

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 520 615**

21 Número de solicitud: 201431040

51 Int. Cl.:

A01N 63/00 (2006.01)

A01N 25/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

10.07.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

11.11.2014

71 Solicitantes:

SEIPASA S.A. (100.0%)

Almudévar, 2

22240 Tardienta (Huesca) ES

72 Inventor/es:

PELEATO ESTAÚN, Pedro Luis y

ESPINOSA ESCRIG, Francisco

74 Agente/Representante:

MARTÍN ÁLVAREZ, Juan Enrique

54 Título: **Agente bacteriostático para suspensiones bacterianas**

57 Resumen:

Agente bacteriostático para suspensiones bacterianas. Se describe una composición bacteriostática para la fabricación de suspensiones bacterianas o suspensiones de proteínas y el uso de las citadas suspensiones en formulaciones biocidas y/o fitosanitarios verdes que comprenden una disolución acuosa de un poliol y un agente dispersante en donde la relación poliol/agente dispersante está comprendida entre 30:1 (peso/peso) y 110:1 (peso/peso). Se describen suspensiones con un sólido inerte con un tamaño de partícula menor a 40 micras y formulaciones biocidas que comprende un material biológico como proteínas y cepas bacterianas. Se describen formulaciones biocidas de *Bacillus subtilis* y cistatina.

ES 2 520 615 A1

DESCRIPCIÓN

Agente bacteriostático para suspensiones bacterianas

Campo técnico de la invención

La presente invención describe una composición bacteriostática para la fabricación de suspensiones bacterianas o suspensiones de proteínas y el uso de las citadas suspensiones en formulaciones biocidas y/o fitosanitarios verdes.

Antecedentes de la invención

En los últimos años existe un interés por el desarrollo de productos fitosanitarios respetuosos con el medio ambiente que no contenga componentes tóxicos para el ser humano ni para el ecosistema, desarrollándose los biocidas verdes. Entre los biocidas verdes destacan las diferentes familias, especies y cepas de bacterias con actividad biocida, como por ejemplo *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.* o levaduras. Asimismo, se ha descrito la actividad biocida de diferentes proteínas con propiedades insecticidas como por ejemplo las cistatinas.

El material biológico se almacena adsorbido en sustratos inertes, tales como el caolín, sílice, zeolitas, óxidos de zinc, arcillas, tierra de diatomeas, polisacáridos o carbonatos.

Para el uso de los microorganismos en formulaciones líquidas es necesario formular una suspensión estable, es decir, que con el tiempo no se produzcan decantaciones o precipitaciones del material inerte.

Es conocido que las soluciones acuosas deben contener agentes bacteriostáticos o conservantes para evitar la contaminación microbiana. Es conocido el uso de parabenos, azidas o isotiozolina para este fin. Sin embargo, estos productos son tóxicos y contaminantes del medio ambiente y, en consecuencia, no son adecuados para ser usados en “biocidas /fitosanitarios verdes”.

Por lo expuesto anteriormente, las formulaciones líquidas que comprenden material biológico tienen diferentes inconvenientes:

-Las disoluciones deben ser homogéneas y no deben presentar separación de fases en el tiempo,

-Las formulaciones deben mantener su actividad biocida en el tiempo, es decir, el microorganismo debe ser viable durante al menos dos años,

-Las formulaciones no deben contaminarse con microorganismos exógenos sin usar agentes bactericidas o conservantes.

El experto en la materia conoce la existencia de agentes dispersantes que garantizan la estabilidad de las suspensiones pero los agentes disperantes son incompatibles con las la
5 viabilidad posterior de las bacterias. Por otra parte, el contenido en agua es un factor crítico; una baja concentración en agua no garantiza una correcta homogenización de las suspensiones, produciéndose la precipitación de los excipientes o soportes de las bacterias, y por otra parte, un contenido excesivo en agua acelerará la contaminación microbiana de las formulaciones por parte de otras especies de bacterianas o hongos.

- 10 Los documentos más cercanos a la invención, WO200624095, CN101048136, CA110384 y US2006270745, describen composiciones que comprenden disoluciones que comprenden polioles y agentes dispersantes que son utilizados para la formulación de emulsiones y micro emulsiones en aceite/ agua (O/W).

Objeto de la invención

- 15 El problema que resuelve la invención es encontrar un agente bacteriostático, respetuoso con el medio ambiente, que evite la contaminación microbiana exógena en las soluciones acuosas y garantice la estabilidad de las suspensiones en el tiempo.

- La solución encontrada por los inventores es una mezcla, libre de fase grasa, que comprende un poliol y un agente dispersante en donde la relación poliol/ agente dispersante está
20 comprendida entre 30:1 (peso/peso) y 110:1 (peso/peso).

Otra ventaja de la invención es garantizar la estabilidad física de las suspensiones bacterianas inoculadas en su soporte inerte. Mediante la selección de policarboxilato sódico o naftalensulfonato condensado como agentes dispersantes se obtienen suspensiones en las que no se observa precipitación de los sólidos inertes suspendidos.

- 25 Adicionalmente, la alta concentración en polioles proporciona a las suspensiones una elevada viscosidad y se evita el uso de modificadores reológicos, como la goma xantana.

Otro problema resuelto por la invención es garantizar la viabilidad de los microorganismos y proteínas en las suspensiones y la actividad biocida de las formulaciones.

- Las formulaciones biocidas con *Bacillus subtilis* mostraron la misma efectividad de las
30 formulaciones sólidas de *Bacillus subtilis* contra la Sclerotinia de la lechuga.

Descripción de la invención

En un primer aspecto la invención describe una disolución acuosa de un poliol y un agente dispersante en donde la relación poliol/agente dispersante está comprendida entre 30:1 (peso/peso) y 110:1 (peso/peso).

- 5 Los agentes dispersantes comprenden alquilo-sulfonatos o sales de ésteres sulfúricos que deriven de monoalcoholes, sulfonatos o sales de ésteres sulfúricos de polialcoholes o de aminoalcoholes o de sus derivados, ésteres de ácidos grasos superiores con ácidos sulfónicos hidroxialquilos o sus sales, productos de sulfatación o de sulfonación de grasas, aceites, ceras o ácidos grasos superiores, o de sus ésteres, con monoalcoholes, derivados de ácidos
- 10 sulfocarboxílicos o sulfopolicarboxílicos de bajos pesos moleculares, arilo-o alquiloarilo-sulfonatos, derivados del ácido fosfórico, aminas o poliaminas, compuestos de amonio cuaternario, compuestos de fosfonio y sulfonio, amidas, sulfonamidas, ácidos amino-carboxílicos, hidroxilatos de proteínas, ésteres de ácidos carboxílicos, derivados de la lignina, resinas naturales o sintéticas o sus sales, glucósidos, mucílagos o saponinas.

- 15 Los polioles son compuestos que tienen varios grupos hidroxilo, libres o esterificados.

Los soluciones obtenidas tras adicionar la mezcla poliol/ agente dispersante a diferentes cantidades de agua no mostraron crecimiento bacteriano hasta que la cantidad de agua fue mayor al 50% (peso/peso)

- Los polioles utilizados fueron glicerina, sorbitol y monopropilenglicol. Los dispersantes
- 20 utilizados fueron policarboxilato de sodio, naftalensulfonato sódico condensado, alquilsulfonato sódico, dispersantes poliméricos anfotéricos, polímeros acrílicos de estireno modificado.

- En un segundo aspecto, la invención proporciona suspensiones con un sólido inerte con un tamaño de partícula menor a 50 micras en la soluciones acuosas con la mezcla poliol/agente
- 25 dispersante fueron estables tras la centrifugación, para concentraciones de sólido hasta el 2%. Los sólidos inertes utilizados fueron caolín, zeolita y sílice.

- Los mejores resultados, sin formación de espuma persistente, se obtuvieron cuando el agente dispersante fue policarboxilato sódico o naftalensulfonato sódico, la relación poliol/agente dispersante fue 50:1 (peso/peso) y el contenido en agua menor al 50 % (peso/peso) sobre el
- 30 total de la suspensión.

Las suspensiones anteriores admiten el uso de cualquier tamponante para ajustar el pH: citratos, fosfatos, etc. Asimismo, las suspensiones pueden contener diferentes mojantes como esteres de sorbitán etoxilados, alcoholes etoxilados, alquilpoligocósidos y sus sales, ésteres de sorbitol, con el fin de garantizar un tamaño adecuado de gota en la aplicación del producto y su correcta adherencia sobre la superficie foliar.

La fabricación de suspensiones bacterianas se realiza según el siguiente procedimiento. Una cepa bacteria valorada se inocula en un soporte inerte de caolín o equivalente; posteriormente se prepara la solución acuosa junto con los dispersantes y el agente tamponante hasta solución completa, se añade una cepa bacteriana valorada adsorbida en su soporte inerte en constante agitación entre 1000 y 1500 rpm con un dispersor tipo Cowles hasta incorporación completa y se lleva a volumen con el poliol hasta alcanzar la concentración deseada de la bacteria

El procedimiento anterior es adecuado para cualquier microorganismo, como *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas*, levaduras e incluso proteínas.

Los estudios de estabilidad acelerados a 54°C no produjeron una disminución en la viabilidad de los microorganismos a los 14 días y estos resultados garantizan que la suspensión bacteriana a temperatura ambiente (20°C) será estable durante al menos 2 años.

Ejemplo 1. Actividad bacteriostática las mezclas poliol/agente dispersante

Se prepararon diferentes muestras variando la relación de poliol/agente dispersante en agua.

Las muestras se almacenaron en botella cerrada a 20°C, durante 6 meses. Se determinaron las unidades formadoras de colonia según el método descrito en la US Pharmacopeia.

	Poliol =P	Peso (g)	Dispersante=D	Peso (g)	Agua (g)	P/D	Agua (%)	D (%)
1	Glicerina	50,1	Atlox 4915	1,0	30	50,1	37%	1,2%
2	Glicerina	50,6	Emulson AGPSBV 4	1,2	30	42,2	37%	1,5%
3	Glicerina	52,1	Atlox Metarsperse 500 L	1,2	30	43,4	36%	1,4%
4	Glicerina	50,5	Emulson AG/TP1	1	30	50,5	37%	1,2%

ES 2 520 615 A1

5	Glicerina	50,6	Emulson AGPSBV 4	1,3	30	38,9	37%	1,6%
6	Glicerina	50,9	Emulson AG TRST60	1,3	30	39,2	36%	1,6%
7	Glicerina	50,1	Madeol AG W 90	1,3	30	38,5	37%	1,6%
8	Glicerina	52	Madeol MW	1,3	30	40,0	36%	1,6%
9	Glicerina	50,8	Madeol AG OR 95	0,9	30	56,4	37%	1,1%
10			Emulson AGPSBV 4	1,04				
10			Madeol AG W 90	0,03				
10	Sorbitol	84	Total	1,07	44	78,1	34%	0,8%
11	Monopropilen glicol	50,1	Madeol AG W 90	1,2	30	41,8	37%	1,5%
12	Glicerina	1148	Emulson AGPSV 4	10,0	80	114,4	6%	0,8%

Donde

Atlox 4915 es un dispersante polimérico anfotérico,

Emulson AG PS BV 4 es un policarboxilato de sodio,

5 Atlox Metarsperse 500 L es un polímero estireno acrílico modificado,

Emulson AG/TP1 es un derivado acrílico en una dispersión acuosa,

Emulson AG TRST60 es una amino sal de un poliarilfostato éster,

Madeol AG/PWA es una sal sódica de un alquilnaftalensulfato,

Madeol AG W 90 es un naftalensufonato condensado,

10 Madeol MW es un alquilnaftalensufonato condensado,

Madeol AG OR 95 es un naftalensulfonato condensado,

ES 2 520 615 A1

Tras la incubación en todas las muestras la carga microbiana fue menor a 1000 unidades formadoras de colonia por gramo (<1000 UFC/g).

Ejemplo 2. Estabilidad de las suspensiones

Se prepararon diferentes suspensiones en agua de un material inerte con un tamaño de
5 partícula de 40 micras con diferentes mezclas de poliol/ agente dispersante y con diferentes sólidos inertes.

	Poliol	Peso	Dispersante	Peso(g)	Agua	Sólido	Peso
		(g)		(g)	(g)		(g)
1	Glicerina	50,1	Atlox 4915	1	30	Caolín	1
2	Glicerina	50,6	Emulson AGPSBV 4	1,2	30	Zeolita	1,2
3	Glicerina	52,1	Atlox Metarsperse 500 L	1,2	30	Caolín	1,2
4	Glicerina	50,5	Emulson AG/TP1	1	30	Sílice	1,1
5	Glicerina	50,6	Emulson AGPSBV 4	1,3	30	Caolín	1,0
6	Glicerina	50,9	Emulson AG TRST60	1,3	30	Caolín	1,1
7	Glicerina	50,1	Madeol AG W 90	1,3	30	Caolín	1,3
8	Glicerina	52,0	Madeol MW	1,3	30	Caolín	1,3
9	Glicerina	50,8	Madeol AG OR 95	0,9	30	Caolín	1

ES 2 520 615 A1

10			Emulson AGPSBV 4	1,04			
10			Madeol AG W 90	0,03			
10	Sorbitol	84	Total	1,07	44	Caolín	0,1
11	Monopropilenglicol	50,1	Madeol AG W 90	1,2	30	Caolín	1,2
12	Glicerina	50	-----	0	30	Caolín	1,1
13	Sorbitol	50,0	Atlox 4915	1	30	Caolín	1
14	Sorbitol	50,6	Emulson AGPSBV 4	1,2	30	Zeolita	1,2
15	Sorbitol	52,1	Atlox Metarsperse 500 L	1,2	30	Caolín	1,2
16	Sorbitol	50,5	Emulson AG/TP1	1	30	Sílice	1,1
17	Sorbitol	50,6	Emulson AGPSBV 4	1,3	30	Caolín	1,0
18	Sorbitol	50,9	Emulson AG TRST60	1,3	30	Caolín	1,1
19	Sorbitol	50,1	Madeol AG W 90	1,3	30	Caolín	1,3
20	Sorbitol	52,0	Madeol MW	1,3	30	Caolín	1,3
21	Sorbitol	50,8	Madeol AG OR 95	0,9	30	Caolín	1
22	Sorbitol	49	-----	0	30	Caolín	1,3

ES 2 520 615 A1

23	Glicerina	1148	Emulson AGPSBV 4	10.0	80	Caolín	1
----	-----------	------	---------------------	------	----	--------	---

Las muestras se centrifugaron durante 15 minutos a 1735 rpm con un agitador tipo Cowles.

Los resultados muestran que cuando se utiliza como dispersante naftalensulfonato condesado o policarboxilato sódico, tras a centrifugación no se observa la precipitación de los sólidos dispersados.

La muestras 12 y 22, sin agentes dispersantes, presentaron la precipitación del caolín.

En los demás casos se observó la presencia de una espuma persistente o la presencia de sólidos precipitados

10 Ejemplo 3. Estabilidad la suspensiones en función del contenido de sólidos.

Se prepararon diferentes suspensiones utilizando policarboxilato sódico (Emulson AG PS BV 4) como agente dispersante. Se adicionaron diferentes cantidades de sólido inerte.

	Poliol	Peso	Dispersante	Peso(g)	Agua	Sólido	Peso
		(g)		(g)	(g)		(g)
1	Glicerina	50,6	Emulson AGPSBV 4	1,2	30	Caolín	10,1
2	Sorbitol	50,4	Emulson AGPSBV 4	1,2	30	Caolín	5,5
3	Monopropilenglicol	49,5	Emulson AGPSBV 4	1,3	30	Caolín	2,6
4	Glicerina	50,1	Emulson AGPSBV 4	1,3	30	Caolín	20,0
5			Emulson AGPSBV 4	10,03			

ES 2 520 615 A1

5			Tween 85	8,57			
5	Glicerina	1148	Total	18,6	77,9	Caolín	1,1

No observándose precipitados después de centrifugar durante 15 minutos a 1735 rpm.

Ejemplo 4. Fabricación de las suspensiones bacterianas con actividad biocida

0,10 gramos de caolín que contenía 10^{10} ufc/g de *Bacillus subtilis* cepa IAB, obtenida según ES24002726, se disolvió en agua destilada, se adicionaron los agentes dispersantes y se homogenizó la suspensión. Posteriormente, la suspensión se diluyó 100 gramos (cps) con polioles. El pH de la suspensión se ajustó a pH 7 con ácido cítrico. La concentración de la suspensión obtenida fueron 10^7 ufc/g.

Los agentes dispersante y polioles utilizados fueron:

Muestra	Peso agua (g)	Agente dispersante	Peso agente dispersante(g)	Poliol cps 100 g
1	7.5	Emulson AGPSBV 4	1.20	Glicerina
2	6	Madeol AG W 90	1.50	Sorbitol 70%
3	7.6	Emulson AGPSBV 4	2.50	Monopropilenglicol
4	8	Emulson AGPSBV 4	2.30	Glicerina
5	12.3	Madeol AG W 90	3.60	Sorbitol 70%
6	7.5	Madeol AG W 90	1.65	Monopropilenglicol

Las suspensiones bacterianas se prepararon sin la adición de agentes conservantes, tales como azidas, isotiazolinas o parabenos.

Ejemplo 5. Efectividad de las suspensiones contra la Sclerotina de la lechuga

Una suspensión bacteriana líquida de *Bacillus subtilis* cepa IAB con una concentración de 10^7 ufg/g fue igual de efectiva contra la *Sclerotinia* de la lechuga que una formulación sólida *Bacillus subtilis* cepa QST 713 en tierra de diatomeas con una concentración de 5.13×10^{10} ufc/g.

La suspensión bacteriana con una concentración de 10^7 ufg/g se diluyó en agua a diferentes concentraciones: 300 mL/100l; 600 mL/100 l; 1000 mL/100 l y estas diluciones se emplearon como agente biocida contra la Sclerotina de la lechuga

Como agente biocida de control se utilizó Serenade Max® al 15,65% con una dosis de 4 kg/Ha, que aproximadamente equivale a 4 mL/100l

Se observó actividad biocida en todas las muestras.

5 Ejemplo 6. Fabricación de suspensiones de proteínas con actividad biocida.

100 mg de una cistatina en 1 gramo de caolín se 7.7 gramos de agua destilada. Se adicionaron 1.04 gramos de policarboxilato sódico (Emulson AG PS BV 4) y 0.03 de naftalensulfonato condensado. La mezcla se homogenizó y se añadieron 119.34 gramos de sorbitol 70. El pH de suspensión se ajustó a pH 7 con ácido cítrico. Concentración de la suspensión 10^7 ufc/g. La suspensión fabricada inhibió la actividad de las catepsinas, por lo que las suspensiones proteínas no pierden la actividad biocida de las cistatinas.

Ejemplo 7. Estudio de estabilidad de las suspensiones bacterias de *Bacillus subtilis*

Se realizó un estudio de estabilidad acelerado de una suspensión bacteriana de *Bacillus subtilis* cepa IAB con una concentración de 1×10^7 ufc/g obtenida según el ejemplo 4 muestra 1.

Los parámetros medios fueron aspecto, pH, concentración del principio activo, estabilidad de la suspensión diluida al 5%.

Las condiciones de almacenamiento fueron 14 días a 54°C, estando las muestras acondicionadas en botellas cerradas de plástico.

20 Los resultados obtenidos se detallan a continuación:

Ensayo	Especificación	T=0	T=54 días
Aspecto	Dispersión homogénea amarillenta con olor característico	Conforme	Conforme
pH	7-7.5	7.25	7.22
Estabilidad de la suspensión al 5%	Homogénea a las 18 horas	Conforme	Conforme

ES 2 520 615 A1

<i>B. subtilis</i>	Mayor 10^7 ufc/g	$1.40 \cdot 10^7$ ufc/g	$1.38 \cdot 10^7$ ufc/g
--------------------	--------------------	-------------------------	-------------------------

Los resultados obtenidos garantizan la estabilidad de la suspensión durante 2 años a temperatura ambiente.

Reivindicaciones

1. Agente bacteriostático que comprende una disolución acuosa de
 - un poliol y
 - un agente dispersante
- 5 caracterizado porque la proporción poliol/ agente dispersante está comprendida entre 30:1 (peso/peso) y 110:1 (peso/peso).
2. Agente bacteriostático según la reivindicación 1 donde el agente dispersante es naftalensulfonato condensado o policarboxilato sódico.
3. Agente bacteriostático según la reivindicaciones 1-2 caracterizada porque el poliol es
- 10 monopropilenglicol, glicerina o sorbitol.
4. Agente bacteriostático según la reivindicación 3 caracterizada porque el contenido en agua es menor al 40% (peso/peso)
5. Suspensión que comprende el agente bacteriostático según las reivindicaciones 1-4 y un sólido inerte insoluble en agua con un tamaño de partícula menor de 40 micras.
- 15 6. Suspensión según la reivindicación 5 tamponada a pH 7.
7. Formulación que comprende la suspensión según las reivindicaciones 5-6 y una bacteria con actividad biocida.
8. Formulación que comprende la suspensión según la reivindicación 7 y una cepa de *Bacillus subtilis*.
- 20 9. Formulación según las reivindicaciones 7-8 caracterizada porque no contiene agentes conservantes.
10. Uso de las formulaciones según las reivindicaciones 7-9 para la fabricación de un biocida contra la Sclerotinia de la lechuga.
- 11- Formulación que comprende la suspensión según las reivindicaciones 5-6 y una proteína
- 25 con actividad biocida.
12. Formulación según la reivindicación 11 donde la proteína es cistatina.

13. Un procedimiento para la fabricación de las formulaciones según las reivindicaciones 7-9 que comprende:

- la inoculación de una cepa bacteriana en un soporte sólido inerte insoluble en agua,

- la dispersión en agua,

5 -la adición de agentes dispersantes

- la adición de un poliol,

- el ajuste a pH 7.

10



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA

- ②① N.º solicitud: 201431040
②② Fecha de presentación de la solicitud: 10.07.2014
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **A01N63/00** (2006.01)
A01N25/00 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2370561 T3 (BAYER CROPSOURCE AG) 20.12.2011, página 19, líneas 23-27; tabla 1; reivindicaciones 1-3.	1-13
A	WO 2009126473 A1 (BAYER CROPSOURCE LP et al.) 15.10.2009, resumen; ejemplos; reivindicaciones 1,4,8,9,10.	1
A	Base de datos WPI, semana 200851; Thomson Scientific, Londres, GB; [Recuperado el 29.10.2014] Recuperado de EPOQUE; AN 2008-H99709 & JP 2008127366 A (TSUB) 05.06.2008	1-10,13
A	Base de datos WPI, semana 199342; Thomson Scientific, Londres, GB; [Recuperado el 29.10.2014] Recuperado de EPOQUE; AN: 1993-331338 & JP H05238913 A (SUNR) 17.09.1993	1-13

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
29.10.2014

Examinador
M. Ojanguren Fernández

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, CAS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 29.10.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 10-12	SI
	Reivindicaciones 1-9, 13	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-13	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ES 2370561 T3 (BAYER CROPSOURCE AG)	20.12.2011
D02	Base de datos WPI, semana 200851; Thomson Scientific, Londres, GB; [Recuperado el 29.10.2014] Recuperado de EPOQUE; AN 2008-H99709 & JP 2008127366 A (TSUB) 05.06.2008	
D03	Base de datos WPI, semana 199342; Thomson Scientific, Londres, GB; [Recuperado el 29.10.2014] Recuperado de EPOQUE; AN: 1993-331338 & JP H05238913 A (SUNR) 17.09.1993	

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la presente invención es un agente bacteriostático que comprende una disolución acuosa de un poliol y un agente dispersante en una proporción de entre 30:1 y 110:1 en peso. También se reivindica una suspensión que comprende dicho agente bacteriostático y un sólido inerte con un tamaño de partícula menor de 40 micras y una formulación química que comprende dicha formulación y una bacteria o una proteína con actividad biocida como ingrediente activo.

El documento D1 divulga suspensiones de sustancias con actividad biocida en glicerol en una proporción de éste de al menos un 60% en peso. Dichas suspensiones se utilizan para la formulación de concentrados utilizados en el campo de los productos fitosanitarios. En concreto, en la descripción se indica la utilización como componentes de la suspensión de Morwet EFT y Morwet DB que son derivados de alquil naftalensulfonatos, y que es una de las dos posibilidades de producto dispersante que se mencionan en la reivindicación 2 de la solicitud. Además en la tabla 1 se indica la utilización de caolín en la suspensión. En cuanto a las sustancias con actividad biocida que se añade a la suspensión se citan una amplia variedad de principios activos entre los que se incluyen agentes biológicos como hormonas o bacterias, en concreto *Bacillus spec.*

Por lo tanto a la vista de este documento las reivindicaciones 1 a 9 y 13 de la presente solicitud no tienen novedad ni actividad inventiva. (Art. 6.1 y 8.1 LP).

En cuanto a la reivindicación 10, relativa al uso de una formulación que contiene la suspensión de la invención con *Bacillus subtilis* como ingrediente activo para la fabricación de un biocida contra la Sclerotinia de la lechuga carece de actividad inventiva dado que ya son ampliamente conocidas en el estado de la técnica (ver documento D3) el uso de formulaciones que contienen *Bacillus subtilis* como biocida contra la Sclerotinia. (Art. 8.1 LP).

Por último las reivindicaciones 11 y 12, relativas a formulaciones que contienen proteínas con actividad biocida y en concreto, cistatinas, también carecen de actividad inventiva dado que ya es conocido en el estado de la técnica (ver documento D4) el uso de estos compuestos como biocidas. (Art. 8.1 LP).