



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105283073 B

(45)授权公告日 2019.04.16

(21)申请号 201480033811.X

(72)发明人 吉洛拉·克里茨曼

(22)申请日 2014.04.10

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105283073 A

代理人 高瑜 郑霞

(43)申请公布日 2016.01.27

(51)Int.Cl.

A01N 25/04(2006.01)

(30)优先权数据

A01N 25/10(2006.01)

225825 2013.04.18 IL

A01N 25/34(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A01N 63/00(2006.01)

2015.12.14

A01N 65/00(2009.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

A01P 1/00(2006.01)

PCT/IL2014/050346 2014.04.10

(56)对比文件

US 2011082040 A1,2011.04.07,

(87)PCT国际申请的公布数据

US 2006153886 A1,2006.07.13,

W02014/170893 EN 2014.10.23

审查员 王富强

(73)专利权人 诺巴克拉以色列有限公司

权利要求书2页 说明书15页

地址 以色列斯德沃伯格

(54)发明名称

运载油的颗粒物质及其用途

(57)摘要

本公开内容提供了一种颗粒物质，所述颗粒物质包含运载基本上干燥的组分的组合的颗粒，该组分包含至少一种天然油和至少一种表面活性剂，该组分被选择使得在与水接触后形成水包油乳液。特别地，形成的乳液是稳定乳液，具有至少若干小时的稳定性，如在该时间期间通过无相分离所观察到的。

1. 一种颗粒物质用于农业中抗微生物乳液的制备的用途，所述颗粒物质包含每一个吸收有基本上干燥的组分的组合的多孔颗粒，所述组分包含至少一种天然油和至少一种表面活性剂，所述至少一种天然油包含至少一种精油，所述组分被选择使得在与水接触后形成水包油乳液，其中所述颗粒物质包含所述颗粒物质的总重量中的不大于10% w/w的水含量。

2. 如权利要求1所述的用途，其中所述颗粒物质包含以所述颗粒物质的总重量中的20% w/w至50% w/w之间的量的所述至少一种天然油。

3. 如权利要求1所述的用途，其中所述颗粒物质包含以所述颗粒物质的总重量中的5% w/w至10% w/w之间的量的所述至少一种表面活性剂。

4. 如权利要求1所述的用途，其中所述颗粒是二氧化硅(SiO<sub>2</sub>)颗粒。

5. 如权利要求4所述的用途，其中所述SiO<sub>2</sub>颗粒包括膨润土珠。

6. 如权利要求4所述的用途，其中所述SiO<sub>2</sub>颗粒包括合成的无定形二氧化硅珠。

7. 如权利要求6所述的用途，其中所述合成的无定形二氧化硅珠是沉淀的合成的无定形二氧化硅珠。

8. 如权利要求1所述的用途，其中所述颗粒选自由以下组成的组：乳胶珠；碳酸钙吸附剂颗粒；纤维素珠；聚苯乙烯吸附剂珠；炭；琼脂糖珠；emulsan-海藻酸盐珠；壳聚糖珠；海藻酸钠珠；苯乙烯-马来酸共聚物珠；苯乙烯-二乙烯基苯珠和纤维素纸珠。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的用途，其中所述颗粒是以在10-25μm范围内的尺寸分布来表征。

10. 如权利要求1-8中任一项所述的用途，其中所述颗粒是以在400-550m<sup>2</sup>/g范围内的表面积来表征。

11. 如权利要求1-8中任一项所述的用途，其中所述颗粒是以在250-350ml/100克颗粒的范围内的油容量来表征。

12. 如权利要求1-8中任一项所述的用途，其中所述至少一种天然油包括植物油。

13. 如权利要求12所述的用途，其中所述精油选自由以下组成的组：牛至属、薄荷属、百里香属、香桃木属、罗勒属、薰衣草属、姜味草属、芫荽属、油鞭草属、蜜蜂花属、鼠尾草属、欧芹属、迷迭香属、夏枯草属和孜然芹属。

14. 如权利要求13所述的用途，其中所述至少一种精油包括牛至油。

15. 如权利要求12所述的用途，其中所述植物油包括菜油。

16. 如权利要求15所述的用途，其中所述至少一种天然油包括至少一种精油和至少一种植物油的组合。

17. 如权利要求15所述的用途，其中所述至少一种天然油包括至少一种精油和至少一种植物油的组合，所述至少一种精油和所述至少一种植物油之间的比率在60:40和100:0的范围内。

18. 如权利要求17所述的用途，其中所述比率为80:20。

19. 如权利要求16所述的用途，其中所述颗粒物质包含牛至油和芝麻油的组合。

20. 如权利要求3所述的用途，其中所述表面活性剂包括脂肪酸的碱盐。

21. 如权利要求20所述的用途，其中所述表面活性剂包括脂肪酸的钾盐。

22. 如权利要求3所述的用途，其中所述表面活性剂是非离子的、农业上可接受的表面活性剂。

23. 如权利要求1所述的用途,其中所述颗粒物质包含有机溶剂。
24. 如权利要求23所述的用途,其中所述颗粒物质包含多达5%的有机溶剂。
25. 如权利要求24所述的用途,其中所述有机溶剂是挥发性极性溶剂。
26. 如权利要求25所述的用途,其中所述有机溶剂选自由丙酮、异丙醇、乙腈、乙醇和甲醇组成的组。
27. 一种生产用于农业中的抗微生物乳液的方法,所述方法包括使如权利要求1至26中任一项中所定义的颗粒物质与水溶液混合以形成所述乳液。
28. 如权利要求27所述的方法,其中所述乳液包含3μm至10μm范围内的液滴尺寸。
29. 一种处理植物的方法,包括:
  - (a) 使如权利要求1至26中任一项中所定义的颗粒物质与水溶液混合以形成乳液;和
  - (b) 将所述乳液施用至所述植物的至少一部分上或施用至所述植物周围的土壤。
30. 如权利要求29所述的方法,包括在形成所述乳液之前、同时或之后使所述颗粒物质与至少一种抗微生物剂混合。
31. 如权利要求29或30所述的方法,其中施用包括喷施所述乳液。

## 运载油的颗粒物质及其用途

### 技术领域

[0001] 本公开内容涉及尤其用于农业中的油颗粒产品。

### 现有技术

[0002] 被认为与目前公开的主题相关的作为背景的参考文献在下文中列出：

[0003] -日本专利申请公布号JP2010150178；

[0004] -国际专利申请公布号W004034791；

[0005] 本文的上述参考文献的确认将不被推断为意指这些以任何方式与目前公开的主题的可专利性相关。

[0006] 背景

[0007] 在颗粒上吸收油以得到油粉末已被描述，例如在日本专利申请公布号JP2010150178中。根据该公布，提供了包含多孔碳酸钙和精油的抗菌功能粉末。

[0008] 此外，国际专利申请公布号W004034791描述包含具有杀虫性质和/或杀真菌性质的精油的控释组合物、用于其的载体材料和用于控制从载体材料释放精油的手段。该组合物呈自由流动的粉末的形式。该载体材料是可以为材料例如粉末材料的载体材料，该材料能够吸收精油达到使生成的混合物呈自由流动的粉末形式诸如粘土和二氧化硅、硅藻土；沸石的程度。用于控制从载体材料释放精油的手段是与载体材料混合的高分子量、低熔点的蜡或固体。

[0009] 一般描述

[0010] 根据本发明的最广义的方面，本公开内容提供颗粒物质，所述颗粒物质包含运载基本上干燥的组分的组合的颗粒，该组分包含至少一种天然油和至少一种表面活性剂，该组分被选择使得在与水接触后形成水包油乳液。优选地，该水包油乳液是稳定乳液，且在从其制备开始至少24小时期间没有相分离。

[0011] 本公开内容还提供一种组合物，其包含如本文中定义的颗粒物质。除了颗粒物质之外，该组合物包含根据预期应用为合适的且选择的任何佐剂、添加剂、赋形剂等等。例如，另外的组分可以是要求促进颗粒物质在农业中的应用的组分。

[0012] 该颗粒物质可以包含使在相同颗粒上运载一种或更多种天然油(例如，精油)的颗粒的单一群体、或群体的组合，即，运载一种类型或一组油的颗粒的一种群体和运载另一种类型或另一组油的至少一种其他群体，两种类型的群体如下被进一步讨论。

[0013] 在某些实施方案中，至少一种天然油是以抗微生物活性为特征的天然油。

[0014] 因此，本公开内容还提供如定义的颗粒物质用于制备抗微生物乳液的用途。

[0015] 此外，本公开内容提供一种生产抗微生物乳液的方法，所述方法包括使颗粒物质与水溶液混合以形成所述抗菌乳液。

[0016] 最后，本公开内容提供一种处理植物的方法，该方法包括使颗粒物质与水溶液混合以形成乳液；和将所述乳液施用至植物的至少一部分上或施用至植物周围的土壤。

[0017] 当需要抗微生物活性时，乳液可以与本领域已知的其他抗微生物剂组合或组合地

使用。

### 具体实施方式

[0018] 本发明基于包含颗粒载体的颗粒材料的开发,该颗粒载体在其上已经吸收功能油,使得在与水或基于水的溶液接触后形成稳定的乳液。

[0019] 因此,在本公开内容的最广义的方面,本公开内容提供颗粒物质,该颗粒物质包含运载基本上干燥的组分的组合的颗粒,该组合包含至少一种油和至少一种表面活性剂,并且该组分被选择使得在与水接触后形成水包油乳液。

[0020] 在本公开内容的上下文中,术语“颗粒物质”用于表示以多个颗粒形式的物质。该颗粒可以呈任何颗粒形式,包括但不限于,从精细圆形珠到无定形结构。颗粒物质还包括任何形式的粉末。

[0021] 在某些实施方案中,该颗粒物质包含二氧化硅(SiO<sub>2</sub>,本文中被称为二氧化硅)。二氧化硅可以是如本领域中已知的天然存在的二氧化硅颗粒,例如膨润土珠,以及合成的二氧化硅珠。

[0022] 在某些实施方案中,颗粒物质包含合成的二氧化硅。存在可以在本公开内容的上下文中使用的多种合成的二氧化硅。例如,颗粒物质可以包含沉淀的合成的无定形二氧化硅,例如可商购的产品Tixosil和Aerosil 200。

[0023] 在某些其他实施方案中,颗粒物质包含具有吸收天然油的能力的合成或天然衍生的珠。此类珠可以包括但不限于,乳胶珠;碳酸钙吸附剂颗粒;纤维素珠;聚苯乙烯吸附剂珠例如作为疏水性交联的聚苯乙烯共聚物吸收剂树脂的Amberlite® XAD®-2;炭;琼脂糖™珠;emulsan-海藻酸盐珠;壳聚糖珠;海藻酸钠;苯乙烯-马来酸共聚物珠和苯乙烯-二乙基苯珠;纤维素纸珠。

[0024] 为了允许最终乳液的良好分布并且根据某些实施方案,颗粒物质(颗粒)具有10-25μm、有时15μm至22μm的范围内的尺寸分布。

[0025] 颗粒物质还可以以其表面积为特征,但不限于此,在某些实施方案中,颗粒物质具有400-550m<sup>2</sup>/g的范围内的、有时平均值为500m<sup>2</sup>/g的比表面积(N<sub>2</sub>)。

[0026] 在某些另外的实施方案中,颗粒物质还可以以其DBP吸收为特征,但不限于此。DBP吸收(DOA吸收)是用于指示填料的吸收能力的常用数值并且在本公开内容中指示颗粒物质的油容量。在某些实施方案中,DBP在250-350ml/100克、有时280-320ml/100克的颗粒的范围内。

[0027] 第一组分包括保持一种天然油或天然油的组合的颗粒物质。在本公开内容的上下文中,应理解,“天然油”涵盖从自然界得到的任何有机油。

[0028] 天然油优选地是源自植物的油。在某些实施方案中,天然油是精油,精油优选地是已知呈现抗微生物(例如抗菌)性质的那些。在该上下文中,当提到精油的抗微生物性质时,应理解为在抵抗任何微生物病原体上是有效的,如下文进一步讨论的。

[0029] 存在多种精油。在不限于此的情况下,根据本公开内容的待被使用的精油可以是源自以下植物的那些:牛至(Origanum vulgare)和牛至属(Origanum spp.,例如牛至(Oregano))、薄荷属(Mentha spp.,薄荷)、百里香属(Thymus spp.,百里香)、香桃木属(Myrtus spp.)、罗勒属(Ocimum spp.,例如罗勒(Ocimum basilicum),也称为罗勒

(Basil) )、薰衣草属 (*Lavandula* spp., 例如薰衣草)、姜味草属 (*Micromeria* spp.)、芫荽属 (*Coriandum* spp., 例如芫荽/荷兰芹)、油鞭草属 (*Aloysia* spp.)、蜜蜂花属 (*Melissa* spp.)、鼠尾草属 (*Salvia* spp.)、欧芹属 (*Petroselinum* spp.)、迷迭香属 (*Rosmarinus* spp., 例如迷迭香)、夏枯草属 (*Prunella* spp.)、孜然芹属 (*Cuminum* spp., 例如孜然芹)。

[0030] 在某些其他实施方案中,天然油是用作碳源例如用作用于拮抗微生物的食物/营养素的植物衍生油。这些在本文中被称作术语“碳基油”或“富碳营养油”。在某些实施方案中,碳基油是植物油。在不限于此的情况下,碳基油选自由芝麻油、橄榄油、花生油、棉籽油、大豆油、棕榈油、葵花油、红花油、菜籽油、蓖麻油、椰子油、落花生油组成的组。

[0031] 在某些优选的实施方案中,天然油是至少一种精油和至少一种碳基油的组合。同样地,当提到天然油时,应理解为也涵盖精油和碳基油。当组合时,至少一种精油和至少一种碳基油之间的比率在60:40和100:0的范围内,有时该范围是约80:20。

[0032] 当使用油的组合时,应理解,油可以一起被吸收到颗粒物质上,即相同的颗粒物质保持多于一种类型的油。在某些实施方案中,每种油类型分别保持在颗粒物质上,使得形成不同类型的颗粒物质,各自以保持的油的类型为特征。

[0033] 因此,当提到提供以80:20的比率的精油(例如牛至)和碳基油(例如芝麻油)的特定物质时,应理解为两种类型的油已以所叙述的比例被吸收至其上的单一群体的颗粒物质或两个群体的颗粒物质的混合物,80%仅运载精油例如牛至且20%运载碳基油例如芝麻油。无论油类型,在油总重量的20%w/w至50%w/w之间的颗粒物质由运载于其上的油提供。

[0034] 在某些实施方案中,天然油包括与至少一种碳基油组合的至少一种牛至油。该牛至油有时与至少芝麻油组合。

[0035] 由颗粒保持(吸收)的天然油的量可以变化,这取决于使用的天然油的类型、负载的量、使用的颗粒类型、将天然油负载于颗粒物质上的条件、用于负载的表面活性剂和溶剂等等。

[0036] 当提到将油负载至颗粒上时,应理解为意指油和颗粒(例如二氧化硅颗粒)之间的任何形式的缔合。在不限于此的情况下,油通过吸收至颗粒上和/或中被颗粒保持。颗粒和油之间的缔合是可逆的,即,在合适的条件下,例如当与水接触时,油从颗粒释放以形成乳液。

[0037] 为此,本公开内容还提供由所述颗粒物质提供的稳定的乳液,该稳定的乳液包含颗粒、至少一种天然油和至少一种表面活性剂。

[0038] 在某些实施方案中,颗粒保持颗粒物质的总重量中的20%w/w至50%w/w之间的天然油(在负载后)。这通过常规技术例如HPLC或GC色谱法来测定,如也在下文中例示。在某些其他实施方案中,颗粒保持约30%w/w、有时在25~35%之间、有时在28%至32%之间、有时约30%的天然油。

[0039] 颗粒物质还包含至少一种表面活性剂。如所理解的,表面活性剂是降低液体的表面张力并且因此两种液体之间的界面张力允许例如乳液的形成的化合物。本发明人已发现,如还在下文的非限制性实施例中示出,在干燥的颗粒物质与水接触后,表面活性剂是必要的以便提供稳定的乳液。

[0040] 表面活性剂可以属于在农业中安全使用(对植物或动物无毒)的在本领域中已知的任何种类。

[0041] 在某些实施方案中,表面活性剂是非离子表面活性剂,特别是适合于农业应用的已知的那些。

[0042] 根据本公开内容将使用的可能的非离子表面活性剂的非限制性清单包括聚乙二醇脱水山梨糖醇三油酸酯(吐温)例如聚氧化乙烯脱水山梨糖醇三油酸酯(吐温85)、聚氧化乙烯脱水山梨糖醇三硬脂酸酯(吐温65)、脱水山梨糖醇脂肪酸酯例如脱水山梨糖醇单棕榈酸酯(Span 40)、醇烷氧基化物(BS1000)。

[0043] 在某些其他实施方案中,表面活性剂包括脂肪酸的盐。该盐可以包括碱性的例如钾盐、钙盐、钠盐以及铵盐。

[0044] 在某些实施方案中,脂肪酸的盐包括脂肪酸的钾盐(也称为皂盐),其通常用作杀虫剂、除草剂、杀真菌剂和/或除藻剂(这些有时候被认为是非离子表面活性剂)。在某些实施方案中,脂肪酸的钾盐可以通过向天然脂肪酸例如在动物脂肪和植物油中发现的那些添加氢氧化钾来得到。脂肪酸可以从植物源例如橄榄、棉籽、大豆、花生、葵花、椰子、棕榈树、油菜籽、芝麻、苋菜、玉米、麻风树提取。

[0045] 形成表面活性剂的脂肪酸还可以是合成的脂肪酸以及半合成的脂肪酸(例如,经历改性的天然脂肪酸)。

[0046] 根据某些实施方案,表面活性剂是被识别或被标记为具有杀虫和/或杀真菌的活性的表面活性剂。在不限于此的情况下,杀虫和/或杀真菌的表面活性剂可以包括商业产品Zohar PT-50和Zohar LQ-215,两者均由Zohar Dalia, Israel生产。

[0047] 在一个特定的实施方案中,表面活性剂选自Zohar PT-50和Zohar LQ-215。

[0048] 这些表面活性剂的组成可获自Zohar Dalia。例如,已知Zohar PT-50具有以下组成:

[0049]

植物油						
类型	饱和脂肪酸	单不饱和脂肪酸	多不饱和脂肪酸			油酸 (ω-9)
			总聚	亚麻酸	亚油酸	

[0050]

				(ω-3)	(ω-6)	)	
未氢化的							
菜籽(油 菜籽)	7.365	63.276	28.14	9-11	19-21	—	204°C
椰子	91.00	6.000	3.00	—	2	6	177°C
玉米	12.948	27.576	54.67	1	58	28	232°C
棉籽	25.900	17.800	51.90	1	54	19	216°C
亚麻仁 / 亚麻籽 (欧洲)	6-9	10-22	68-89	56-71	12-18	10-22	107°C
橄榄	14.00	72.00	14.00	<1.5	9-20	—	193 °C
棕榈树	49.300	37.000	9.30	—	10	40	235 °C
花生	16.900	46.200	32.00	—	32	48	225 °C
红 花 (>70% 亚 油酸)	8.00	15.00	75.00	—	—	—	210 °C
红花(高 油酸)	7.541	75.221	12.82	—	—	—	210 °C
大豆	15.650	22.783	57.74	7	50	24	238°C
葵 花 (<60% 亚 油酸)	10.100	45.400	40.10	0.200	39.800	45.3 00	227°C
葵 花 (>70% 油 酸)	9.859	83.689	3.79	—	—	—	227°C
完全氢化的							
棉籽(氢 化的)	93.600	1.529	.587		.287		
棕榈树 (氢化的)	47.500	40.600	7.50				
大豆(氢 化的)	21.100	73.700	.400	.096			
作为总脂肪的重量百分数(%)的值。							

[0051] 本文提供的结果示出,如本文公开的脂肪酸的盐在粉末的稳定性和/或乳化性质以及抗微生物活性方面具有超过其他已知的表面活性剂例如商业上已知的吐温20或吐温80的一些优点。

[0052] 表面活性剂的量可以改变。在某些实施方案中,颗粒物质包括5% w/w至10% w/w之间的表面活性剂的一种或组合。

[0053] 颗粒物质基本上呈干燥的形式。当提到“基本干燥”时,应理解为颗粒物质是完全干燥(如通过常规方法测定的)或含有少量的水,即不超过10% (w/w)。在某些其他或另外的实施方案中,颗粒物质中的含水量在1%至7% (w/w)的范围内。

[0054] 颗粒物质还可以包含一些痕量的有机溶剂。如将在下文进一步讨论的,该溶剂需要用于制备颗粒物质并且一些残余量可以保留在最终的颗粒物质中。在某些实施方案中,该颗粒物质包含不超过5% w/w、4% w/w、3% w/w或甚至2% w/w的有机溶剂。溶剂通常是有机挥发性极性溶剂,例如,在不限于此的情况下,是选自由丙酮、异丙醇、乙腈、乙醇和甲醇组成的组的溶剂。

[0055] 在一个特定的实施方案中,溶剂是乙醇。

[0056] 在颗粒物质与水接触后,该颗粒物质在其形成稳定乳液的能力上是独特的。

[0057] 在本公开内容的上下文中,当提到稳定乳液时,应理解为是指,在形成乳液之后,油(分散相)在水(分散介质)中的分散持续至少1小时、有时至少2、3、4、5或甚至10小时的时间段。换句话说,稳定性通过没有可见的分离为油相和水相来确定。

[0058] 在不受理论束缚的情况下,本发明人的观点是,将表面活性剂并入颗粒物质中有助于所形成的乳液的稳定性。这从下文中提供的非限制性实施例中也是明显的,其中脂肪酸的钾盐的使用在稳定性和安全性上示出超过其他类型的可商购的表面活性剂的优点。

[0059] 为了形成乳液,颗粒物质与水混合。水的量取决于颗粒物质的量。在某些实施方案中,对于每克的颗粒物质(其中的30%是油),水被添加以提供一升乳液。因此,在1升乳液中,0.1克颗粒物质提供0.03% v/v的油浓度。在某些实施方案中,油在最终乳液中的百分比在0.03% v/v和2% v/v的范围内。

[0060] 在某些实施方案中,颗粒物质与水的混合提供具有在1μm至20μm之间的范围内且在某些实施方案中在3μm至10μm之间的范围内的液滴尺寸的乳液。

[0061] 在某些实施方案中,乳液是抗微生物乳液。

[0062] 颗粒物质可以照原样使用或与其他成分组合使用,以形成包含颗粒物质的组合物。另外的成分可以取决于颗粒物质的预期用途。例如,颗粒物质可以与包括抗微生物活性的其他干燥粉末、另外的干燥表面活性剂组合。

[0063] 在某些实施方案中,组合物可以包含单一类型(群体)的颗粒物质。在某些其他实施方案中,颗粒物质可以包含两种或更多种群体的颗粒物质的组合,每种群体至少在其中吸收的精油类型上与其他群体不同。组合物是包含干燥的颗粒物质的干燥组合物。

[0064] 本公开内容还提供一种生成抗微生物乳液的方法,该方法包括使颗粒物质或包含该颗粒物质的组合物与水溶液混合以形成乳液,特别是稳定乳液。由此形成的乳液的特征尤其在于形成具有在3μm至10μm范围内的平均液滴尺寸的液滴。

[0065] 本公开内容还提供一种处理植物的方法,该方法包括使本文公开的颗粒物质与水溶液混合以形成乳液和将所述乳液施用至植物的至少一部分上或施用至植物周围的土壤。

[0066] 乳液的施用可以是通过农业中已知的任何手段,包括喷施植物、灌溉,但不限于此。

[0067] 在还某些其他实施方案中,处理可以包括施用至植物块茎上,例如喷施土豆块茎(有时被称为低喷施块茎)。

[0068] 乳液可以与其他活性成分例如一种或更多种抗微生物剂组合地施用至植物。为此,在乳液形成之前、同时或之后,颗粒物质与至少一种抗微生物剂混合。

[0069] 最终的乳液(具有或不具有另外的活性成分)可以被施用至植物一次、两次或更多次。当多于一次的剂量被施用时,剂量可以以一天间隔至多于一天(两天、三天和更多天的

间隔)之间的在施用之间的时间间隔被提供。不同的剂量可以相同或不同。

[0070] 非限制性实施例的描述

[0071] 实施例1:验证精油的抗菌效果

[0072] 材料和方法

[0073] 为了验证精油的抗菌效果,进行以下测定。

[0074] 油:具有以下详情的牛至油:原产国:保加利亚;植物部分:开花植物;栽培方法:经认证的有机物;提取方法:蒸汽蒸馏。

[0075] 细菌菌株:大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、沙门氏菌 (*Salmonella*)、棒形杆菌 (*Clavibacter*) 和野油菜黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris*) 从以色列教授G.Kritzman的收集中得到。

[0076] 纸片扩散法:细菌在27°C下于营养肉汤试管中生长持续24小时。纸片在准备用于纸片扩散方法时通过高压灭菌器灭菌。将每种细菌 (100μl) 放置于营养琼脂 (NA) 板上且允许干燥持续3-5分钟。纸片在100%浓度的牛至精油 (20μl) 中被饱和,并且然后放置于新涂覆有细菌的每个NA板上。使用的阳性对照是3%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液,且阴性对照是去离子水。板在27°C下温育持续48小时。抑制区通过标准尺来测量。

[0077] 结果

[0078] 商用有机油对细菌的抗菌效果总结在表1中,示出与对照相比的用于牛至油处理的细菌的较大抑制区。

[0079] 表1:牛至油的抗菌效果

[0080]

测试细菌	抑制区 (mm)
大肠杆菌	15
金黄色葡萄球菌	19
沙门氏菌	21
棒形杆菌	24
野油菜黄单胞菌	22
阳性对照	8
阴性对照	0

[0081] 实施例2:精油粉末的制备

[0082] 材料

[0083] 为了制备油粉末,使用以下材料:

[0084] 天然油:

[0085] 牛至油100% (精油) 和芝麻油100% (碳基油),二者均购自Makes Scents Natural SPA Line,Lancaster PA,USA。

[0086] 表面活性剂:

[0087] 百里酚、香芹酚、吐温80、吐温65、吐温R85和蛋卵磷脂,全部购自Sigma-Aldrich。

[0088] Span 40,购自以色列的Fluka。

[0089] Zohar LQ-215 (脂肪酸钾) 和Zohar PT-50 (脂肪酸钾),购自Zohar Dalia。

[0090] 二氧化硅珠:

- [0091] Tixosil (SiO<sub>2</sub>) ,购自Rhodia集团。  
 [0092] Aerosil 200和Sipernat 50S (SiO<sub>2</sub>,20μm) ,购自Evonik Industries AG。

[0093] 溶剂:

[0094] 丙酮和乙腈,购自J.T.Becker, Isopropanol (IPA) ,Gadot。

[0095] 方法

[0096] 粉末制备

[0097] 对于实验室规模制备而言,包含天然油、表面活性剂和二氧化硅珠的粉末使用常见的实验室玻璃器皿装置来制备,该玻璃器皿装置包括20–50ml大小的实验室瓶子、药匙、磁力搅拌器和加热板。通常,对天然油称重且各自分别地与溶剂被添加至的20ml小瓶中的所选择的表面活性剂混合。每种油的混合物被混合且加热至约40°C的温度直到得到均相溶液。向该均相溶液添加二氧化硅珠直到液体被珠吸收。将瓶子留在通风橱中过夜直到全部溶剂蒸发。

[0098] 每种油在最终的干燥粉末中的负载是30–42%。干燥粉末包含2%–7%的水。

[0099] 用于粉末制备的成分的全部比率在表2A–2D中被提供:

[0100] 表2A:基于牛至油的粉末

[0101]

制剂编号	牛至油	表面活性剂					二氧化硅珠		溶剂
		吐温80	卵磷脂	吐温85	吐温65	Span40	Tixosil	Aerosil200	
ORG-18A	0.5g	0.5g	0.1g					0.8g	1g
ORG-18B	0.5g	0.5g				0.1g		0.8g	1g
ORG-18C	0.5g	0.5g		0.1g				0.8g	1g
ORG-18D	0.5gg	0.5g			0.1g			0.8g	1g
ORG-20C	0.5g	0.5g		0.1g			0.56g	0.24g	1g
ORG-20D	0.5g	0.5g			0.1g		0.4g	0.4g	1g

[0102] 表2B:基于芝麻油的粉末

[0103]

制剂编号	芝麻油	表面活性剂					二氧化硅珠		溶剂
		吐温80	卵磷脂	吐温85	吐温65	Span40	Tixosil	Aerosil200	
SES-19A	0.5g	0.5g	0.1g					0.8g	1g
SES-19B	0.5g	0.5g				0.1g		0.8g	1g
SES-19C	0.5g	0.5g		0.1g				0.8g	1g
SES-19D	0.5gg	0.5g			0.1g			0.8g	1g
ORG-21C	0.5g	0.5g		0.1g			0.56g	0.24g	1g
ORG-21D	0.5g	0.5g			0.1g		0.4g	0.4g	1g

[0104] 表2C:使用阴离子型表面活性剂的基于自乳化牛至油的粉末

[0105]

制剂编号	牛至油	表面活性剂		二氧化硅珠		溶剂	
		Zohar PT-50	Zohar LQ 215	Tixosil	Aerosil 200	异丙醇	丙酮
<b>ORG-22A</b>	0.5g		0.5g	0.56g	0.24g		0
<b>ORG-22B</b>	0.5g		0.5g	0.4g	0.4g		1g
<b>ORG-24A</b>	0.5g		0.25g	0.4g	0.4g		0
<b>ORG-24B</b>	0.5g		0.25g	0.4g	0.4g		0.5g
<b>ORG-24C</b>	0.75g		0.25g	0.4g	0.4g		1g
<b>ORG-28</b>	0.5g	0.25g		0.56	0.24g	1g	

[0106] 表2D: 使用阴离子型表面活性剂的基于自乳化芝麻油的粉末

[0107]

制剂编号	芝麻油	表面活性剂		二氧化硅珠		溶剂	
		Zohar PT-50	Zohar LQ 215	Tixosil	Aerosil 200	异丙醇	丙酮
<b>ORG-23A</b>	0.5g		0.5g	0.56g	0.24g		0
<b>ORG-23B</b>	0.5g		0.5g	0.4g	0.4g		1g
<b>ORG-25A</b>	0.5g		0.25g	0.4g	0.4g		0
<b>ORG-25B</b>	0.5g		0.25g	0.4g	0.4g		0.5g
<b>ORG-25C</b>	0.75g		0.25g	0.4g	0.4g		1g
<b>ORG-29</b>	0.5g	0.25g		0.56	0.24g	1g	

[0108] 对于较大的量而言,采用与在工业中使用的那些类似的机电装置。这些装置包括:

[0109] 1. 装配有螺旋桨的立式机械搅拌器DC Hsiangtai;

[0110] 2. 蠕动泵4.4Carter 4/6盒式稳压器和管子;

[0111] 3. 装配有带式混合叶片的动态Exim 5L粉末混合器;

[0112] 4. 天平;

[0113] 5. 烧杯1-2L和容器1-3L。

[0114] 该制备包括称重且在1L烧杯中使油和表面活性剂混合,在混合的同时向该烧杯添加异丙醇直到得到均相溶液。将二氧化硅珠(Sipernat 50S)添加至2L烧杯,在混合(30rpm)的同时向该烧杯缓慢添加(10ml/分钟的速率)均相溶液直到全部液体被吸收至珠中。

[0115] 用于粉末制备的成分的全部比率在表3A和表3B中提供。在约30%-42%的范围内的油的负载被保持。

[0116] 表3A: 基于牛至油的粉末

[0117]

制剂编号	牛至油	表面活性剂	二氧化硅珠	溶剂
		Zohar PT 50	Sipernat 50S	IPA
33	20g	10g	30g	20g
34	200g	100g	300g	200g
37A	20g	15g	30g	20g
37B	20g	10g	300g	15g
38	2x200g	2x125g	2x300g	2x125g

[0118] 表3B:基于芝麻油的粉末

[0119]

制剂编号	牛至油	表面活性剂	二氧化硅珠	溶剂
		Zohar PT 50	Sipernat 50S	IPA
35	200g	100g	300g	200g
39	200g	125g	300g	125g

[0120] 另外,粉末混合物(包含牛至油的那些和包含芝麻油的那些)也被制备。具体地,400g的制剂ORG-34(运载牛至油的珠)与100g的制剂SES-35(运载芝麻油的珠)在动态Exim 5L粉末混合器中以10rpm混合,产生混合物O&S-A。

[0121] 在将两种群体混合在一起之前,基于每种类型的油的粉末在真空烘箱中在40℃下干燥持续24小时。

[0122] 在不同的工艺中,800g的制剂ORG-38与200g的制剂SES-39在动态Exim 5L粉末混合器中以10rpm混合,产生混合的珠制剂O&S-B。

[0123] 混合的珠粉末按照原样使用。

[0124] 表征

[0125] 粉末中的含水量的测定

[0126] 含水量根据USP<921>法使用Mettler Toledo DL-38Karl Fisher滴定仪来测定。

[0127] 粉末中的异丙醇含量的测定

[0128] IPA含量根据以下参数使用顶空分析来测定:

[0129]

气相色谱仪	- Agilent 7890 A
柱	- BPX 挥发物, 60 m × 0.25 mm, 1.4 μm, SGE
烘箱程序	- 45 °C 持续 2 分钟, 然后 10 °C/分钟至 100 °C, 然后 25 °C/分钟至 240 °C, 持续 5 分钟。
分离	- 1:25
质谱仪	- Agilent 5975C CTC Combi PAL 预温育时间: 300 s
自动进样器程序	- 温育温度: 80 °C 注射器温度: 100 °C 注射的体积: 500 μl
顶空小瓶	- 20 ml
样品(水)的体积	- 2 ml
校准点(μg/ml)	- 10、25、100、500、1000
ISTD (乙醇)的浓度	- 50 μg/ml

[0130] 使用HPLC的干燥粉末中的牛至油的测定

[0131] 杂质概况根据由H.Hajimehdipoor在Pharmacogn Mag. 2010 Jul-Sep; 6 (23) :154 158中的“*A validated high performance liquid chromatography method for the analysis of thymol and carvacrol in Thymus vulgaris L.volatil oil*”中报道且被SoluBest采用的方法来确定。为了该目的, 使用Nucleosil 100 C18 HD, 3μ, 150×3mm柱和具有光电二极管阵列(PDA)检测器和Chromeleon版本6.80软件包的Ultimate 3000 Dionex (Germany) HPLC系统。流动相是乙腈:水 (50:50, v/v)。在香芹酚和百里酚的峰之间的最小分辨率是1.5。

[0132] 如下制备一式两份的标准溶液:

[0133] 将约3mg百里酚和20mg香芹酚称重到50mL容量瓶中, 并且在40mL的稀释剂中溶解, 然后用稀释剂达到体积并且混合。得到的百里酚标准溶液的浓度是约0.06mg/mL且香芹酚标准溶液是约0.4mg/mL。

[0134] 如下制备一式两份的样品溶液:

[0135] 将约70mg的粉末样品称重到25mL容量瓶中, 然后用丙酮达到体积并且混合。

[0136] 使用GC测定制剂中的芝麻油

[0137] 吸收于二氧化硅珠上的芝麻油在60°C下与甲醇的HCl溶液转甲基化过夜。用作内标准的十七酸在衍生化之前被添加至珠。脂肪酸的甲酯在GC分析之前用己烷萃取并且用无水硫酸钠干燥。

[0138] 校准标准由不同浓度的芝麻油和空白珠制备。衍生化条件和内标准的量与在样品制备中所描述的相同。

[0139] 珠中的芝麻油的定量分析使用装配有FID检测器的Agilent 7890气相色谱仪来进行。化合物在DB-23毛细管柱上分离。

[0140] 结果

[0141] 采用用于牛至油测定和芝麻油测定的常规HPLC和GC分析方法。

[0142] 测试粉末的色谱图示出,在粉末制备和储存期间未引起油的降解(根据常规标记物,百里酚和香芹酚芳族化合物)。下表5通过HPLC分别提供基于百里酚和香芹酚芳族化合物分析的粉末中的牛至油和芝麻油的%。

[0143] 表4-如由HPLC测量的制剂中的牛至油含量

[0144]

制剂编号	样品	基于百里酚的%	基于香芹酚的%
ORG-18A	ORG-18A-1	25.2	27.1
	ORG-18A-2	27.1	28.3
	平均值	26.1	27.7
	差, %	7.2	4.3
ORG-28	ORG-28-1	33.8	34.9
	ORG-28-2	32.1	33.2
	平均值	32.9	34.1
	差	5.5	5.2
ORG-32	ORG-32-1	28.0	30.3
	ORG-32-2	28.1	30.7
	平均值	28.0	30.5
	差	0.6	0.7
ORG-34	ORG-34-1	26.9	29.8
	ORG-34-2	27.7	30.1
	平均值	27.3	30.0
	差	2.1	2.0
ORG-38	ORG-38-1	28.8	28.7
	ORG-38-2	28.0	29.3
	平均值	28.4	29.0
	差	4.1	2.0

[0145] 表5提供由GC色谱仪测定的制剂中的芝麻油的%。

[0146] 表5-如由GC色谱法测量的制剂中的芝麻油含量

[0147]

制剂编号	样品	基于 C16:0 的%	基于 C18:0 的%	基于 C18:2 的%
SES-19A	SES-19A-1	-	-	28.0
	SES-19A-2	-	-	27.6
	平均值	-	-	27.8
	差, %	-	-	1.4
SES-35	SES-35-1	29.8	30.5	37.5
	SES-35-2	30.6	30.6	33.4
	平均值	30.2	30.6	35.5
	差, %	2.6	0.3	12.3
SES-39	SES-39-1	32.8	33.0	39.8
	SES-30-2	31.5	32.3	37.4
	平均值	32.2	32.7	38.6
	差, %	4.1	2.2	6.4

[0148] 使用Karl Fisher滴定法测量的含水量发现,粉末含有5-7%的水。似乎水的来源是来自含有50%的水的Zohar PT 50表面活性剂。

[0149] 关于IPA含量,GC顶空精密分析证实制剂中的IPA含量,其总结在表6中。

[0150] 表6-粉末中的IPA含量

[0151]

制剂编号	样品量(克)	IPA (μg/ml)	IPA (%)
34	19.6	1,265	12.9
35	200	1,139	11.4
38	20.3	1,117	11.0
39	19.8	492	5.0

[0152] 如从表6可以看出,IPA的量从5%变化至13%。然而,在本领域中,制剂被稀释至少30倍,且因此,IPA的含量减小至0.17-0.43%,这是可忽略的且是非常安全的量。

[0153] 所制备的不同类型的干燥粉末在长期储存后(大于一年)示出是稳定的。除以上之外,应注意到,粉末具有特征性气味。基于牛至油的制剂具有灰白色颜色且基于芝麻油的粉末是白色的。

[0154] 在与水接触后,测试制剂(ORG-28和SES-29)立即形成乳液,该乳液保持稳定持续24h。乳液由3-10微米的液滴构成。乳液的喷施能力是良好的,而不会阻塞过滤器。

[0155] 本领域中的安全性研究示出,基于测试油的粉末是安全的。这通过如通过常规植物毒性参数确定的植物上的灼伤的存在(或不存在)来确定。

[0156] 此外,粉末的长期(8周)稳定性被确定。具体地,基于牛至和芝麻的粉末分别被密封在铝箔袋中且放置于加速的储存条件下(40°C持续8周)。牛至油的测定在使用HPLC-UV技术在稳定性研究开始时(初始点)和8周后经由两种主要成分-香芹酚和百里香酚来测量。得到的值被归一化为纯牛至油中的标记物的量。

[0157] 芝麻油的测定使用甲基化的脂肪酸的GC-FID分析在稳定性研究开始时(初始点)和8周后经由两种主要成分-C16:0和C18:0来测量。使用C17:0作为内标准经过酸性催化(用

MeOH/HC1) 进行转甲基化。得到的值被归一化为纯芝麻油中的标记物的量。

[0158] 在两种制剂中未观察到显著变化:在稳定性研究之前和之后,牛至油和芝麻油的量是相似的。

[0159] 含水量使用Karl Fisher法来测试。在两种制剂中水的量在加速条件下储存8周之后减少42%。

[0160] 异丙醇含量使用GC法来测试。在牛至制剂中IPA的量在加速条件下储存8周之后减少36%,但是IPA被保存在芝麻制剂中。

[0161] 在不受理论束缚的情况下,似乎容器是渗漏的,并且为了减少水或IPA损失,容器可以被更密闭地密封。

[0162] 在40℃下储存8周的粉末示出形成稳定乳液的良好能力,该能力与初始粉末的能力相似。稳定性测量总结在下表7中:

[0163] 表7:稳定性测定

[0164]

	时间点	牛至油(%)		芝麻油(%)		水, %	IPA, %
		经由 C16:0	经由 C18:0	经由百里 酚	经由香芹 酚		
牛至粉末 SORG-121-38	初始			28.4	29.0	7.05	11
	8 周			29.8	29.1	4.05	7
芝麻粉末 SES-121-39	初始	32.2	32.7			6.65	5
	8 周	33.3	34.2			3.81	5

[0165] 实施例3:用不同的表面活性剂的增溶和抗菌活性

[0166] 为了产生稳定的水包油乳液,需要具有8-20的HLB的表面活性剂(乳化剂)。因此,在下文中,两种表面活性剂被测试,HLB值为15的吐温80和从棕榈树、椰子、橄榄、蓖麻和棉籽植物提取的脂肪酸的钾盐(HLB值为20的油酸钾盐)。

[0167] 已发现,在脂肪酸的钾盐的情况下,为获得牛至油的稳定乳液所需要的油/表面活性剂的比率是1:0.4,而在吐温80的情况下,所需的油/表面活性剂的比率是1:1。

[0168] 每种表面活性剂的HLB值和增溶能力之间的相关性在现有的牛至油的情况下被发现,即,在脂肪酸的钾盐情况下具有较好的增溶性。异丙醇用作工艺辅助化合物,其也为产生乳液提供另外的稳定性。

[0169] 对于抗菌效果,若干乳化剂在水中利用牛至油和芝麻油来测试。

[0170] 测试乳化剂包括:吐温20;吐温80;Triton X 100;卵磷脂;SDS;硬脂酸钠和脂肪酸钾。每种乳化剂在以下浓度1;5;10;15;20(以百分比计)下关于含有25%牛至油与5%芝麻油的水的混合物被测试。

[0171] 在第一个24小时(即,没有相分离)期间的稳定性和每种乳液的抗菌活性被测定。该抗菌活性通过测量20μl乳液对以下植物致病菌的抑制区来测定:棍状杆菌(Clavibacter)、黄单胞菌属和链霉菌属,并且通过在作为用于植物毒性症状的测试植物的胡椒植物上喷施乳液来测定。

[0172] 结果示出,脂肪酸钾在产生10%浓度的稳定乳液中最合适的材料;脂肪酸的钾盐的抑制区比其他测试乳液更大且对胡椒植物没有植物毒性。当乳化剂是吐温20、吐温80、

Triton X 100或SDS时,得到的数据(未示出)清楚地证实对胡椒植物的植物毒性,因为喷施有用其产生的乳液的植物死亡,而当喷施有硬脂酸钠脂肪酸钾时植物非常有活力。

[0173] 在不同的实验组中,牛至油和表面活性剂被吸收在二氧化硅珠上(利用如以上描述的异丙醇的空气)。当0.5%的基于牛至的粉末分散于水中时得到良好的抗菌结果。该粉末包含约25%的牛至油和10%的脂肪酸钾乳化剂,即,0.125%牛至油在乳液中的浓度是足够活性的且仅需要0.05%的表面活性剂以从粉末形式被增溶。

[0174] 令人惊讶地,在温室研究中,即使较低浓度的粉末也足以产生良好的作物保护。仅0.2%的粉末和由此0.05%的牛至油足以在水中分散(以形成乳液),并且示出优良的且可重复的抗菌效果,且用其处理的植物与被感染但未被处理的对照相比完全保持活力。

[0175] 实施例4:优选的制剂和粉末制备

[0176] 材料和组成

[0177] 油:芝麻油100% (SPAline批号sicP1 A11/01);牛至油100% (SPAline批号0015181)

[0178] 表面活性剂:Zohar PT-50 (Zohar Dalia,批次05511PM1142);

[0179] SiO<sub>2</sub>颗粒:Sipernet 50S (20μm, Evonik Industries, 批号1462)

[0180] 醇:异丙醇(IPA,Gadot)。

[0181] 制剂

	量	牛至油	芝麻油	Zohar PT-50	Sipernat 50S	IPA	总计
[0182]	Kg	40	10	31	75	21	177
	%	22.6	5.6	17.5	42.4	11.9	100

[0183] 粉末的制备

[0184] 首先,将牛至油和芝麻油混合,向其中添加IPA直到得到均相溶液。通过混合向该溶液添加表面活性剂直到得到非粘性的均相溶液。溶液被喷施在SiO<sub>2</sub>粉末上,并且混合使用低剪切力设备来进行直到所有液体被吸收并且继续持续另外的15-30分钟的时间段。然后粉末被研磨以破坏聚集体且通过网眼1,000μm筛分。为了储存,容纳粉末的袋子被密闭地密封并储存。储存在15-30°C下持续至少2年。