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

(11) BR 112012002609-7 B1

(22) Data do Depósito: 28/07/2010

(45) Data de Concessão: 16/05/2017

(54) Título: COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA SINERGÍSTICA

(51) Int.Cl.: A01N 47/12; A01N 47/30; A01N 43/00; A01N 41/10; A01N 43/40; A01N 43/78; A01P 3/00; A01P 13/00

(52) CPC: A01N 47/30,A01N 41/10,A01N 43/78,A01N 43/80,A01N 47/12,A01N 59/16

(30) Prioridade Unionista: 05/05/2010 US 61/331423, 05/08/2009 US 61/273530

(73) Titular(es): DOW GLOBAL TECHNOLOGIES LLC

(72) Inventor(es): EMERENTIANA SIANAWATI; SANGEETA GANGULY

"COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA SINERGÍSTICA"

DIVIDIDO DO PEDIDO BR112012002609-7, DEPOSITADO EM 28 DE JULHO DE 2010.

[0001] Este pedido de patente reivindica o benefício de prioridade mediante 35 U.S.C. §119(e) do pedido de patente provisório U.S. No. 61/273.530 depositado em 5 de agosto de 2009 e pedido de patente provisório U.S. No. 61/331.423 depositado em 5 de maio de 2010.

[0002] Esta invenção diz respeito a combinações de biocidas, as combinações tendo maior atividade que a observada para os compostos antimicrobianos individuais.

[0003] Uso de combinações de pelo menos dois compostos antimicrobianos pode ampliar mercados potenciais, reduzir concentrações e custos de uso, e reduzir resíduo. Em alguns casos, compostos antimicrobianos comerciais não podem fornecer controle efetivo de microrganismos, mesmo em altas concentrações de uso, devido à fraca atividade contra certos tipos de microrganismos, por exemplo, os resistentes a alguns compostos antimicrobianos. Combinações de diferentes compostos antimicrobianos são algumas vezes usadas para fornecer controle geral de microrganismos em um ambiente de uso final particular. Por exemplo, patente U.S. No. 6,197.805 descreve uma combinação de 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato (IPBC) e 2-(metoxicarbonilamino)benzimidazol, mas esta referência não sugere nenhuma das combinações aqui reivindicadas. Além disso, existe uma necessidade de combinações adicionais de compostos antimicrobianos tendo melhor atividade contra várias cepas de microrganismos para fornecer controle efetivo dos microrganismos, especialmente em revestimentos de película seca. O problema endereçado por esta invenção é fornecer tais combinações adicionais de compostos antimicrobianos.

INDICAÇÃO DA INVENÇÃO

[0004] A presente invenção diz respeito a uma composição antimicrobiana sinergística compreendendo: (a) 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato; e (b) fluometuron; em que uma razão em peso de 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato para fluometuron é

de 10:1 a 1:10.

[0005] A presente invenção ainda diz respeito a uma composição antimicrobiana sinergística compreendendo: (a) 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato; (b) fluometuron; e (c) 4,5-dicloro-2-n-octyl-4-isotiazolin-3-um (DCOIT); em que uma razão em peso de 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato para fluometuron é de 3:1 a 1:2; e uma razão em peso de 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato para 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona é de 8:1 a 4:1.

[0006] A presente invenção ainda diz respeito a uma composição antimicrobiana sinergística compreendendo: (a) 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato; (b) fluometuron; e (c) diiodomethil-p-tolilsulfona (DIMTS); em que uma razão em peso de 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato para fluometuron é de 3:1 a 1:2; e uma razão em peso de 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato para diiodomethil-p-tolilsulfona é de 8:1 a 4:1.

[0007] A presente invenção ainda diz respeito a uma composição antimicrobiana sinergística compreendendo: (a) fluometuron; e (b) 2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona (OIT); em que uma razão em peso de fluometuron para OIT é de 1:1 a 1:2.

[0008] A presente invenção ainda diz respeito a uma composição antimicrobiana sinergística compreendendo: (a) fluometuron; e (b) piritionato de zinco (ZPT); em que uma razão em peso de fluometuron para ZPT é de 10:1 a 1:15.

[0009] A presente invenção ainda diz respeito a uma composição antimicrobiana sinergística compreendendo: (a) fluometuron; e (b) tiabendazol (TBZ); em que uma razão em peso de fluometuron para TBZ é de 10:1 a 1:15.

[0010] A presente invenção ainda diz respeito a uma composição antimicrobiana sinergística compreendendo: (a) fluometuron; e (b) diiodomethil-p-tolilsulfona (DMITS); em que uma razão em peso de fluometuron para DMITS é de 10:1 a 1:15.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0011] Da forma aqui usada, os seguintes termos têm as definições designadas, a menos que o contexto claramente indique o contrário. Fluometuron é 1,1 -dimetil-3-(α,α,α-triflúor-m-tolil)uréia. O termo "composto antimicrobiano" refere-se a um composto capaz de inibir o crescimento de ou controlar o crescimento de microrganismos; compostos antimicrobianos incluem bactericidas, bacteriostatos,

fungoscidas, fungosstato, algicidas e algistatos, dependendo do nível da dose aplicada, condições do sistema e o nível de controle microbiano desejado. O termo "microrganismo" inclui, por exemplo, fungos (tais como levedura e bolor), bactérias e algas. As seguintes abreviações são usadas em toda a especificação: ppm = partes por milhão em peso (peso/peso), rnL = mililitro, ATCC = Coleção de tipo de cultura americana, e MIC = concentração inibitória mínima. A menos que de outra forma especificado, temperaturas são em graus centígrados (°C), e referências a porcentagens são em peso (% em peso). Porcentagens de compostos antimicrobianos na composição desta invenção são com base no peso total de ingredientes ativos na composição, isto é, os compostos antimicrobianos em si, exclusivo de quaisquer quantidades de solventes, carreadores, dispersantes, estabilizantes ou outros materiais que podem estar presentes.

[0012] Em algumas modalidades da invenção em que a composição antimicrobiana compreende IPBC e fluometuron, uma razão em peso de IPBC para fluometuron é de 8:1 a 1:7, preferivelmente de 6:1 a 1:5, preferivelmente de 5:1 a 1:5; preferivelmente de 6:1 a 1:4, preferivelmente de 5:1 a 1:4; preferivelmente de 4:1 a 1:4; preferivelmente de 5:1 a 1:3; preferivelmente de 4:1 a 1:3.

[0013] Em algumas modalidades da invenção em que a composição antimicrobiana compreende IPBC, fluometuron e DCOIT, uma razão em peso de IPBC para fluometuron é de 2:1 a 1:2; preferivelmente de 3:1 a 1:1; preferivelmente de 2:1 a 1:1; uma razão em peso de IPBC para DCOIT é de 7:1 a 4:1; preferivelmente de 8:1 a 5:1; preferivelmente de 7: 1 a 5: 1; preferivelmente de 6: 1 a 5: 1.

[0014] Em algumas modalidades da invenção em que a composição antimicrobiana compreende IPBC, fluometuron e DIMTS, uma razão em peso de IPBC para DEVITS é de 2:1 a 1:2; preferivelmente de 3:1 a 1:1; preferivelmente de 2:1 a 1:1; uma razão em peso de IPBC para DIMTS é de 7:1 a 4:1; preferivelmente de 8:1 a 5:1; preferivelmente de 7:1 a 5:1; preferivelmente de 6:1 a 5:1.

[0015] Em algumas modalidades da invenção em que a composição antimicrobiana compreende fluometuron e ZPT, uma razão em peso de fluometuron

para ZPT é de 10:1 a 1:12, preferivelmente de 8:1 a 1:12, preferivelmente de 10:1 a 1:10; preferivelmente de 8:1 a 1:10, preferivelmente de 7:1 a 1:10; preferivelmente de 6:1 a 1:10.

[0016] Em algumas modalidades da invenção em que a composição antimicrobiana compreende fluometuron e TBZ, uma razão em peso de fluometuron para TBZ é de 10:1 a 1:12, preferivelmente de 8:1 a 1:12, preferivelmente de 10:1 a 1:10; preferivelmente de 8:1 a 1:10, preferivelmente de 7:1 a 1:10; preferivelmente de 6:1 a 1:10.

[0017] Em algumas modalidades da invenção em que a composição antimicrobiana compreende fluometuron e DMITS, uma razão em peso de fluometuron para DMITS é de 10: 1 a 1: 12, preferivelmente de 8: 1 a 1: 12, preferivelmente de 10: 1 a 1:10; preferivelmente de 8:1 a 1:10, preferivelmente de 7:1 a 1:10; preferivelmente de 6:1 a 1:10.

[0018] Em algumas modalidades da invenção, as combinações antimicrobianas desta invenção são incorporadas nas composições líquidas, especialmente dispersões de polímeros em meio aquoso. As combinações de biocida são particularmente usadas na conservação de materiais de construção, por exemplo, adesivos, calafetação, composto de junta, selante, papel de parede, etc), tintas, revestimentos, polímeros, plásticos, borracha sintética e natural, produtos de papel, lâminas de fibra de vidro, isolamentos, sistemas de acabamento de isolamento exterior, feltros de telhado e chão, rebocos de construção, produtos de madeira e compósitos madeira-plástico. Em algumas modalidades da invenção, as composições antimicrobianas são tintas de látex ou outras composições de revestimento líquido contendo as combinações de biocida aqui descritas. As combinações de biocida são usadas para a conservação do revestimento de película seca resultante depois da aplicação de uma tinta ou outra composição de revestimento líquido. Em algumas modalidades, a composição antimicrobiana é uma tinta de látex acrílica compreendendo uma ou mais das combinações de biocida aqui descritas, ou o revestimento de película seca resultante da aplicação da tinta a uma superfície.

[0019] Tipicamente, a quantidade das combinações de biocida da presente invenção para controlar o crescimento de microrganismos é de 100 ppm a 10.000 ppm de ingrediente ativo. Em algumas modalidades da invenção, os ingredientes ativos da composição estão presentes em uma quantidade de pelo menos 300 ppm, preferivelmente pelo menos 500 ppm, preferivelmente pelo menos 600 ppm, preferivelmente pelo menos 700 ppm. Em algumas modalidades, os ingredientes ativos da composição estão presentes em uma quantidade de não mais que 8.000 ppm, preferivelmente não mais que 6.000 ppm, preferivelmente não mais que 5.000 ppm, preferivelmente não mais que 4.000 ppm, preferivelmente não mais que 3.000 ppm, preferivelmente não mais que 2500 ppm, preferivelmente não mais que 2.000 ppm, preferivelmente não mais que 1,800 ppm, preferivelmente não mais que 1.600 ppm. Concentrações mencionadas anteriormente são em uma composição líquida contendo as combinações de biocida; níveis de biocida no revestimento de película seca serão maiores.

[0020] A presente invenção também engloba um método para prevenir crescimento microbiano em materiais de construção, especialmente em revestimentos de película seca, incorporando qualquer uma das combinações de biocide acordo com a reivindicadas nos materiais.

[0021] Fluometuron pode ser combinado com mais que um de IPBC, DCOIT, OIT, ZPT, DIMTS e TBZ para produzir combinações sinergísticas ternárias ou superiores não descritas aqui.

EXEMPLOS

[0022] Preparação da amostra: Amostras de tinta de látex acrílica branca sem biocidas foram preparadas em alíquotas de 50 mL. Cada biocida foi adicionado depois para dar a concentração de ingrediente ativo necessária na tinta. As concentrações de biocida totais testadas foram 750, 1500, 2500 e 5000 ppm. Depois da adição do biocida, cada amostra foi misturada manualmente por um mínimo de 30 segundos, seguido por uma corrida de 3 minutos no agitador de tinta (RED DEVIL). Cada uma das amostras de tinta, bem como uma amostra de controle (contendo no biocida) foram usadas para preparar películas em painéis de

copolímero cloreto/acetato de vinila de plástico preto (LENETA, Mahwah, NJ) usando um aplicador de barra de 3 mil bird. Os painéis foram completamente secos por 5 dias evitando exposição direta à luz do sol. Discos quadrados (15 mm^2) foram cortados de cada painel e foram usados como o substrato para testes de eficácia de fungos e algas. Este tamanho da amostra seguido por uma placa de ágar quando o disco da amostra foi colocado no poço da placa de teste.

[0023] Condições de teste: Os meios apropriados (BOLD'S 3N para clorófitos, BG-II para cianobactérias, e PDA para fungos) foram usados para suportar crescimento microbiano. As placas de teste foram mantidas a temperatura ambiente (25 °C – 26 °C), em um ambiente de ciclo luz-escuro, por 3 semanas para algas. Placas para testes de desafio de fungos foram mantidas a 30C por três semanas. No final do período de incubação as amostras foram pontuadas para porcentagem de área coberta por crescimento microbiano visível.

[0024] Inóculo de algas

Organismos	Abreviações		Tipo	Meio para teste
Gleocapsa sp.	Gs	ATCC 29159	Unicelular, cianobactéria colonial	BG-11
Oscillatoria sp.	Os	ATCC 29135	Cianobactéria filamentosa	BG- 11
Nostoc commune	Nc	CCAP 1453/29	Unicelular, clorófito cenobial	bolor
Trentepohlia aurea + Trentepohlia odorata	Ta+To	UTEX LB 429 + C C AP 43/4	Clorófito filamentoso	bolor
Chlorella sp. UTEX	Cs+Ck	ATCC 30582 +	Clorófito unicelular	bolor

+ Chlorella kessleri		ATCC 11468		
Colothrix parientina	Cp	UTEX LB 1952	Cianobactéria filamentosa	bolor

[0025] Inóculo de fungos

Organismos	Abreviações	ATCC	Meio para teste
Aspergillus niger	An	9642	PDA
Penicillium funiculosum	Pf	11797	PDA
Cladosporium herbarum	Ch	11281	PDA
Aureobasidium pullulans	Ap	9348	PDA
Trichoderma vinde	Tv	32630	PDA
Alternaria alternata	Aa	20084	PDA
Stachybotris chartarum	Sc	208877	PDA

Teste de eficácia de alga - ASTM 5589 modificado

[0026] ASTM 5589 é um método de teste acelerado padrão para determinar resistência de vários revestimentos (incluindo tintas) a desfiguração de algas. Para acomodar seleção de alto rendimento, este método foi simplificado de placas de petri a placas de 12 poços. Um único cupom foi colocado com um par de fórceps estéril no centro do plugue de ágar (no topo) com a superfície pintada virada para cima. Cada poço foi inoculado com 150 µL de organismo (IX 10^8 cfu/mL)tendo certeza que a superfície total (película de tinta, bem como o ágar ao redor dela) foi uniformemente coberto. As placas foram incubadas a temperatura ambiente (25 °C – 26 °C) com exposição cíclica à luz (OTT-Lite modelo # OTL4012P, 40Watt, 26KLumen) e fases de escuro, por um período de três semanas. A área total coberta foi avaliada ao final de cada semana de acordo com porcentagem de área coberta em aumentos de 5 %. Apesar da classificação das placas, foram feitas anotações para as zonas de inibição.

Teste de eficácia de fungos - ASTM 5590 modificado

[0027] ASTM 5590 é um método de teste acelerado padrão para determinar resistência de vários revestimentos (incluindo tintas) para desfiguração de fungos. Para acomodar seleção de alto rendimento, este método foi simplificado de placas de petri para placas de 12 poços. Para ajustar o teste, um plugue de ágar foi colocado na base de cada poço da placa de 12 poços estéril. Um único cupom foi colocado com um par de fórceps estéril no centro do plugue de ágar (no topo) com a superfície pintada virada para cima. Cada poço foi inoculado com 150 µL de organismo (1 x 10^6 cfu/mL) tendo certeza que a superfície total (película de tinta, bem como o ágar ao redor dela) foi uniformemente coberto. As placas foram incubadas a 30 °C na presença de umidade, por um período de três semanas. A porcentagem de área coberta total foi avaliada e registrada ao final de cada semana depois da 2a semana e registrada em aumentos de 5 %.

Índice de sinergia (SI)

[0028] O SI é calculado com base no método de F.C.Kull et. Al. (Applied Microbiology, Vol. 9 (1961). Neste estudo, SI foi calculado com base na seguinte fórmula com a concentração inibitória mínima escolhida com base na porcentagem inibitória apresentada pelo biocida individual contra cada microrganismo testado.

SI= Qa/QA+Qb/QB+Qc/QC+

Qa = a concentração de Biocida A na mistura

QA = A concentração de Biocida A como o único biocida

Qb = A concentração de Biocida B na mistura

QB = A concentração de Biocida B como o único biocida

Qc = A concentração de Biocida C na mistura

QC = A concentração de Biocida C como o único biocida

Valor SI < 1 na fórmula indica que existe um sinergismo dos biocidas combinados.

Exemplo 1

[0029] Este estudo foi realizado para investigar o desempenho de misturas de IPBC e Fluometuron com razões em peso de IPBC para fluometuron (Fluo) de 4:1 a 1:1. Estas misturas apresentaram sinergismo muito bom contra um amplo espectro

de fungos e algas. Cada mistura testada apresentou sinergia contra pelo menos um organismo em todas as razões de IPBC para fluometuron testadas. Resultados depois de três semanas de exposição são apresentados na tabela 1 para algas e Tabela 2 para fungos.

[0030] Tabela 1 (Algas)

	Cs+Ck	Nc	Cp	Ta+To	Gs	Os
1IPBC:1Fluo						
Concentração total,	1500	750	1500	2500	750	750
% de inibição	95	97,5	97,5	87,5	100	95
SI	1,5	0,75	1,3	2,17	1	0,65
2IPBC:1 Fluo						
Concentração total,	1500	750	1500	2500	750	750
% de inibição	95	100	95	92,5	100	100
SI	1,33	0,67	1,07	1,78	1	0,53
3IPBC:1Fluo						
Concentração total,	1500	750	1500	2500	750	750
% de inibição	100	95	100	92,5	95	97,5
SI	1,25	0,63	0,95	1,58	1	0,48
4IPBC:1Fluo						
Concentração total,	2500	750	1500	1500	750	750
% de inibição	97,5	100	100	90	100	95
SI	2	0,6	0,88	0,88	1	0,44
IPBC						
Concentração total,	1500	1500	2500	2500	750	750
% de inibição	97,5	87,5	97,5	85	95	70
Fluometuron						
Concentração total,	750	750	750	750	750	1500
% de inibição	100	100	100	95	95	95

[0031] Tabela 2 (Fungos)

	Ap	Ch	Pf	An	Aa	Tv
1IPBC:1Fluo						
Concentração total,	1500	750	1500	750	750	750
% de inibição	97,5	100	100	100	100	87,5
SI	0,6	0,65	1,3	0,65	0,65	0,75
2IPBC:1 Fluo						
Concentração total,	1500	750	1500	750	750	750
% de inibição	100	100	100	100	97,5	100

SI	0,6	0,77	1,53	0,77	0,77	0,83
3IPBC:1Fluo						
Concentração total,	750	750	1500	750	750	750
% de inibição	100	97,5	100	100	100	97,5
SI	0,3	0,83	1,65	0,83	0,83	0,88
4IPBC:1Fluo						
Concentração total,	750	750	1500	750	750	750
% de inibição	100	100	100	97,5	100	95
SI	0,3	0,86	1,72	0,86	0,86	0,9
IPBC						
Concentração total,	2500	750	750	2500	750	750
% de inibição	97,5	75	97,5	87,5	97,5	90
Fluometuron						
Concentração total,	2500	2500	2500	2500	2500	1500
% de inibição	97,5	90	97,5	35	25	57,5

Exemplo 2

[0032] Este estudo foi realizado para investigar o desempenho de misturas de IPBC e Fluometuron com razões em peso de IPBC para fluometuron (Fluo) de 1:2 a 1:3. Estas misturas apresentaram sinergismo muito bom contra um amplo espectro de fungos e algas. Cada mistura testada apresentou sinergia contra pelo menos um organismo em todas as razões de IPBC para fluometuron testadas. Resultados depois de três semanas de exposição são apresentados na tabela 3 para algas e Tabela 4 para fungos.

[0033] Tabela 3 (Algas)

	Cs+Ck	Nc	Cp	Ta+To	Gs	Os
1IPBC:3Fluo						
Concentração total,	1500	750	750	750	2500	2500
% de inibição	95	97,5	95	85	52,50	72,5
SI	0,3	0,83	0,82	0,88	1	2,33
1IPBC:2Fluo						
Concentração total,	2500	750	750	750	2500	750
% de inibição	90	95	90	87,5	50	65
SI	0,5	0,77	0,77	0,83	1	0,37
IPBC						
Concentração total,	5000	2500	2500	1500	2500	1500

% de inibição	90	90	90	82,5	50	62,5
Fluometuron						
Concentração total,	5000,00	750	750	750	2500	2500
% de inibição	90,00	90	95	82,5	42,5	62,5

[0034] Tabela 4 (Fungos)

	Ap	Ch	Pf	An	Aa	Tv
1IPBC:3Fluo						
Concentração total,	750	750	750	750	1500	750
% de inibição	70	82,5	72,5	90	62,5	72,5
SI	0,79	0,41	0,24	0,24	0,3	0,24
1IPBC:2Fluo						
Concentração total,	750	750	750	750	750	750
% de inibição	95	87,5	82,5	85	82,5	82,5
SI	0,72	0,38	0,27	0,27	0,15	0,27
IPBC						
Concentração total,	750	1500	1500	1500	5000	1500
% de inibição	60	75	60	80	50	72,5
Fluometuron						
Concentração total,	5000	5000	5000	5000	5000	5000
% de inibição	0	0	27,5	0	0	0

Exemplo 3: Mistura de biocidas de três componentes

[0035] Estas misturas também apresentam sinergia contra uma variedade de organismos em cada razão em peso testada, conforme descrito nas tabelas 5 e 6.

[0036] Tabela 5 (Algas)

	Cs+Ck	Nc	Cp	Ta+To	Gs	Os
61PBC:3Fluo:1DCOIT						
Concentração total, ppm	750	750	1500	2500	1500	1500
% de inibição	75	97,5	87,5	90	67,5	80
SI	0,32	0,58	0,88	1,27	0,75	0,65
5IPBC:5 Fluo:1DCOIT						
Concentração total, ppm	1500	750	2500	1500	1500	2500
% de inibição	95	85	97,5	95	80	95
SI	0,64	0,68	0,83	0,82	0,65	0,98
61PBC:3Fluo:1DIMTS						
Concentração total, ppm	1500	1500	1500	1500	1500	750

% de inibição	70	75	77,5	82,5	77,5	95
SI	0,54	0,99	0,88	0,72	0,75	0,28
51PBC:5Fluo:1DIMTS						
Concentração total, ppm	750	750	1500	1500	750	750
% de inibição	80	100	95	90	75	97,5
SI	0,3	0,6	1,14	0,78	0,32	0,25
IPBC						
Concentração total, ppm	2500	2500	5000	2500	1500	2500
% de inibição	70	80	80	72,5	80	77,5
Fluometuron						
Concentração total, ppm	2500	750	750	1500	5000	5000
% de inibição	80	85	90	62,5	67,5	82,5
DCOIT						
Concentração total, ppm	1500	750	1500	1500	2500	750
% de inibição	70	82,5	75	72,5	77,5	80
DIMTS						
Concentração total, ppm	2500	5000	1500	2500	2500	1500
% de inibição	70	80	85	62,5	80	80

[0037] Tabela 6 (Fungos)

	Ap	Ch	Pf	An	Aa	Tv	Sc
61PBC:3Fluo:1DCOIT							
Concentração total,	750	1500	750	750	2500	750	1500
% de inibição	82,5	100	90	750	95	100	85
SI	0,3	0,57	0,3	0,24	0,65	0,42	0,48
51PBC:5Fluo:1DCOIT							
Concentração total,	750	750	750	750	750	750	1500
% de inibição	97,5	72,5	82,5	100	100	97,5	50
SI	0,3	0,29	0, 3	0,22	0,22	0,39	0,44
61PBC:3Fluo:1DIMTS							
Concentração total,	750	750	1500	1500	2500	750	750
% de inibição	97,5	100	77,5	100	90	95	72,5
SI	0,39	0,37	0,64	0,65	0,63	0,42	0,33
51PBC:5Fluo:1DIMTS							
Concentração total,	750	2500	750	750	2500	750	1500
% de inibição	97,5	82,5	92,5	87,5	90	80	75
SI	0,39	1,21	0,32	0,3	0,71	0,39	0,59
IPBC							
Concentração total,	2500	2500	2500	2500	5000	1500	2500

% de inibição	87,5	80	70	75	100	62,5	82,5
Fluometuron							
Concentração total,	2500	2500	2500	5000	2500	2500	5000
% de inibição	80	72,5	70	75	82,5	72,5	65
DCOIT							
Concentração total,	2500	5000	2500	5000	5000	2500	5000
% de inibição	77,5	67,5	82,5	75	87,5	60	32,5
DIMTS							
Concentração total,	2500	750	1500	750	2500	750	750
% de inibição	77,5	72,5	82,5	75	77,5	90	50

Exemplo 4: Mistura de biocidas adicionais

[0038] Os organismos e seu meio de crescimento são estabelecidos nos exemplos anteriores.

[0039] Preparação da amostra: Um único biocida ou uma combinação de biocidas foi adicionado posteriormente na tinta de látex acrílica branca sem biocidas para dar uma concentração de ingrediente ativo total máxima testada. Esta tinta foi então diluída com uma tinta de látex acrílica sem biocida em faixas de concentrações de 75 a 12,5 % p/p para dar as concentrações desejadas para o teste. Dependendo do tipo da mistura de biocidas testada, as concentrações de biocida totais varia de 200 a 5000 ppm. Depois da adição do biocida ou diluição cada amostra foi misturada manualmente por pelo menos um minuto até que uniformidade fosse alcançada. Cada uma das amostras de tinta, bem como uma amostra de controle (contendo no biocida) foi usada para preparar películas em painéis de copolímero cloreto/acetato de vinila de plástico preto (LENETA, Mahwah, NJ) usando um aplicador de barra de 3 mil bird. Os painéis foram completamente secos por pelo menos 2 dias evitando exposição direta à luz do sol. Discos quadrados (0,5 polegada^2, 13 mm^2) foram cortados de cada painel e foram usados como o substrato para testes de eficácia de fungos e algas. Este tamanho da amostra seguido por uma placa de ágar quando o disco da amostra foi colocado no poço da placa de teste. Cada amostra foi testada em duplicata.

[0040] Condições de teste: Os meios apropriados (BOLD'S 3N para clorófitos, BG-II para cianobactérias, e PDA para fungos) foram usados para suportar

crescimento microbiano. As placas de teste foram mantidas a temperatura ambiente (25 °C – 26 °C), em um ambiente de ciclo luz-escuro, por quatro semanas para algas. Placas para testes de desafio de fungos foram mantidas a 30C por quatro semanas. Ao final de o período de incubação as amostras foram pontuadas para porcentagem de área coberta por crescimento microbiano visível.

Teste de eficácia de alga - ASTM 5589 modificado

[0041] ASTM 5589 é um método de teste acelerado padrão para determinar resistência de vários revestimentos (incluindo tintas) a desfiguração de algas. Para acomodar seleção de alto rendimento, este método foi simplificado de placas de petri para placas de 6 poços. Um único cupom foi colocado com um par de fórceps estéril no centro do plugue de ágar (no topo) com a superfície pintada virada para cima. Inóculos de algas foram preparados misturando concentrações iguais (1 x 10^6 cfu/mL) e volumes iguais (dependendo do número de amostras a ser inoculadas) de organismos em crescimento. Neste estudo, Gloeocapsa sp. e Oscillatoria sp. foram uma mistura de cianobactérias crescidas em meio BG-11. Chlorella sp., Chlorella kessleri, e Nostoc commune são clorófitos unicelulares que foram misturados e cresceram em meio Bold. Trentepohlia auréia, Trentepohlia odorata, e Calotrix parientina são algas filamentosas que foram misturadas e cresceram em meio Bold. Cada poço foi inoculado com 400 µL de mistura de organismo (1 x 10^6 cfu/mL) tendo certeza que a superfície total (película de tinta, bem como o ágar ao redor dela) foi uniformemente coberto. As placas foram incubadas a temperatura ambiente (25 °C – 26 °C) com exposição cíclica à luz (OTT-Lite modelo # OTL4012P, 40 Watt, 26KLumen) e fases de escuro, por um período de quatro semanas. A área total coberta foi avaliada ao final de cada semana de acordo com porcentagem de área coberta em aumentos de 5 %. Apesar da classificação das placas, foram feitas anotações para as zonas de inibição.

Teste de eficácia de fungos - ASTM 5590 modificado

[0042] ASTM 5590 é um método de teste acelerado padrão para determinar resistência de vários revestimentos (incluindo tintas) para desfiguração de fungos. Para acomodar seleção de alto rendimento, este método foi simplificado de placas

de petri para placas de 6 poços. Para ajustar o teste, um plugue de ágar foi colocado na base de cada poço da placa de 6 poços estéril. Um único cupom foi colocado com um par de fórceps estéril no centro do plugue de ágar (no topo) com a superfície pintada virada para cima. Inóculos de fungos foram preparados misturando concentrações iguais (1 x 10^6 cfu/mL) e volumes iguais (dependendo do número de amostras a ser testado) de organismos em crescimento. Cladosporium herbarum foi misturado com Aureobasidium pullulans. Aspergillus niger foi misturado com Penicillium funiculosum. Alternaria alternata foi misturado com Trichoderma viride. Cada poço foi inoculado com 400 µL de mistura de organismo (1 x 10^6 cfu/mL) tendo certeza que a superfície total (película de tinta, bem como o ágar ao redor dela) foi uniformemente coberto. As placas foram incubadas a 30 °C na presença de umidade, por um período de quatro semanas. A porcentagem de área coberta total foi avaliada e registrada ao final de cada semana depois da 2a semana e registrada em aumentos de 5 %. Os resultados são apresentados nas tabelas 7-11 a seguir.

[0043] Tabela 7: Fluometuron: estudo de sinergia de DCOIT

	Aa+Ap	Cp+To+Ta	Cs+Ck+Nc	Gs+Os
2.2Fluo:1DCOIT				
Concentração total,	2737,5	912,5	2737,5	912,5
% de inibição	100	100	100	100
SI	1,4	1,0	3,0	3,0
2.9Fluo:1DCOIT				
Concentração total,	2521,9	1681,5	1681,25	420,3
% de inibição	100	100	100	100
SI	1,1	1,8	1,8	1,4
4.3Fluo:1DCOIT				
Concentração total,	3075	3075	3075	384,37
% de inibição	100	100	100	100
SI	1,2	3,0	3,0	1,2
1.1Fluo:1DCOIT				
Concentração total,	1200	600	600	1200
% de inibição	100	100	100	100
SI	<0,8	0,8	0,8	4,0
1Fluo:1.8DCOIT				
Concentração total,	1325,3	1331,25	1331,25	887,5
% de inibição	100	100	100	100
SI	1,1	1,9	1,9	3,0

1Fluo:10DCOIT				
Concentração total,	1265	632,5	632,5	1265
% de inibição	1,4	100	100	100
SI		1,0	1,9	4,4
Fluometuron				
Concentração total,	5000	1250	1250	312,5
% de inibição	O	100	100	100
DCOIT				
Concentração total,	862,5	575	575	287,5
% de inibição	100	100	100	100

Note: Uma vez que a concentração máxima de Fluometuron testada contra fungos é 5000 ppm, esta concentração é usada para calcular o SI estimado. Uma correção usando menos que sinal (<) está incluída somente para os dados relevantes, SI < 1. NE = nenhum ponto final na concentração testada

[0044] Tabela 8: Fluometuron: estudo de sinergia de OIT

	Aa+Ap	An+Pf	Ch+Tv	Cp+To+Ta	Cs+Ck+Nc	Gs+Os
1Fluo:10IT						
Concentração total, ppm	3000	750	750	2250	1500	2250
% de inibição	100	100	100	100	100	100
SI	1,4	<0,9	0,9	1,7	1,2	4,4
1Fluo:20IT						
Concentração total, ppm	1500	1500	1500	3000	2250	1500
% de inibição	100	100	100	100	100	100
SI	< 0,9	2,3	2,3	2,3	1,7	2,3
1Fluo:30IT						
Concentração total, ppm	2250	1500	1500	3000	3000	1500
% de inibição	100	100	100	100	100	100
SI	1,4	2,6	2,6	2,3	2,3	2,0
1Fluo:50IT						

Concentração total, ppm	2700	2700	2700	3600	2500	2400
% de inibição	100	100	100	100	100	100
SI	1,8	5,1	5,1	1,9	1,9	2,8
3Fluo:10IT						
Concentração total, ppm		2400	2400	1800	1800	1200
% de inibição		100	100	100	100	100
SI	NE	1,7	1,7	1,4	1,4	6,3
2Fluo:10IT						
Concentração total, ppm		1350	1350	1975	1350	1350
% de inibição		100	100	100	100	100
SI	NE	1,2	1,2	1,6	1,1	3,2
Fluometuron						
Concentração total, ppm	5000	5000	5000	1250	1250	312,5
% de inibição	0	0	0	100	100	100
OIT						
Concentração total, ppm	1350	450	450	1350	1350	1350
% de inibição	100	100	50	95	100	100

[0045] Tabela 9: Fluometuron: estudo de sinergia de ZPT

	Aa+Ap	An+Pf	Cp+To+Ta	Cs+Ck+Nc	Gs+Os
1Fluo:1ZPT					
Concentração total, ppm	NE	750	750	1500	750
% de inibição		100	100	100	100
SI		< 0,4	0,9	1,2	1,8
1Fluo:3ZPT					
Concentração total, ppm	1500	1500	750	1500	750
% de inibição	100	100	100	100	100
SI	< 0,5	1,0	1,1	1,2	1,5
1Fluo:5ZPT					
Concentração total, ppm	1500	1500	750	750	750
% de inibição	100	100	100	100	100
SI	< 0,6	1,1	1,1	0,6	1,4
1Fluo:10ZPT					
Concentração total, ppm	2750	1375	687,5	687,5	687,5
% de inibição	100	100	100	100	100
SI	1,1	1,0	1,1	0,6	1,2
6Fluo:1ZPT					
Concentração total, ppm	NE	2800	600	725	725
% de inibição		100	100	100	100
SI		< 0,8	0,2	0,6	2,2
4Fluo:1ZPT					
Concentração total, ppm	NE	2437,5	1625	1625	787,5
% de inibição		100	100	100	100
SI		< 0,8	1,6	1,3	2,3
2Fluo:1ZPT					
Concentração total, ppm	750	2250	2250	1500	750
% de inibição	100	100	100	100	100
SI	< 0,2	< 0,9	2,4	1,2	2,0
Fluometuron					
Concentração total, ppm	5000	5000	1250	1250	312,5
% de inibição	O	O	100	100	100
ZPT					
Concentração total, ppm	2500	1250	625	1250	625
% de inibição	100	100	100	100	100

[0046] Tabela 10: Fluometuron: estudo de sinergia de tiabendazol (TBZ)

	Aa+Ap	An+Pf	Ch+Tv	Cp+To+T	Cs+Ck+	Gs+Os
1Fluo:1TBZ						
Concentração total,	4000	3000	500	2000	4000	2000
% de inibição	80	90	100	95	100	100
SI	< 0,9	2,7	< 0,5	0,9	2,4	3,4
1Fluo:3TBZ						
Concentração total,	4000	2000	500	500	4000	1000
% de inibição	100	90	100	100	100	100
SI	1,0	2,5	< 0,6	0,2	2,4	1,0
1Fluo:5TBZ						
Concentração total,	3000	2000	500	NE	NE	3000
% de inibição	100	90	100			100
SI	< 0,8	2,7	< 0,7			2,1
1Fluo:7TBZ						
Concentração total,	4000	4000	501	4000	NE	NE
% de inibição	100	90	100	100		
SI	1,0	5,7	< 0,7	1,1		
1Fluo:10TBZ						
Concentração total,	NE	2887	517,25	3850	3850	NE
% de inibição		90	100	100	100	
SI		4,3	< 0,8	1,0	1,7	
6Fluo:1TBZ						
Concentração total,	NE	NE	1750	1750	1750	2625
% de inibição			100	100	100	100
SI			< 0,7	1,3	1,3	7,3
4Fluo:1TBZ						
Concentração total,	2812,5	NE	1875	458	1875	1875
% de inibição	80		100	100	100	100
SI	< 0,7		< 0,9	0,3	1,4	4,9
2Fluo:1TBZ						
Concentração total,	2812,5	NE	468,75	468,75	3750	1875
% de inibição	80		100	100	100	100
SI	< 0,6		< 0,3	0,3	2,5	4,1
Fluometuron						
Concentração total,	5000	5000	5000	1250	1250	312,5
% de inibição	O	O	O	100	100	100
TBZ						
Concentração total,	3750	625	2500	1875	1250	1875
% de inibição	80	100	50	95	100	100

[0047] Tabela 11: estudo de sinergia de Fluometuron e DMITS

	Aa+Ap	An+Pf	Cp+To+Ta	Cs+Ck+Nc	Gs+Os
1Fluo:1DMITS					
Concentração total,	2250	750	750	2250	750
% de inibição	100	100	95	100	100
SI	1,1	< 0,7	0,5	1,8	1,4
1Fluo:3DMITS					
Concentração total,	1500	750	1500	1500	NE
% de inibição	100	100	100	100	
SI	1,2	< 0,9	0,9	1,2	
1Fluo:5DMITS					
Concentração total,	1500	1500	1500	750	NE
% de inibição	100	100	100	100	
SI	1,1	2,1	0,9	0,6	
1Fluo:7DMITS					
Concentração total,	750	750	750	750	1500
% de inibição	100	100	100	100	100
SI	< 0,5	1,1	0,4	0,6	1,3
1Fluo:10DMITS					
Concentração total,	1500	750	750	750	3000
% de inibição	100	100	100	100	100
SI	1,1	1,1	0,4	0,6	2,4
6Fluo:1DMITS					
Concentração total,	NE	1400	NE	725	1400
% de inibição		100		100	100
SI		< 0,6		0,6	3,9
4Fluo:1DMITS					
Concentração total,	NE	812,5	2250	2250	1625
% de inibição		100	95	100	100
SI		< 0,4	1,7	1,8	4,3
2Fluo:1DMITS					
Concentração total,	NE	750	2250	750	750
% de inibição		100	100	100	100
SI		< 0,5	1,6	0,6	1,7
Fluometuron					
Concentração total,	5000	5000	1250	1250	312,5
% de inibição	O	O	100	100	100
DMITS					
Concentração total,	1250	1250	1875	1250	1875
% de inibição	100	100	95	100	100

REIVINDICAÇÕES

1. Composição antimicrobiana sinergística, caracterizada pelo fato de que compreende: (a) 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato; e (b) fluometuron; em que uma razão em peso de 3-iodo-2-propinil-butilcarbamato para fluometuron é de 10:1 a 1:10.