con respecto a zinc de desde 5 hasta 150.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una representación gráfica de la captura de energía solar de diversas composiciones de TiO_2 .

La figura 2 es una representación gráfica de la actividad fotocatalítica de diversas composiciones de TiO_2 cuando se irradian a 354 nm.

La figura 3 muestra la destrucción fotocatalítica de *Xanthomonas perforans* sobre superficies tratadas con diversas composiciones de TiO_2 usando luz UV-A.

La figura 4 muestra la eficacia de diversas composiciones de TiO_2 en la prevención/reducción del número de lesiones de manchado foliar por planta en luz solar.

La figura 5 muestra la eficacia de tratamientos seleccionados para el control de roña del olivo en luz solar.

La figura 6 muestra el efecto de diversas composiciones de TiO_2 sobre el desarrollo de conidios de *Sphaerotheca fuliginea/Erysiphe cichoracearum*, el agente causal fúngico de mildiu pulverulento, bajo luz solar.

Descripción detallada

La divulgación describe composiciones fotocatalíticas modificadas que cumplen con el requisito de un producto fotocatalítico ampliamente útil para su uso en plantas, y demuestran superioridad sobre el TiO_2 a nanoescala no modificado. Además, se han evaluado las tasas de aplicación apropiadas. Las composiciones previenen el manchado foliar negro en tomateras, aumentan el rendimiento de fruta comercializable, reducen la formación de conidios por mildiu pulverulento en melón cantalupo y protegen los olivos frente a tumores inducidos por microbios. Las composiciones contienen únicamente materiales bien caracterizados y seguros, y pueden aplicarse fácilmente en el campo usando equipos de pulverización habituales. Las mejoras realizadas en la invención proporcionan los beneficios de actividad fotocatalítica en entornos de baja irradiancia UV, incluyendo luz artificial interior.

La composición fotocatalítica comprende nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) dopadas con zinc (Zn), que es útil en el tratamiento y la prevención de enfermedades e infestaciones microbianas, más específicamente, enfermedades microbianas en plantas.

En un aspecto, la composición fotocatalítica comprende nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) dopadas con zinc (Zn) que tienen una razón de dióxido de titanio con respecto a zinc de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 150. La razón de dióxido de titanio con respecto a zinc es preferiblemente de desde aproximadamente 40 hasta aproximadamente 100.

La composición fotocatalítica puede comprender además dióxido de silicio (SiO_2). La razón de dióxido de titanio con respecto a dióxido de silicio es de desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 500, preferiblemente desde aproximadamente 3 hasta aproximadamente 20.

5 Las nanopartículas de dióxido de titanio tienen preferiblemente un tamaño de partícula promedio de desde aproximadamente 2 nm hasta aproximadamente 20 nm.

La composición fotocatalítica puede comprender:

- (A) de aproximadamente 5000 a aproximadamente 8000 ppm de dióxido de titanio,
- (B) de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 ppm de zinc, y
- (C) de aproximadamente 500 a aproximadamente 1000 ppm de dióxido de silicio.

10 La composición fotocatalítica absorbe radiación electromagnética en un intervalo de longitud de onda de desde aproximadamente 200 nm hasta aproximadamente 500 nm, y la absorbancia de luz de longitudes de onda más largas de aproximadamente 450 nm es menor del 50 % de la absorbancia de luz de longitudes de onda más cortas de aproximadamente 350 nm.

15 La divulgación también describe un método para tratar o prevenir enfermedades e infestaciones microbianas en una planta que comprende aplicar a la superficie de una planta una composición fotocatalítica que comprende nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) dopadas con zinc (Zn), que tienen una razón de dióxido de titanio con respecto a zinc de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 150.

20 Los ejemplos de plantas que van a tratarse incluyen, pero no se limitan a, plantas de cultivo, que incluyen plantas de cultivo herbáceas y leñosas, por ejemplo, tomateras, pepineras, plantas de cítricos, olivos y otras plantas de drupas, manzanos y otras plantas de pomos, plantas de frutos secos y plantas ornamentales.

Los ejemplos de enfermedades microbianas incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de manchado foliar, roña del olivo, añublo escaldado, tizón del nogal, cancro del cerezo y mildiu pulverulento.

25 En un aspecto, la invención proporciona un método para aumentar el rendimiento de cultivo de una planta que comprende aplicar a la superficie de una planta una composición fotocatalítica que comprende nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) dopadas con zinc (Zn), que tienen una razón de dióxido de titanio con respecto a zinc de desde 5 hasta 150.

30 La divulgación también describe un método para tratar o prevenir una enfermedad o infestación microbiana en una superficie que comprende aplicar a una superficie iluminada por luz artificial una composición fotocatalítica que comprende nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) dopadas con zinc (Zn), que tienen una razón de dióxido de titanio con respecto a zinc de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 150. El uso en el presente documento de "superficie" significa un objeto inanimado o animado incluyendo plantas.

35 La invención proporciona un método para tratar o prevenir enfermedades e infestaciones microbianas en una planta que comprende: aplicar a la superficie de una planta una composición fotocatalítica que comprende nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) dopadas con zinc (Zn) y Si, en el que la adición del agente dopante aumenta la absorbancia de luz a lo largo del intervalo de 200 nm a 500 nm, y en el que la absorbancia de luz de longitudes de onda más largas de 450 nm es menor del 50 % de la absorbancia de luz de longitudes de onda más cortas de 350 nm.

40 Además, la divulgación describe una composición fotocatalítica que absorbe radiación electromagnética en un intervalo de longitud de onda de desde aproximadamente 200 nm hasta aproximadamente 500 nm, y la absorbancia de luz de longitudes de onda más largas de aproximadamente 450 nm es menor del 50 % de la absorbancia de luz de longitudes de onda más cortas de 350 nm. La composición comprende nanopartículas de dióxido de titanio dopadas mediante al menos un agente dopante, en la que el agente dopante altera la estructura de red cristalina de las nanopartículas de dióxido de titanio, alterando de ese modo el espectro de absorbancia de la composición.

45 La divulgación describe materiales fotocatalíticos que absorben una mayor proporción de energía electromagnética disponible en un intervalo de longitud de onda que se selecciona para no interferir sustancialmente con la fotosíntesis. Sin embargo, se apreciará que la utilidad de la presente invención no se limita a usos agrícolas, puesto que una utilización mejorada de la energía de luz de longitudes de onda inferiores a 500 nm puede proporcionar beneficios en una variedad de entornos. La invención no se limita a ninguna teoría o mecanismo particular de beneficio fotocatalítico, puesto que la fotocatálisis puede proporcionar beneficios mediante múltiples mecanismos. Además, pueden variarse los métodos de síntesis usados para fabricar tales materiales, y la invención no está limitada a ningún modo de fabricación particular.

La presente invención se ilustra mediante el uso de formulaciones de la invención dispersadas en agua para su aplicación conveniente a una amplia gama de superficies, pero las preparaciones contempladas en la invención

también pueden dispersarse en otros disolventes, y también pueden utilizar colorantes, dispersantes, portadores y agentes anfipáticos para facilitar la comodidad de uso o la aplicación uniforme en entornos seleccionados.

5 Aparte de en los ejemplos de funcionamiento, o cuando se indique lo contrario, debe entenderse que todos los números que expresan cantidades de componentes están modificados en todos los casos mediante el término "aproximadamente".

"Al menos uno", tal como se usa en el presente documento, significa uno o más y, por tanto, incluye componentes individuales así como mezclas/combinaciones.

El término "que comprende" (y sus variaciones gramaticales), tal como se usa en el presente documento, se usa en el sentido inclusivo de "que tiene" o "que incluye" y no en el sentido exclusivo de "que consiste únicamente en".

10 Se entiende que los términos "un/a" y "el/la", tal como se usan en el presente documento, engloban el plural así como el singular.

Se entiende que los términos "dopado" o "dopar", tal como se usan en el presente documento, engloban la introducción de una o más impurezas (por ejemplo, dopante, agente dopante) en un material con el propósito de modificar las propiedades del material.

15 Los términos "tratamiento" y "tratar" incluyen la mitigación de una enfermedad o infestación microbiana preexistente.

Los términos "prevención" y "profilaxis" incluyen la reducción de la incidencia o gravedad de una enfermedad o infestación o bien en individuos o bien en poblaciones.

20 La invención se entenderá adicionalmente mediante los siguientes ejemplos que, aunque ninguno de ellos da a conocer un método tal como se define en la reivindicación 1 o en la reivindicación 6, ilustran las propiedades de los materiales usados según estas reivindicaciones o materiales estrechamente relacionados.

Ejemplos

Ejemplo 1:

25 Se compararon las características de absorción de TiO₂ a nanoescala con TiO₂ a nanoescala dopado con dos niveles de zinc diferentes y SiO₂, a lo largo del intervalo de longitud de onda de 350 nm a 500 nm. Las composiciones de nanopartículas se fabricaron mediante un procedimiento de sol-gel modificado, para producir formulaciones que contenían nanopartículas de TiO₂ de anatasa cuyo tamaño promedio era de 6 a 7 nm. El zinc se incorporó como agente dopante para proporcionar o bien un bajo contenido de zinc (0,125 % con respecto a TiO₂) o bien un alto contenido de zinc (1,25 % con respecto a TiO₂). Cuando el SiO₂ era un dopante adicional, estaba presente al 10 % con respecto a TiO₂. Se secaron las preparaciones y se midió la absorbancia usando métodos convencionales para obtener espectros de reflectancia difusa (DRS) de polvos. La irradiancia solar (hemisférica, inclinación de 37°) a partir de la norma ASTM G173-03 a lo largo de este intervalo espectral se muestra como referencia. (Véase la figura 1).

30 Resulta evidente tras la inspección que las preparaciones de TiO₂ dopadas con heteroátomos absorben más fuertemente que el TiO₂ no dopado por lo demás similar en la región de UV cercano y violeta del espectro. Las preparaciones dopadas absorben del 25 al 35 % más de la energía disponible desde 400 hasta 450 nm, una región en la que la irradiancia solar es relativamente alta pero todavía está fuera del espectro de acción fotosintética principal de las plantas.

Ejemplo 2: Actividad fotocatalítica de diversas formulaciones de TiO₂ dopadas con Zn y SiO₂ bajo iluminación con UV.

40 Las cuatro formulaciones descritas en el ejemplo 1 se sometieron a prueba para determinar su actividad fotocatalítica en un sistema estandarizado. Cada preparación se suspendió en agua a aproximadamente 8000 ppm y se aplicó a un panel de vidrio usando un pulverizador robótico de alto volumen y baja presión, y se permitió su secado durante 24 horas. Cada uno de estos paneles se unió a un tubo de vidrio para formar un recipiente, en el que se colocaron 30 ml de una disolución acuosa de azul de metileno a una concentración que proporcionó una densidad óptica de 2,3 a 664 nm. Los tubos se cubrieron con un panel de vidrio y se sometieron a iluminación a una densidad de energía de aproximadamente 0,5 mW/cm² a partir de una lámpara (artículo GE F18T8/BLB) que proporcionaba iluminación ultravioleta a 354 nm. Esta lámpara no proporciona luz a longitudes de onda por debajo de 300 nm ni por encima de 400 nm. La densidad óptica de la disolución de azul de metileno en cada muestra se monitorizó durante un periodo de 48 horas y se muestra en la figura 2.

45 50 La figura 2 muestra que los nanorrecubrimientos provocaron una disminución en la densidad óptica, que es el resultado de la degradación fotocatalítica del colorante orgánico azul de metileno. Los recubrimientos que tenían las mayores cantidades de dopantes proporcionaron las disminuciones más rápidas, compatibles con una mayor absorbancia de luz a partir de la lámpara en el intervalo UV (354 nm).

Ejemplo 3: Actividad fotocatalítica de diversas formulaciones de TiO₂ dopadas con Zn y SiO₂ bajo iluminación con luz visible.

Las cuatro formulaciones descritas en el ejemplo 1 se sometieron a prueba para determinar su actividad fotocatalítica en un segundo sistema, en el que la iluminación experimental se cambió para imitar más estrechamente una iluminación relevante tal como luz diurna o luz interior, que son deficientes en la energía ultravioleta usada en el ejemplo 2. Además, para este ejemplo, las formulaciones de nanopartículas se evaluaron como suspensiones coloidales en tampón fosfato 20 mM, pH 7,2, en lugar de en una superficie estática. El experimento se realizó en un formato de placa de 96 pocillos, en el que cada pocillo contenía azul de metileno (DO₆₅₅ observada que oscilaba desde 0,05 hasta 0,5) y una formulación de nanopartículas o controles apropiados en un volumen final de 200 microlitros. La placa se iluminó desde una distancia de 20 cm con luz a partir de dos lámparas Sylvania Gro-Lux (F20 T12 GRO/AQ). Estas lámparas emiten únicamente el 2 % de su energía emitida total por debajo de 400 nm, mientras que aproximadamente el 36 % de su energía total se emite entre 380 y 500 nm, con un máximo a 436 nm (referencia: Technical Information Bulletin "Spectral Power Distributions of Sylvania Fluorescent Lamps", Osram Sylvania, www.sylvania.com).

Las composiciones de las cuatro preparaciones sometidas a prueba en este experimento se verificaron independientemente mediante la técnica analítica conocida como ICP-AES (espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente), que demostró su contenido de TiO₂ equivalente y variaciones en la composición de Si y Zn tal como se describe en el ejemplo 1. Las preparaciones de nanopartículas se diluyeron en tampón para proporcionar concentraciones finales de 75 ppm de dióxido de titanio de cada formulación, con veinte pocillos replicados de cada formulación. Después de un corto periodo de equilibrado en la oscuridad, cada placa se expuso a iluminación con agitación, y se midió la densidad óptica a 655 nm múltiples veces usando un espectrofotómetro SpectraMax Plus de Molecular Devices. Se midieron las disminuciones lineales observadas en la densidad óptica debidas a cada formulación para proporcionar las tasas resumidas en la tabla 1:

Tabla 1:

	Ensayo 1	Ensayo 2
TiO ₂ , bajo contenido de Zn	0,0017*	0,0016
TiO ₂ , bajo contenido de Zn, alto contenido de Si	0,0020	No sometido a prueba
TiO ₂ , alto contenido de Zn, alto contenido de Si	0,0019	No sometido a prueba
TiO ₂ únicamente	No sometido a prueba	0,0013

*Todos los valores notificados son la disminución en la densidad óptica a 655 nm, por minuto

Resulta evidente que todas las formulaciones de TiO₂ dopadas muestran tasas significativamente aumentadas (del 25 % al 50 %) en comparación con la formulación de TiO₂ no dopada. La magnitud del aumento en la tasa de actividad fotocatalítica es altamente compatible con la mayor absorción de energía de luz en el intervalo de 400 nm a 450 nm que es evidente en los espectros descritos en el ejemplo 1.

Ejemplo 4: Destrucción fotocatalítica del patógeno vegetal *Xanthomonas perforans* sobre una superficie usando luz incandescente.

Se recubrieron por separado cubreobjetos de vidrio estériles con 0,5 ml volúmenes de uno de los varios tipos de suspensiones de nanopartículas (TiO₂, TiO₂/Ag o TiO₂/Zn). Las composiciones de nanopartículas, comparables con las del ejemplo 2, se fabricaron mediante un procedimiento de sol-gel modificado, para producir formulaciones que contenían nanopartículas de TiO₂ de anatasa cuyo tamaño promedio era de 6 a 7 nm, y que se doparon o bien con Ag o bien con Zn, usando una razón de TiO₂ con respecto a dopante de aproximadamente 400:1 y aproximadamente 800:1, respectivamente. Los cubreobjetos se secaron en condiciones estériles. Se aplicó un inóculo estandarizado de 0,1 ml de agua que contenía 10⁷ *Xanthomonas perforans* resistentes al cobre a los cubreobjetos tratados y no tratados. Luego, los cubreobjetos o bien se iluminaron con luz incandescente a una densidad de iluminación de 3 × 10⁴ lux o bien se mantuvieron en un entorno oscuro. A intervalos, los cubreobjetos se colocaron en tubos de centrífuga estériles que contenían 10 ml de agua estériles y se agitaron con vórtice. Las bacterias recuperadas se recogieron mediante centrifugación (14000 × g, 3 minutos) y se suspendieron en 1 ml de agua estéril. Se contaron los números de bacterias viables en las suspensiones resultantes mediante métodos convencionales de dilución de placas. Los resultados se muestran en la figura 3.

El examen de la figura 3 muestra que los tratamientos con nanopartículas dieron como resultado una destrucción de bacterias dependiente del tiempo y dependiente de la luz que no se observa en los cubreobjetos no tratados. La tasa de destrucción fue más rápida para las preparaciones dopadas que para el TiO₂ no dopado. Es de interés la

ausencia de destrucción bacteriana mediante TiO_2/Zn y TiO_2 no iluminados, mientras que TiO_2/Ag mostró cierta destrucción de bacterias incluso cuando no se iluminaba, lo que ilustra tanto la mayor toxicidad nativa del material que contiene Ag como el requisito de iluminación para proporcionar energía para el efecto antibacteriano photocatalítico.

- 5 Ejemplo 5: La infección de tomateras por *Xanthomonas perforans*, un agente causante de manchado foliar, se reduce mediante el tratamiento con materiales photocatalíticos.

Muchas enfermedades bacterianas de plantas están provocadas por expansiones incontroladas de poblaciones de bacterias preeexistentes, que en bajos números no provocan enfermedad. Por tanto, el principal método para controlar estas enfermedades en la agricultura es reducir la población de bacterias viables con el fin de evitar una expansión excesiva de bacterias que conducen al daño y a la enfermedad de la planta. El manchado foliar bacteriano del tomate es un sistema patológico en el que habitualmente se busca un enfoque preventivo de este tipo.

10 Un lote de semillas del cultivar de tomates BHN 602 se infectó de manera natural con la cepa de *Xanthomonas perforans* Xp1-7. Las plantas infectadas se trataron en la fase de 3-4 hojas con nanopartículas (TiO_2 , TiO_2/Ag y TiO_2/Zn) o bien sin diluir o bien después de una dilución de diez veces. Las composiciones de nanopartículas, comparables a las del ejemplo 4, se fabricaron mediante un procedimiento de sol-gel modificado, para producir formulaciones que contenían nanopartículas de TiO_2 de anatasa cuyo tamaño promedio era de 6 a 7 nm, y que se doparon o bien con Ag o bien con Zn, usando una razón de TiO_2 con respecto a dopante de aproximadamente 400:1 y aproximadamente 800:1, respectivamente. Las nanopartículas se suspendieron en agua a una concentración de 7.500-10.000 ppm o de 5.000 a 8,000 ppm tal como se indica en la figura 4. Las plantas se irrigaron diariamente para mantener el nivel de humedad del suelo al 85-95 %, y se rociaron con agua dos veces al día durante 15 minutos cada vez para potenciar el crecimiento de patógenos. Se sometieron a prueba tres plantas para cada tratamiento y el ensayo se configuró en un diseño de bloques completos aleatorizados. Las lesiones de manchado bacteriano se registraron antes y dos semanas después del tratamiento. Los resultados se muestran en la figura 4.

15 20 25 La barra de error representa el error estándar de la media.

Resulta evidente que todos los tratamientos con nanopartículas redujeron el número de lesiones de manchado bacteriano. La eficacia de cada preparación no se vio afectada significativamente por la dilución de diez veces en este experimento. Concretamente, la adición de un agente dopante a las nanopartículas de TiO_2 mejoró la eficacia en comparación con TiO_2 no dopado, compatible con una mayor actividad photocatalítica.

- 30 Ejemplo 6: Protección frente a la roña del olivo provocada por *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*.

35 La roña del olivo es una enfermedad de los olivos provocada por *P. syringae* pv. *savastanoi*, una bacteria gramnegativa móvil que crea tumores (roñas) en los olivos. El organismo sobrevive en estas roñas y se dispersa durante los períodos húmedos, tras lo cual ingresa en nuevos sitios a través de las heridas, incluyendo cicatrices de abscisión de hojas y flores y las inducidas por lesión mecánica provocada por el viento, la poda o las heladas. Estas roñas inhiben el crecimiento apropiado de la planta y reducen la producción de frutos. Al igual que en muchas otras enfermedades bacterianas de plantas, una reducción en la población de bacterias antes de que sea evidente la enfermedad previene o reduce la aparición de roña del olivo y, por tanto, los métodos para reducir la población bacteriana son un enfoque común en la agricultura.

40 45 50 En un estudio de invernadero, se inocularon las heridas de cicatrices en las hojas o bien con 10^5 o bien con 10^8 bacterias *P. syringae*, y luego se pulverizaron con una dilución de cincuenta veces de la preparación de TiO_2 /bajo contenido de Zn descrita en el ejemplo 1, proporcionando así una suspensión acuosa de 250 ppm, usando un pulverizador manual. Como controles se sometieron a prueba otros varios agentes. Estos agentes de control incluyen Vantocil B (una combinación de poli(HCl de hexametilenbiguanida con cloruro de alquildimetilamonio), de Arch Chemicals, Inc., ahora parte de Lonza Group Ltd., Basilea, Suiza); Deccosan 321 (una mezcla de varias sales de amonio cuaternario, de Decco Cerrexagri Inc., Monrovia, CA, EE.UU.); Kasumin (HCl de kasugamicina, de Arysta Lifescience N.A. LLC, Cary, NC, EE.UU.); Citrox (una mezcla patentada de aceite de cítricos, detergente y peróxido de hidrógeno, fabricada por Misco Products Corporation, Reading, PA, EE.UU.); y Kocide 3000 (hidróxido de cobre, de DuPont Culture Protection, EE.UU.). Los sitios inoculados se envolvieron con una monocapa de Parafilm durante un día para mantener suficiente humedad como para garantizar altas tasas de infección, a pesar de que esto redujo la cantidad de luz en el sitio de inoculación.

55 La primera evidencia de la formación de roña se observó después de un mes, y se realizó una primera evaluación cuantitativa después de siete semanas. En el inóculo de exposición más baja, el tratamiento con nanopartículas de TiO_2 /bajo contenido de Zn (denominado AgriTitan en la figura 5) fue completamente eficaz, similar a la mayoría de los demás agentes sometidos a prueba (figura 5). En el inóculo de exposición más alta, el tratamiento de pulverización con 250 ppm de TiO_2 /bajo contenido de Zn continuó siendo completamente eficaz, similar al tratamiento convencional actual de 1000 ppm de hidróxido de cobre. Todos los demás agentes sometidos a prueba fueron menos eficaces (figura 5).

Ejemplo 7: Experimento de campo en tomates

- La preparación de TiO₂ dopada con Zn usada en el experimento de invernadero se seleccionó para su uso en un ensayo de campo. Se seleccionó Zn como dopante para la investigación adicional debido a su aprobación por parte de la Agencia de Protección Medioambiental de EE.UU. como pesticida de riesgo mínimo, un estado que no se otorga a otros agentes dopantes posibles. Los ensayos de campo se realizaron para comparar la eficacia de TiO₂ dopado con Zinc a una razón de 800:1 (formulado como una suspensión coloidal al 0,7 % en H₂O) con los tratamientos convencionales para la prevención o el control de manchado foliar en tomateras. Cada grupo de tratamiento contenía 48 plantas (12 por parcela, 4 réplicas), y el ensayo usó un diseño de bloques completos aleatorizados. Se diluyó TiO₂/Zn en agua para proporcionar una gama de tasas de aplicación. Los controles incluían una formulación de sulfato de cobre o bien sola o bien junto con Manzate, y ningún tratamiento.
- 5 Las plantas se pulverizaron con materiales de prueba a intervalos semanales (8 veces) comenzando desde la primera semana después del trasplante. La gravedad de la enfermedad se calificó a intervalos mensuales usando una escala de 12 puntos adimensional, para evaluar el porcentaje de dosel arbóreo afectado por manchado foliar bacteriano (Horsfall *et al.*, *Phytopathology*, vol. 35, 655, Resumen, 1945). Estos valores se convirtieron a porcentajes medios y se usaron para generar el área bajo la curva de progresión de la enfermedad (AUDPC). También se tomaron datos de rendimiento comercializable basados en los grados de USDA a partir del ensayo de campo para determinar si las formulaciones a nanoscala tenían alguna acción herbicida en las tomateras. Los resultados se muestran en la tabla 2 y la tabla 3.
- 10 15

Tabla 2: Efecto de TiO₂/Zn sobre la incidencia de manchado bacteriano en tomates (variedad BHN 602), mostrado como área bajo la curva de progresión de la enfermedad (AUDPC) promedio.

Tratamiento	Dilución	AUDPC ^y
TiO ₂ /Zn	X/10 ^x	800,6 c ^z
	X/20	950,3 bc
	X/40	1000,1 b
	X/60	1033,4 ab
	X/80	933,6 bc
	X/100	1050,0 ab
Cobre		1050,0 ab
Cobre + Manzate		1033,4 ab
Sin tratar		1181,3 a

^x X representa la formulación no diluida de TiO₂/Zn.

^y Las gravedades de enfermedad se calificaron usando la escala de Horsfall-Barratt, una escala de 12 puntos adimensional, para evaluar el porcentaje de dosel arbóreo afectado por manchado bacteriano. Los valores se convirtieron a porcentajes medios y se usaron para generar la AUDPC.

^z Las medias de las columnas indicadas con las mismas letras no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) basándose en la prueba de Student-Newman Keuls.

- 20 Los resultados del ensayo de campo resumidos en la tabla 1 muestran que TiO₂/Zn proporcionó mejor protección contra la enfermedad espontánea de manchado foliar que cualquiera de los tratamientos convencionales. En comparaciones por pares, TiO₂/Zn diluido 1:10 fue estadística y significativamente mejor que cualquiera de los tratamientos de control, demostrando una reducción de más del 20 % en la AUDPC. Además, una comparación de los resultados para todas las diluciones de TiO₂/Zn como grupo con los controles como grupo mostró significación estadística ($p < 0,05$).
- 25

Tabla 3: Efecto de TiO₂/Zn sobre el rendimiento de tomates (kg/ha).

Tratamiento	Dilución	Rendimiento (kg/ha) ^y			
		Medio	Grande	Muy grande	Comercializable total

TiO ₂ /Zn	X/10 ^x	10047 a ^z	18581 a	38563 a	67191 a
	X/20	8702 a	16070 ab	38622 a	63394 a
	X/40	9248 a	18779 a	32594 a	60620 a
	X/60	8397 a	16980 ab	40102 a	65478 a
	X/80	6393 a	16392 ab	32446 a	55231 a
	X/100	8457 a	18319 a	35091 a	61867 a
Cobre		7744 a	13642 b	32006 a	53392 a
Cobre + Manzate		7653 a	14549 b	35656 a	57859 a
Sin tratar		6312 a	15293 ab	32670 a	54364 a

^x X representa la formulación no diluida de TiO₂/Zn.

^z Las medias de las columnas indicadas con las mismas letras no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) basándose en la prueba de Student-Newman Keuls.

Los resultados del ensayo de campo resumidos en la tabla 3 muestran que TiO₂/Zn no afectó de manera adversa al rendimiento de tomates comercializables. De hecho, se observaron mayores rendimientos para los grupos tratados con TiO₂/Zn; el rendimiento comercializable total de las plantas tratadas con el material de TiO₂/Zn diluido diez veces fue de más del 20 % mayor que el rendimiento de cualquier control. Aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa en comparaciones por pares individuales debido a las variaciones en el rendimiento dentro de cada grupo, una prueba estadística que compara los resultados de "comercializable total" para las seis diluciones de TiO₂/Zn como grupo con los tres tratamientos de control como grupo fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Ejemplo 8

Se realizó una réplica del ejemplo 7 en la siguiente temporada de crecimiento. El protocolo fue idéntico al ejemplo 7, en el que se aplicaron semanalmente diversas diluciones de la preparación acuosa de TiO₂ a nanoscala/bajo contenido de Zn mediante pulverización convencional de aire comprimido de alto volumen y baja presión a los tomates en el campo en un diseño de bloques aleatorizados, con controles apropiados. Los resultados para la progresión de la enfermedad se presentan en la tabla 4 a continuación, y demuestran un control de la enfermedad dependiente de la concentración. Desafortunadamente, no se disponía de datos de rendimiento para este experimento debido al grave daño provocado por una tormenta de granizo antes de la cosecha de los frutos.

Tabla 4: Efecto de TiO₂/Zn sobre la incidencia de manchado bacteriano en el cultivar de tomates "BHN 602", mostrado como área bajo la curva de progresión de la enfermedad (AUDPC) promedio.

Tratamiento	Dilución ^x	AUDPC ^y
TiO ₂ /Zn	X/10	583,6 d ^z
	X/20	741,1 abc
	X/40	724,5 bc
	X/60	752,5 abc
	X/80	757,8 abc
	X/100	806,8 ab
Kocide 3000		864,5 ab
Kocide 3000 + Penncozeb 75DF		642,3 cd

Sin tratar		892,9 a
LSD		107,5
$P > F$		<0,0001

^x X representa la formulación no diluida de TiO₂/Zn.

^y Las gravedades de enfermedad se calificaron usando la escala de Horsfall-Barratt, una escala de 12 puntos adimensional, para evaluar el porcentaje de dosel arbóreo afectado por manchado bacteriano. Los valores se convirtieron a porcentajes medios y se usaron para generar la AUDPC.

^z Las medias de las columnas indicadas con las mismas letras no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) basándose en la prueba de Student-Newman Keuls. Los datos de rendimiento no pudieron tomarse debido al daño significativo por granizo en los tomates una semana antes de la fecha de la primera cosecha.

Ejemplo 9

Se llevó a cabo un tercer ensayo de campo en el sistema de enfermedad de manchado de tomates en la siguiente temporada de crecimiento. Basándose en los resultados del ejemplo 7 y el ejemplo 8, no se sometieron a prueba las tasas de aplicación más diluidas de TiO₂/Zn y, por tanto, se redujo la capacidad para detectar una clara relación con las tasas aplicadas. Sin embargo, el resultado general seguía siendo el mismo (tabla 5).

5

Tabla 5: Efecto de TiO₂/Zn sobre la incidencia de manchado bacteriano en el cultivar de tomates "BHN 602", mostrado como área bajo la curva de progresión de la enfermedad (AUDPC) promedio, y sobre el rendimiento de tomates.

Rendimiento (kg/ha)						
Tratamiento	Dilución ^x	Medio	Grande	Muy grande	Comercializable total	AUDPC ^y
TiO ₂ /Zn	X/10	4.518 a ^z	7.512 a	15.251 a	27.281 a	995,8 c
	X/20	4.966 a	6.994 a	11.200 a	23.161 a	1.073,6 bc
	X/40	4.210 a	7.900 a	17.409 a	29.519 a	1.089,4 bc
Kocide 3000		4.532 a	6.986 a	11.258 a	22.776 a	1.306,4 ab
Kocide 3000 + Penncozeb 75DF		3.909 a	8.202 a	14.933 a	27.044 a	816,4 c
Sin tratar		5.449 a	7.093	15.159 a	27.700 a	1.410,5 a
LSD		ns	ns	ns	ns	277,3
$P > F$		0,7194	0,9652	0,4146	0,7845	0,0037

^x X representa la formulación no diluida de TiO₂/Zn.

^y Las gravedades de enfermedad se calificaron usando la escala de Horsfall-Barratt, una escala de 12 puntos adimensional, para evaluar el porcentaje de dosel arbóreo afectado por manchado bacteriano. Los valores se convirtieron a porcentajes medios y se usaron para generar la AUDPC.

^z Las medias de las columnas indicadas con las mismas letras no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) basándose en la prueba de Student-Newman Keuls.

10

Por tanto, en este tercer ensayo de campo, la aplicación de nanopartículas de TiO₂/bajo contenido de Zn demostró nuevamente actividad en el control del manchado bacteriano de tomates, basándose en la gravedad de enfermedad y el rendimiento del fruto. A una dilución de 1:10, TiO₂/Zn fue estadísticamente superior a cualquiera de cobre como agente individual o controles no tratados.

Ejemplo 10: Efecto de TiO₂/Zn, formulado como en los ejemplos 7 y 8, sobre el desarrollo de conidios de

Sphaerotheca fuliginea/Erysiphe cichoracearum, el agente causal fúngico de mildiu pulverulento.

Para el experimento, se marcaron pepineras con un número aproximadamente igual de lesiones en las hojas en condiciones de invernadero. Se usaron tres hojas para cada tratamiento. En la figura 6, "n" representa el número promedio de lesiones en estas hojas. Las lesiones estaban en el intervalo (0,1-0,6 cm). Las plantas se pulverizaron con TiO₂/Zn de fórmula 1 a concentraciones de 1/50 y 1/100X usando un pulverizador manual. Las plantas no tratadas se pulverizaron con agua destilada estéril. Las plantas se mantuvieron en el invernadero durante 48 horas. Se retiraron las hojas de las plantas y se observaron las lesiones bajo un microscopio para detectar la presencia o ausencia de conidios. (Véase la figura 6).

Estos resultados muestran que la aplicación de la preparación fotocatalítica redujo significativamente la capacidad del mildiu pulverulento de producir conidios, que son esenciales para su reproducción.

Es importante destacar que la construcción y la disposición de los métodos y las etapas mostrados en las realizaciones a modo de ejemplo son ilustrativas únicamente. Aunque sólo se han descrito en detalle algunas realizaciones de la presente divulgación, los expertos en la técnica apreciarán fácilmente que son posibles muchas modificaciones sin alejarse materialmente de las novedosas enseñanzas y ventajas del contenido recitado en las reivindicaciones. Por consiguiente, se pretende que la totalidad de tales modificaciones estén incluidas dentro del alcance de la presente divulgación tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para tratar o prevenir enfermedades e infestaciones microbianas en una planta que comprende: aplicar a la superficie de una planta una composición photocatalítica que comprende nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) dopadas con zinc (Zn) y Si, en el que la adición del agente dopante aumenta la absorbancia de luz a lo largo del intervalo de 200 nm a 500 nm, y en el que la absorbancia de luz de longitudes de onda más largas de 450 nm es menor del 50 % de la absorbancia de luz de longitudes de onda más cortas de 350 nm.
5
2. El método según la reivindicación 1, en el que la planta es un cultivo.
3. El método según la reivindicación 1, en el que la planta es una planta ornamental.
- 10 4. El método según la reivindicación 1, en el que la adición del agente dopante aumenta la absorbancia de luz a lo largo del intervalo de 350 nm a 450 nm.
5. El método según la reivindicación 1, en el que la composición photocatalítica comprende:
 - (a) de 5000 a 8000 ppm de dióxido de titanio,
 - (b) de 50 a 100 ppm de zinc, y
 - 15 (c) de 500 a 1000 ppm de dióxido de silicio.
6. Un método para aumentar el rendimiento de cultivo de una planta que comprende: aplicar a la superficie de una planta una composición photocatalítica que comprende nanopartículas de dióxido de titanio dopadas con zinc, que tienen una razón de dióxido de titanio con respecto a zinc de desde 5 hasta 150.
- 20 7. El método según la reivindicación 6, en el que la composición photocatalítica comprende además dióxido de silicio.
8. El método según la reivindicación 7, en el que la composición photocatalítica comprende:
 - (a) de 5000 a 8000 ppm de dióxido de titanio,
 - (b) de 50 a 100 ppm de zinc, y
 - 25 (c) de 500 a 1000 ppm de dióxido de silicio.

ES 2 961 392 T3

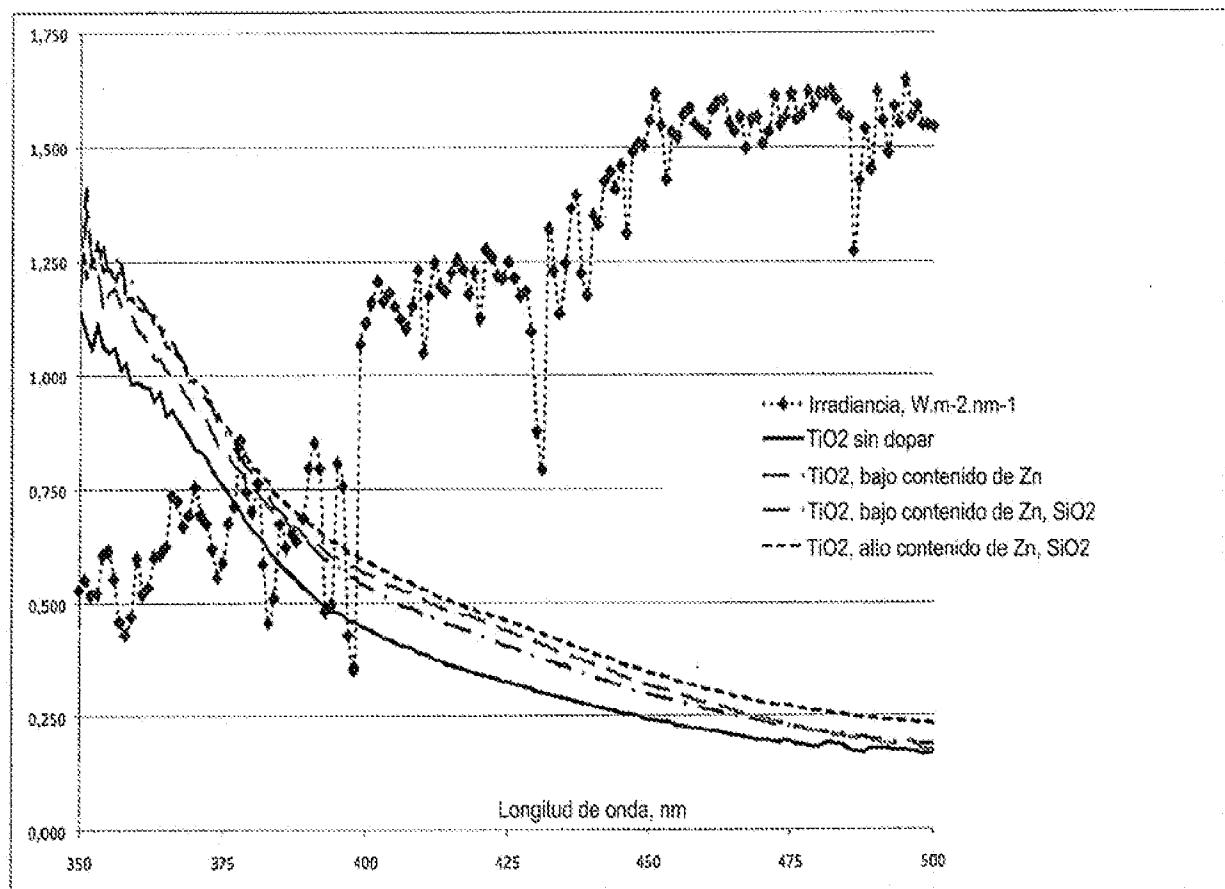


Figura 1

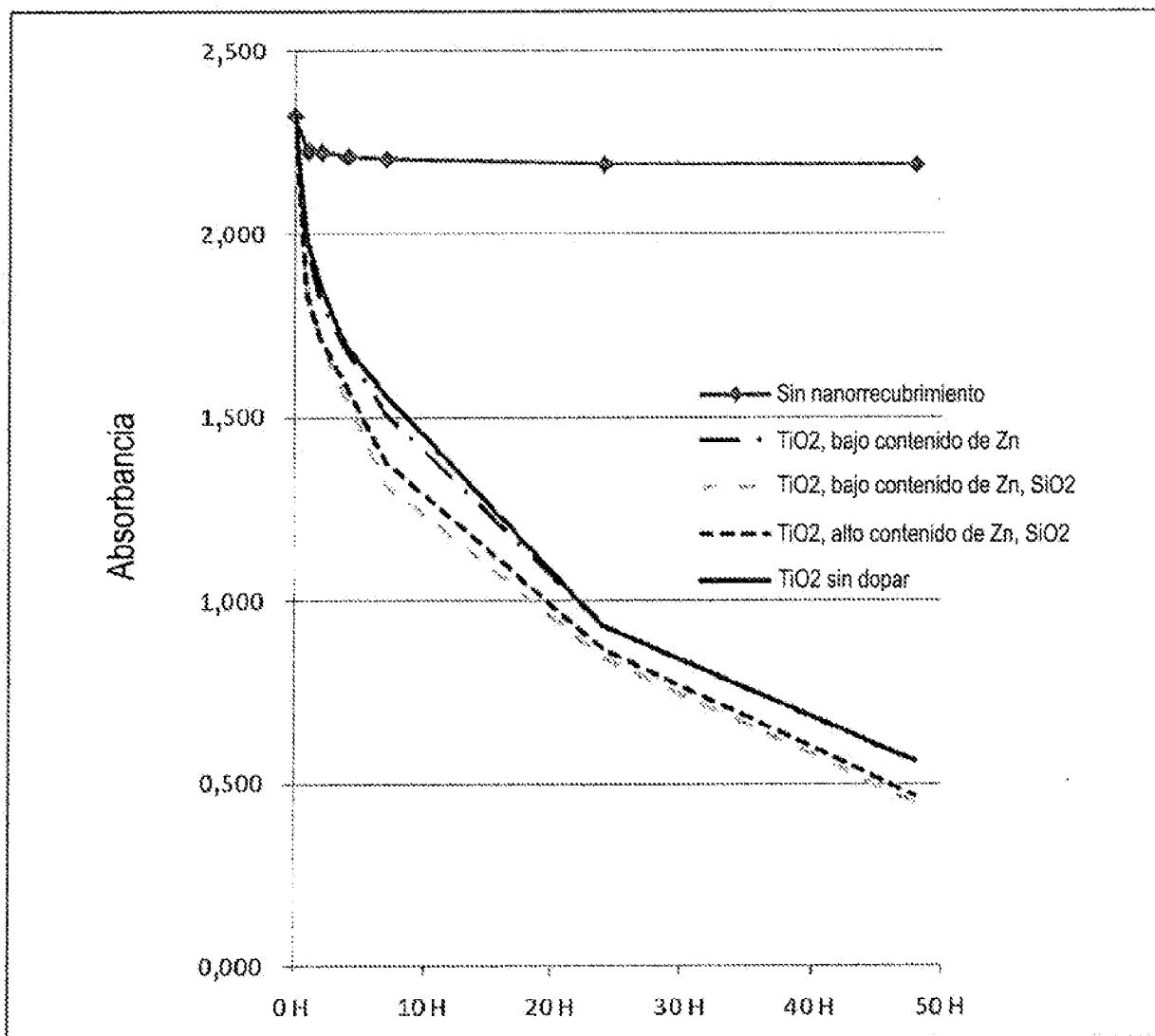


Figura 2

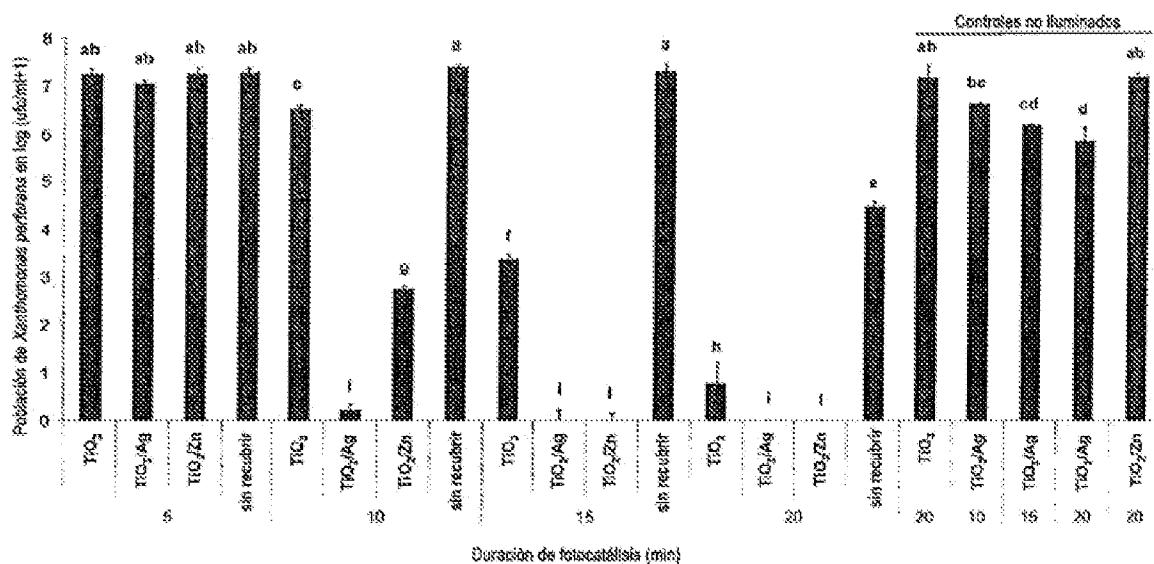


Figura 3. Destrucción photocatalítica de *Xanthomonas perforans*. Las medias de las columnas indicadas con las mismas letras no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) basándose en la prueba de Student-Newman Keuls.

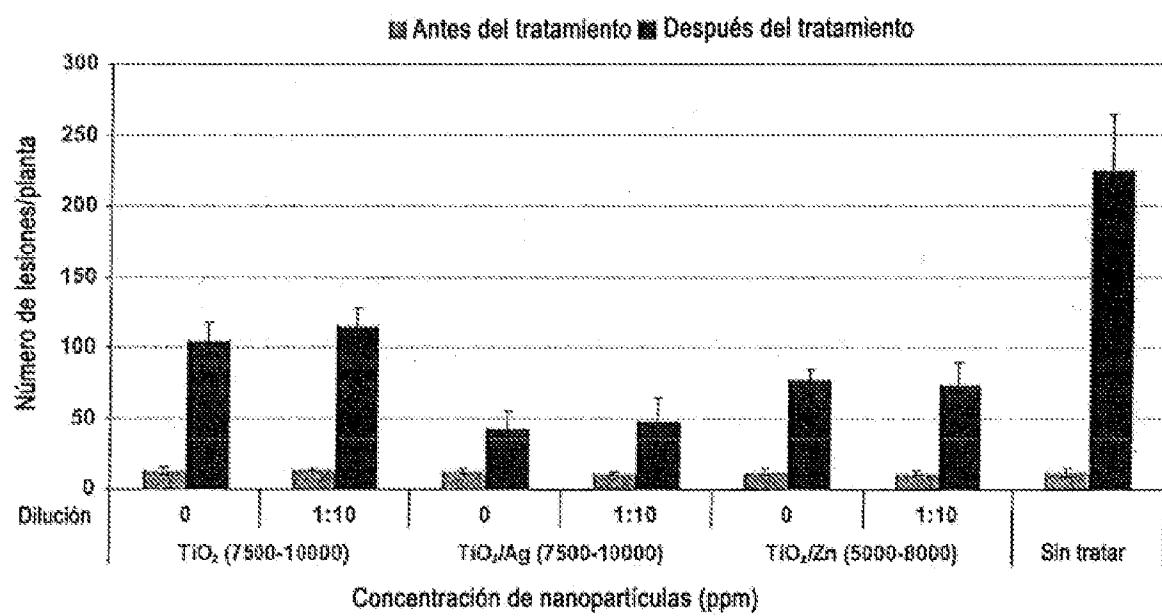
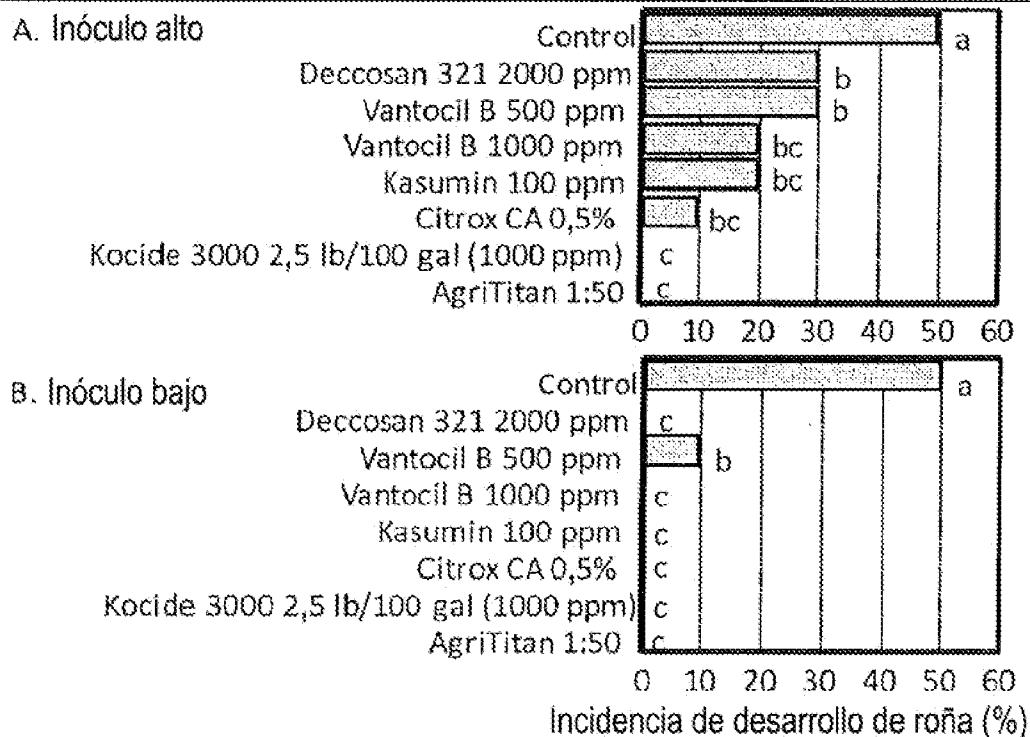


Figura 4:

Evaluación de tratamientos seleccionados para el control de roña del olivo en estudios de invernadero



Las lesiones de manchado foliar de olivos plantados en maceta se inocularon con *P. syringae* pv. *savastanoi* (10^5 ó 10^6 ufc/ml) y luego se trajeron con bactericidas y agentes saneadores seleccionados usando un pulverizador manual. Se realizó una evaluación preliminar después de 7 semanas.

Figura 5

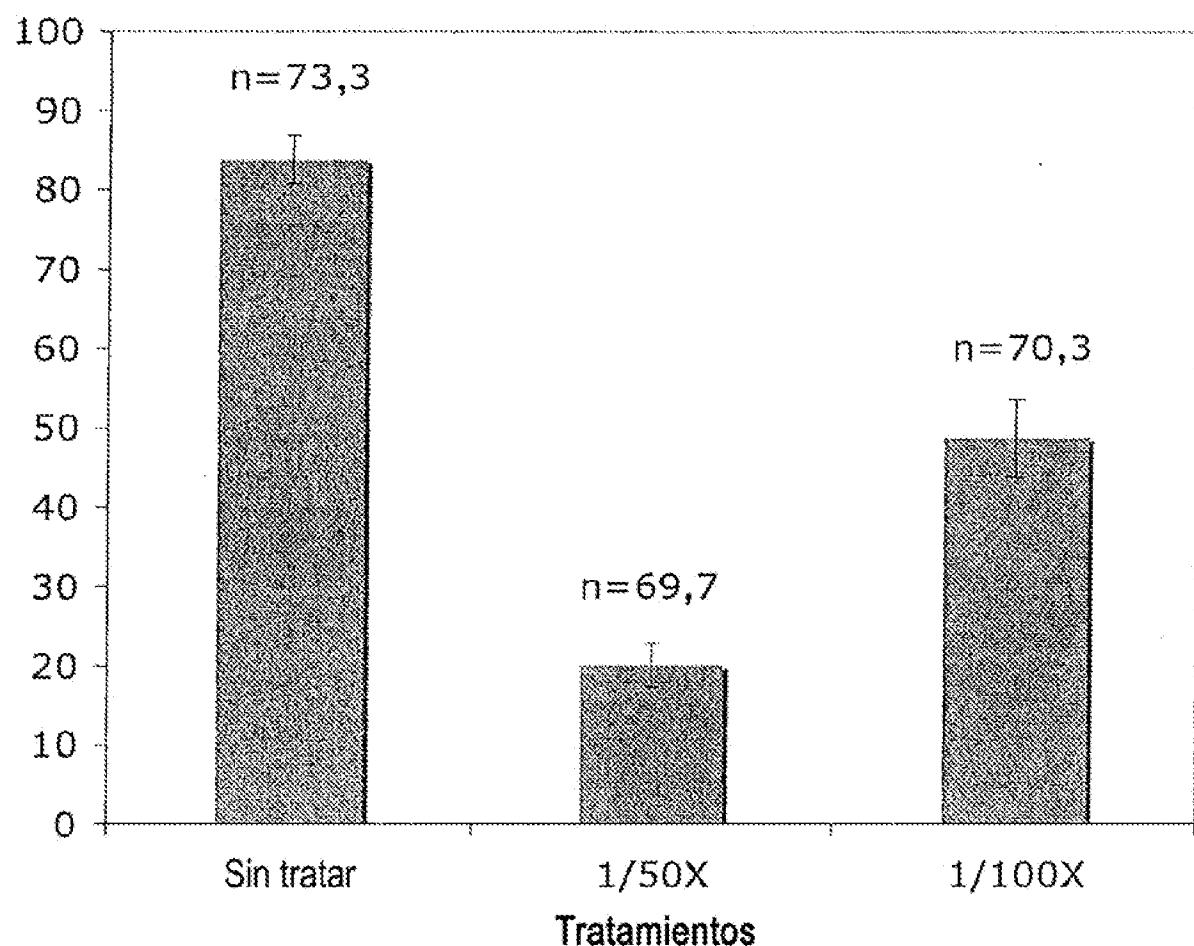


Figura 6: Porcentaje de lesiones con conidios

*La barra de error representa el error estándar de la media
esenta el error estándar de la media