



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 25 516 T2** 2006.01.26

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 287 740 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 25 516.3**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 079 529.0**

(96) Europäischer Anmeldetag: **19.03.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **05.03.2003**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **25.05.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **26.01.2006**

(51) Int Cl.⁸: **A01N 37/16** (2006.01)
A01G 31/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

55609 06.04.1998 US

(73) Patentinhaber:

Ecolab Inc., St. Paul, Minn., US

(74) Vertreter:

**Stenger, Watzke & Ring Patentanwälte, 40547
Düsseldorf**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**Hei, Robert D.P., Baldwin, US; Hanson, Heidi M.,
Minneapolis, US; Adkins, Leanne J., Eagan, US;
Cords, Bruce R., Inver Grove Heights, US;
Lokkesmoe, Keith D., Savage, US**

(54) Bezeichnung: **Behandlung mit Persäuren zur Bekämpfung von pathogenen Organismen auf wachsenden Pflanzen**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Züchten von Pflanzen auf einer Hydrokultur.

Hintergrund der Erfindung

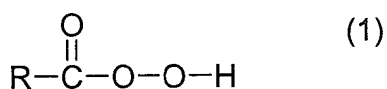
[0002] Bei der Produktion von Früchten und Gemüsen können Pflanzen auf Feldern, in Gewächshäusern oder Hydrokulturen gezogen werden. Jede Örtlichkeit hat ihre eigenen Wachstumsstoffe, Umwelt und Wachstumsbedingungen. Das landwirtschaftliche Personal arbeitet an der Maximierung der Produktion durch Maximierung der Wachstumsbedingungen, während die Angriffe auf Saatgut, Setzlinge, Pflanzen und Früchte durch lebende Schädlinge minimiert werden. Solche Schädlinge schließen Insekten, Nagetiere, Bakterien, Pilze usw. ein.

[0003] Die hauptsächliche Aufmerksamkeit wurde auf antimikrobische Verbindungen gelegt, die Bakterien und Pilze auf Saatgut, Setzlingen, wachsenden Pflanzen und Früchten im Produktionszyklus der wachsenden Pflanzen angreifen. Die Verwendung von Fungiziden in der Landwirtschaft ist aufgrund der großen Verluste, hervorgerufen durch eine große Vielzahl von pflanzenpathogenen Mikroorganismen, notwendig. Um ökonomisch zu sein, müssen die Kosten zur Kontrolle von Pflanzenerkrankungen durch die Anwendung von Bakterioziden und Fungiziden gegen die potentiellen Gewinne aufgerechnet werden. Große Mengen von Fungiziden sind in der Agrarindustrie von Äpfeln, Pfirsichen, Bananen, Cerealien, Kakao, Kaffee, Baumwolle, Kartoffeln, Tabak, Weintrauben, Sprossen, und anderen bekannten Früchten und Gemüsen einschließlich Sellerie, Porree, Zwiebeln, Salat, Spinat, Rosenkohl, Kartoffeln, Trüffeln, Knoblauch, Schalotten, Pfeffer, Bohnen, Tomaten, Mandeln, Birnen, Äpfeln, Erdnüssen und anderen notwendig. Fungizide werden typischerweise als wässrige Suspension mit Flüssigsprüheren oder in Form von Dunst, Granulat oder Räuchermitteln angewendet. Frühere Fungizide schlossen Schwefel und Polysulfide, Schwermetalle und anderes ein. Solche herben Fungizide wurden durch neuere, aber immer noch toxische Materialien wie z. B. Chinone, Organoschwefelverbindungen, Imidazoline und Guanidine, Trichlormethylthiocarboximide, chlorierte und nitrierte Benzole, Oxithine, Benzimidazole, Pyrimidine und andere ersetzt. Dieses breite Spektrum an Schutzsubstanzen greift Enzyme und Membransysteme der Zielmikroorganismen an. Typische Wechselwirkungsformen schließen die Unterdrückung der Pilz oder bakteriellen Energieproduktion, Wechselwirkung mit der Biosynthese oder Zerstörung der Zellmembranstrukturen ein. Die zuvor genannten Fungizide haben einigen Erfolg gehabt; dennoch werden sie als toxisches Material angesehen und eine wesentliche Menge der Pflanzenproduktion ist aufgrund ihres schädlichen Einflusses Abfall. Dementsprechend besteht ein wesentliches Bedürfnis in der Fortführung der Entwicklung von antimikrobischen Materialien die wachsende Pflanzen einschließlich Samen, Stecklinge, Setzlinge, wachsende Pflanzen, Pflanzenteile, Früchte oder anderen Agrarprodukte schützen können.

Peroxysäuren

[0004] Des weiteren können mensch- und pflanzenpathogene Bakterien und Pilze zu Kontaminationsprobleme in wachsenden Pflanzen führen. Es wurde herausgefunden, daß coli-artige, Salmonellen und andere Bakterien in gewöhnlichen Agrarkultur- oder Gewächshausumgebung wachsende Pflanzen kontaminieren und eine Bedrohung für die menschliche Gesundheit durch Verzehr von frischen Gemüse, Früchten und Produkten sein können. Ein wesentlicher Bedarf besteht an Behandlungsmöglichkeiten, die die bakterielle Kontamination verringern.

[0005] Peroxysäuren sind starke Oxidationsmittel und haben eine einfache Grundstruktur gemäß der Formel (1), worin R im wesentlichen jede Kohlenwasserstoffgruppe sein kann:



Antimikrobische Behandlungen

[0006] Peroxy-Gruppen aufweisende Verbindungen sind für die Herstellung von mikrobiischen Reagenzien bekannt. Eine dieser Verbindung wird im US-Patent Nr. 4,051,059 von Bowing et al. offenbart und beinhaltet Peressigsäure, Essigsäure oder Mischungen von Peressigsäure und Essigsäure, Wasserstoffperoxid, anionische Tenside wie Sulfonate und Sulfate, und Wasser.

[0007] GB 2 187 958 A und EU 0 242 990 A2 beschreiben die Verwendung von entweder Peressigsäure oder Perpropionsäure zur Kontrolle von Pflanzenpathogenen auf Blumen und Fruchtgewebe. Sie sind auf eßbare Feldpflanzen und Getreidekulturpflanzen gerichtet.

[0008] WO 94/06294 beschreibt die Verwendung einer einzelnen Persäure Verbindung in Kombination mit Mischungen von aliphatischen Säuren zur Gemüsedesinfektion.

[0009] US 5,168,655 betrifft die Hydrokulturbehandlung mit Persäuren. Diese Druckschrift beschreibt Persäurebehandlungen für auf Hydrokulturen wachsende Substrate (z. B. Steinwolle) vor dem Wachstum; insbesondere wird das wachsende Substrat nach einem Getreideproduktionszyklus und vor einem darauffolgenden Getreideproduktionszyklus behandelt. Im Unterschied dazu beschreibt die vorliegende Erfindung die Behandlung von Hydrokulturen während eines Wachstumszyklus.

[0010] US-Patent 5,200,189 von Oakes et al. beschreibt die Verwendung von gemischten Persäure-Verbindungen zur verbesserten mikrobiischen Bekämpfung beim Desinfizieren von harten Oberflächen. Bestimmte gemischte Persäuren wurden jetzt als brauchbar zur verbesserten mikrobiischen Abtötung auf empfindlichem wachsenden Pflanzengewebe oder den Erntefrüchten entdeckt.

[0011] US-Patent Nr. 2,512,640 von Greenspan et al. offenbart die Verwendung einer einzelnen Persäurezusammensetzung zur verbesserten Mikrobenreduktion auf Produkten, verringerte Produktbraunverfärbung und zur Verhinderung von Verderben. Greenspan offenbart keine Synergien durch gemischte Persäuren und wendet die Persäure nur auf geernteten Früchten an.

[0012] GB 2 257 630 A beschreibt die Verwendung einer einzelnen Persäure, welche durch einen Aktivator (Fe, Cu, Br, I) zur Kontrolle von Mikrobenmengen auf harten Oberflächen, Ablaufwasser, und wachsenden Pflanzengewebe aktiviert wurde. Wiederum ist dies eine einzelne Persäurezusammensetzung, welche nicht die Synergien zwischen gemischten Persäuren lehrt.

[0013] DK 93005838 beschreibt die Verwendung von Peressigsäure, gefolgt von einer biologischen Bekämpfung zur Kontrolle von Pathogenen in Kreislaufwässerungssystemen für Pflanzensamen. Diese Referenz beschreibt keine direkte Behandlung der Samen.

[0014] JP 07031210 lehrt die Verwendung von 5 bis 200 ppm Peressigsäure und/oder Perpropionsäure zur Behandlung von Setzlingskulturmedien vor dem Pflanzen; insbesondere zur Kontrolle von Schleim, Algen oder Pilzen auf dem Kultivierungsmedium. Die Lehre ist auf die Verwendung von C₂ und C₃ Säuren beschränkt und hat keinen Bezug zu wachsenden Pflanzengewebe.

[0015] JP 07258005 A lehrt die Verwendung von großen Mengen (1000 ppm) Peressigsäure zur Kontrolle von Bakterien auf Reis. Diese Anmeldung ist nur auf die Erkrankungskontrolle und nicht auf das hydrokulturelle Wachstum des Kornes gerichtet.

[0016] DE 3 003 875 A beschreibt die Verwendung von C₁-C₄ Persäuren und Wasserstoffperoxiden zur Kontrolle von phytopathogenen Erregern auf dem Erdreich. Diese Referenz offenbart keine direkte Anwendung bei Pflanzen.

Kurze Beschreibung der Erfindung

[0017] Wir haben herausgefunden, daß eine gemischte Persäurebehandlungszusammensetzung zum Schutz von wachsenden Pflanzengewebe vor nicht wünschenswerten Einflüssen durch mikrobiische Angriffe eingesetzt werden kann. Es wurde herausgefunden, daß die erfindungsgemäßen Materialien exzellente antimikrobiische Zusammensetzungen sind, welche jedoch leichte toxische Effekte bei Agrararbeitern oder letztendlich Verbrauchern zeigen.

[0018] Die Erfindung umfaßt ein Verfahren zum Züchten wenigstens einer Pflanze auf einer Hydrokultur in einen flüssigkeitsbereitstellenden Hydrokulturmedium zur Herstellung von Nutzfrüchten oder Gemüseprodukten mit einer reduzierten mikrobiischen Kontamination, das Verfahren umfaßt:

- a) die Herstellung eines wachsenden und lebenden Pflanzengewebes in einem Hydrokultursubstrat;
- b) Inkontaktbringen des lebenden Pflanzengewebes, des Hydrokultursubstrats und der Hydrokulturflüssigkeit mit einer verdünnten wässrigen Lösung aufweisend eine effektive Menge einer C₂ bis C₁₂-Percarbonsäure; und

c) Ernten eines verbesserten Produkts.

[0019] Die verdünnte wässrige Lösung kann bevorzugt aus einer Konzentratzusammensetzung hergestellt werden, wobei die Konzentratzusammensetzung mit einer großen Menge Wasser verdünnt werden kann, um eine antimikrobische Gebrauchslösung mit einem pH-Wert in der Größe von ungefähr 2 bis 8 mit einer C₂ bis C₄ Peroxycarbonsäurekonzentration von wenigstens 4 ppm, bevorzugt ungefähr 10 bis 75 ppm und einer C₈ bis C₁₂ Peroxysäurekonzentration von wenigstens 1 ppm, bevorzugt ungefähr 1 bis 25 ppm, zu bilden. Andere Komponenten wie zum Beispiel hydrotrope Kupplungsreagenzien zur Verbesserung der Löslichkeit der Peroxyfettsäuren können der konzentrierten Form und der Konzentratzusammensetzung, wenn diese mit Wasser verdünnt ist, zugegeben werden. Das Konzentrat kann 1 bis 20 Gew.-% einer C₂ bis C₄ Peroxykarbonsäure und ungefähr 0,1 bis 20 Gew.-% einer aliphatischen C₈-C₁₂ Peroxycarbonsäure; ungefähr 5 bis 40 Gew.-% einer C₂-C₄ Carbonsäure; ungefähr 1 bis 20 Gew.-% einer aliphatischen C₈-C₁₂ Carbonsäure; und ungefähr 1 bis 30 Gew.-% Wasserstoffperoxid zur Bildung einer Lösung; und das in Kontakt bringen der wachsenden Pflanzen mit dieser Lösung.

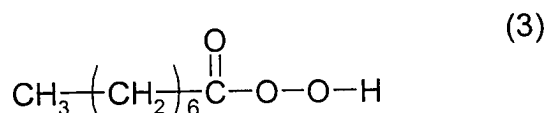
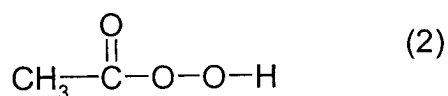
[0020] Im Unterschied zu dem Stand der Technik haben wir herausgefunden, daß bei einem niedrigen pH-Wert (z. B. bevorzugt niedriger als 7) C₅₊ Peroxysäuren wie Peroxyfettsäuren sehr geeignete Biozide bei niedrigen Spiegel sind, wenn diese in Kombination mit C₂-C₄ Peroxycarbonsäuren wie Peroxyessigsäure eingesetzt werden, wobei ein synergetischer Effekt beobachtet wurde, welcher eine wesentlich bessere Biozidität hervorruft, als sie bei der getrennten Verwendung dieser Verbindung beobachtet wird. Dies bedeutet, daß wesentlich geringere Konzentrationen an Bioziden eingesetzt werden können um einen gleichen bioziden Effekt zu erreichen.

[0021] Wie in dieser Anmeldung verwendet, bedeutet der Begriff eine C₈-C₁₂ Peroxysäure (oder Persäure) das Oxidationsprodukt einer C₈-C₁₂ Säure, wie eine Fettsäure, oder eine Mischung von Säuren, zur Bildung einer Peroxysäure mit ungefähr 8 bis 12 Kohlenstoffatomen pro Molekül. Die C₈-C₁₂ Peroxysäuren sind aliphatisch (gradlinig oder verzweigt).

[0022] Peroxycarbonsäuren meinen das Oxidationsprodukt einer C₂-C₄ Carbonsäure oder eine Mischung dieser. Dies schließt sowohl gradlinige als auch verzweigte C₂-C₄ Carbonsäuren ein.

[0023] Die beanspruchte Erfindung schließt eine Methode zur Kontrolle von Pilzen und mikrobischen Pflanzenpathogenen in wachsenden Pflanzen ein. Diese Behandlung verwendet eine Kombination von zwei unterschiedlichen Peroxysäuren. Diese Mischung weist mindestens 4 Teile pro Million (ppm) einer kleinen C₂-C₄ Peroxycarbonsäure und mindestens 1 ppm einer großen C₈-C₁₂ Peroxycarbonsäure auf. Die bevorzugte Mischung weist mindestens 4 ppm einer kleineren C₂-C₄ Peroxysäure und mindestens 1 ppm einer großen aliphatischen C₈-C₁₂ Peroxysäure auf.

[0024] Ein besonders bevorzugtes Ausführungsbeispiel der Verbindung weist eine Mischung von Peroxyessigsäure (dargestellt in Formel 2) und Peroctansäure (dargestellt in Formel 3)) auf.



[0025] Die Verbindung kann auch ein Hydrotrop zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit von unterschiedlichen, wenig löslichen organischen Verbindungen aufweisen. Das bevorzugte Ausführungsbeispiel der Erfindung verwendet ein Hydrotrop, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus n-Octansulfonat, einem Xylensulfonat, einem Naphthalensulfonat, Ethylhexylsulfat, Laurylsulfat, einem Aminoxid, oder einer Mischung dieser, auf.

[0026] Die Verbindung kann auch ein Chelatisierungsreagenz zur Entfernung von Ionen aus der Lösung aufweisen. Das bevorzugte Ausführungsbeispiel dieser Erfindung nutzt 1-Hydroxyethyliden-1,1-diphosphonsäure.

[0027] Letztendlich kann die Erfindung auch zur Kontrolle von Pilzen und mikrobiischen Pflanzengiften in wachsenden Pflanzen auf Hydrokultursubstraten eingesetzt werden. In diesem Fall wird die Pflanze mit einer Lösung, welche durch Verdünnung eines Konzentrats, enthaltend zwei Peroxysäuren, in Wasser hergestellt wird, kontaktiert. Diese Mischung enthält die kleiner C_2 bis C_4 Peroxycarbonsäure und die größere C_4 bis C_{12} aliphatische Peroxycarbonsäure. Ein besonders bevorzugtes Ausführungsbeispiel der Zusammensetzung enthält eine Mischung von Peroxyessigsäure und Peroctansäure. Die Zusammensetzung kann darüber hinaus ein hydrotopes und ein Chelatisierungsreagenz enthalten.

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

Persäuren

[0028] Es wurde herausgefunden, daß Peroxysäureverbindungen gemäß der Erfindung direkt mit dem lebenden Pflanzengewebe in Form eines Saatkorns, eines Abschnittes, eines Wurzelstocks, eines Pfropfens, einer unreifen Knolle oder erwachsenen Pflanze in Kontakt gebracht werden können und die Mikrobenpopulation reduzieren, ohne wesentliche Beeinflussung der Gesundheit des lebenden Gewebes.

[0029] Die Erfindung basiert auch auf der überraschenden Entdeckung, daß wenn eine C_8 - C_{12} Peroxysäure mit einer C_2 - C_4 Peroxycarbonsäure kombiniert wird, ein Synergieeffekt eintritt und eine wesentlich erhöhte antimikrobiische Aktivität in Vergleich zu der C_8 - C_{12} Peroxysäure oder der C_2 - C_4 Peroxycarbonsäure alleine beobachtet wird. Die vorliegende Mischung einer C_8 - C_{12} Peroxysäure und einer C_2 - C_4 Peroxycarbonsäure kann effektiv Mikroorganismen in einem Konzentrationsbereich unter 100 ppm, und so niedrig wie 20 ppm der Peroxymischung, abtöten (z. B. eine $5 \log_{10}$ Verringerung in 30 Sekunden).

[0030] Eine Vielzahl der C_8 - C_{12} Peroxysäuren wie Peroxyfettsäuren, Monoperoxy- oder Diperoxydicarbonsäuren und aromatische Peroxysäuren können in der Verbindung der Erfindung eingesetzt werden. Die C_8 - C_{12} Peroxysäuren die in der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden, können strukturell dargestellt werden als: R_1 - CO_3H , wobei R_1 eine Kohlenwasserstoffkomponente mit ungefähr 7 bis 11 Kohlenstoffatomen ist. R_1 kann Substituenten in seiner Kette aufweisen, wie z. B. -OH, CO_2H , oder Heteroatome (z. B., -O- wie in Alkylethercarbonsäuren), wenn hierdurch die antimikrobiische Eigenschaft der gesamten Verbindung nicht signifikant verändert wird. Es sollte festgestellt werden, daß die „ R_1 “-Substituenten oder Heteroatome die Gesamtacidität (insbesondere pKa) der hier beschriebenen Carbonsäuren verändern können. Solche Modifikation liegen im Bereich der vorliegenden Erfindung solange die vorteilhaften antimikrobiischen Eigenschaften erhalten bleiben. Des weiteren kann R_1 linear, verzweigt, zyklisch oder aromatisch sein. Bevorzugte Kohlenwasserstoffkomponenten (insbesondere bevorzugte R_1) weisen lineare, gesättigte aliphatische Kohlenwasserstoffkomponenten mit 7 bis 11 Kohlenstoffatomen (oder 8 bis 12 Kohlenstoffatomen pro Molekül) auf.

[0031] Spezifische Beispiele für geeignete C_8 - C_{12} Fettsäuren die mit Wasserstoffperoxid zur Bildung von Peroxyfettsäuren zur Reaktion gebracht werden können schließen gesättigte Fettsäuren wie Caprylsäure (Octansäure) (C_8), Pelargonsäure (Nonansäure) (C_9), Caprinsäure (Dekansäure) (C_{10}), Undekansäure (C_{11}), Laurylsäure (Dodekansäure) (C_{12}) ein. Diese Säuren können sowohl aus natürlichen als auch aus synthetischen Quellen gewonnen werden. Natürliche Quellen schließen tierische und pflanzliche Fette oder Öle ein, welche vollständig hydriert sein sollten. Synthetische Säure können durch Oxidation von Paraffinwachs gewonnen werden. Einzelne bevorzugte Peroxyfettsäuren zur Verwendung in Verbindungen gemäß der Erfindung sind lineare aliphatische Monoperoxyfettsäuren wie Peroxyoctansäure, Peroxydekansäure oder Mischungen dieser.

[0032] Andere geeignete Peroxysäuren können durch Oxidation von Dicarbonsäuren und aromatischen Säuren gewonnen werden. Geeignete Dicarbonsäuren schließen Sebacinsäure (C_{10}) ein. Ein Beispiel für eine geeignete aromatische Säure ist Benzoesäure. Diese Säuren können mit Wasserstoffperoxid zur Bildung von zur Verwendung in Verbindung der Erfindung geeigneten Pettsäuren zur Reaktion gebracht werden. Bevorzugte Pettsäuren in dieser Gruppe schließen Monoperoxy- oder Diperoxyadipinsäure, Monoperoxy- oder Diperoxysebacinsäure und Peroxybenzoesäure ein.

[0033] Die oben genannten Peroxysäuren zeigen antibakterielle Aktivität gegen eine große Zahl von Mikroorganismen wie Grampositive (z. B. Staphylococcus aureus) und Gramm-negative (z. B. Escherichia coli, Salmonella, etc.) Mikroorganismen, Hefen, Schimmel, bakterielle Sporen usw.. Bevorzugte Pflanzengewebe sind wachsende dikotyle und monokotyle Pflanzen. Wenn die oben genannten C_8 - C_{12} Peroxysäuren mit C_2 - C_4 Peroxycarbonsäuren kombiniert werden, zeigt sich eine starke Verbesserung der verbesserte Aktivität im Vergleich zu C_2 - C_4 Peroxycarbonsäuren allein oder den C_8 - C_{12} Peroxysäuren allein. Die C_2 - C_4 Peroxycarbonsäu-

reverbindungen können aus einer C₂-C₄ Carbonsäuren oder Dicarbonsäuren durch Reaktion der Säure oder aus den korrespondierenden Anhydriden oder Säurechloriden mit Wasserstoffperoxid gewonnen werden.

[0034] Wasserstoffperoxid gewonnen werden. Beispiele für geeignete C₂-C₄ Carbonsäuren umfassen Essigsäure, Propionsäure, Glykolsäure, Succinsäure oder die korrespondierenden Anhydride oder Säurechloride. Bevorzugte C₂-C₄ Peroxycarbonsäuren zur Verwendung in der Verbindung der Erfindung schließen Peroxyessigsäure, Peroxypropionsäure, Peroxyglykolsäure, Peroxysuccinsäure oder Mischungen dieser ein.

[0035] Das antimikrobische Konzentrat der vorliegenden Erfindung kann ungefähr 0,1 bis 20 Gew.-%, bevorzugt ungefähr 0,1 bis 5 Gew.-%, und am bevorzugsten ungefähr 0,1 bis 2 Gew.-% einer C₈-C₁₂ Peroxysäure, und ungefähr 1 bis 20 Gew.-%, bevorzugt ungefähr 1 bis 15 Gew.-% und am bevorzugsten 4–15 Gew.-% einer C₂-C₄ Peroxycarbonsäure aufweisen. Die Konzentratverbindung hat bevorzugt ein Gewichtsverhältnis der C₂-C₄ Peroxycarbonsäure zur C₈-C₁₂ Peroxysäure von ungefähr 15: 1 bis 1:1. Das Konzentrat weist hinreichend Säure auf, so daß die endgültige Gebrauchslösung einen pH-Wert von ungefähr 2–8, bevorzugt ungefähr 3 bis 7, aufweist. Weitere Acidität kann auch von einem inerten Säuerungsmittel stammen, welches optional zugegeben werden kann (z. B. Schwefelsäure oder Phosphorsäure).

[0036] Die peraciden Komponenten die in der Verbindung zum Einsatz gelangen können in einfacher Weise durch Mischen von Wasserstoffperoxid (H₂O₂)-Lösung oder durch die Anwendung von pulverförmigen Peroxiderzeugern wie Percarbonaten oder Perboraten mit der gewünschten Menge an Säure hergestellt werden. Bei den höher molekulargewichtigen Fettsäuren kann ein hydrotropes Kupplungsreagenz notwendig sein, um der Löslichkeit der Fettsäure nachzuhelfen. Die H₂O₂ Lösung kann auch zu bereits vorher hergestellten Pettsäuren wie die der Essigsäure oder unterschiedlichen Perfettsäuren zugegeben werden, um die Persäureverbindung der Erfindung herzustellen. Das Konzentrat kann ungefähr 1 bis 30 Gew.-%, bevorzugt ungefähr 2 bis 25 Gew.-% Wasserstoffperoxid aufweisen.

[0037] Die konzentrierte Verbindung kann des weiteren aufweisen, eine freie C₈-C₁₂ Carbonsäure, eine freie C₂-C₄ Carbonsäure oder Mischungen dieser. Die freien Säuren korrespondieren bevorzugt mit dem Ausgangsmaterial, welches zur Herstellung der Peroxysäurekomponenten eingesetzt wurde. Die freie C₈-C₁₂ Carbonsäure ist bevorzugt linear und gesättigt, hat 8 bis 12 Kohlenstoffatome pro Molekül und kann auch eine Mischung von Säuren aufweisen. Die freie C₈-C₁₂ Carbonsäure und die frei C₂-C₄ Carbonsäure können als Ergebnis einer Gleichgewichtsreaktion mit Wasserstoffperoxid zur Bildung von Persäuren vorliegen.

Andere Verbindungen

[0038] Unterschiedliche optionale Materialien können zu der Verbindung zugegeben werden um die Löslichkeit der Fettsäuren zu unterstützen, die Bildung von Schaum zu verhindern oder zu verstärken, die Wasserhärte zu kontrollieren, die Verbindung zu stabilisieren, oder die antimikrobische Aktivität der Verbindung weiter zu erhöhen.

[0039] Die Verbindung kann oberflächenaktive hydrotrope Kupplungsreagenzien oder Lösungsvermittler aufweisen, die ein Mischen von kurz kettigen Perfettsäuren in wässrigen Flüssigkeiten ermöglichen. Funktional gesprochen sind die geeigneten Kupplungsreagenzien die eingesetzt werden können nicht toxisch und erhalten die Fettsäuren und Perfettsäuren in wässrigen Lösungen über den Temperaturbereich und die Konzentration die das Konzentrat oder jede gebrauchsfähige Lösung besitzt in Lösung.

[0040] Für jeden hydrotropen Kuppler der eingesetzt werden soll, muß sichergestellt sein, daß dieser nicht mit den anderen Komponenten der Verbindung reagiert oder die antimikrobische Eigenschaft der Verbindung negativ beeinflusst. Repräsentative Klassen für hydrotrope Kupplungsreagenzien oder Lösungsvermittler die eingesetzt werden können schließen anionische Tenside wie Alkylsulfate oder Alkansulfonate, lineare Alkylbenzol- oder Naphthalinsulfonate, sekundäre Alkansulfonate, Alkylethersulfate oder Sulfonate, Alkylphosphate oder -phosphonate, Dialkylsulfosuccinsäureester, Zuckerester (z. B. Sorbitolester), Aminoxide (Mono-, Di-, oder Trialkyl) und C₈-C₁₀ Alkylglucoside. Bevorzugte Kupplungsreagenzien zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung schließen n-Octansulfonat, erhältlich als NAS 8D von Ecolab, n-Octyldimethylaminoxid, und die bekanntermaßen erhältlichen aromatischen Sulfonate wie Alkylbenzolsulfonate (z. B. Xylensulfonate) oder Naphthalensulfonate ein.

[0041] Einige der oben genannten hydrotropen Kupplungsreagenzien zeigen unabhängig antimikrobische Aktivität bei niedrigen pH. Dies erhöht die Effektivität der vorliegenden Erfindung, ist jedoch nicht das erste Auswahlkriterium für ein vorgeschlagenes Kupplungsreagenz. Da es die Anwesenheit der Perfettsäuren in ih-

rer protonierten neutralen Stufe ist, die die mikrobeabtötende Aktivität hervorruft, sollte das Kupplungsreagenz nicht aufgrund seiner unabhängigen antimikrobiellen Aktivität sondern aufgrund seiner effektiven Wechselwirkung zwischen den im wesentlichen unlöslichen Perettsäuren die hier beschrieben sind und den Mikroorganismen die durch die vorliegende Verbindung kontrolliert werden sollen ausgewählt werden.

[0042] Hydrotrope Kupplungsreagenzien können ungefähr 1 bis 15 Gew.-% und am bevorzugten ungefähr 2 bis 15 Gew.-% der konzentrierten Verbindung sein.

[0043] Verbindungen wie Mono-, Di- und Trialkylphosphorsäureester können der Verbindung zur Unterdrückung von Schaum zugegeben werden. Solche Phosphorsäureester werden generell aus aliphatischen linearen Alkoholen gewonnen, mit 8 bis 12 Kohlenstoffatomen im aliphatischen Teil des Alkylphosphorsäureesters. Alkylphosphorsäureester zeigen selbst leichte antimikrobielle Aktivität unter den Bedingungen der vorliegenden Erfindung. Diese antimikrobielle Aktivität scheint die insgesamt antimikrobielle Aktivität der vorliegenden Verbindung zu erhöhen, auch wenn die Phosphorsäureester aus anderen Gründen zugegeben wurden. Des Weiteren scheint die Zugabe von nicht ionischen Tensiden die Schaumbildung zu reduzieren. Diese Materialien scheinen die Eigenschaften der anderen Komponenten der Verbindung zu erhöhen, wobei insbesondere als nicht ionisches Tensid zur Verwendung als Entschäumer Nonylphenyl mit einem Mittel von 12 Mol eingelagerten Ethylenoxid und an den Endstellen versehen mit hydrophoben Bereichen die ein Mittel von 30 Mol Propylenoxid aufweisen, geeignet ist.

[0044] Chelatisierungsreagenzien können der Verbindung zugesetzt werden um die biologische Aktivität, die Reinigungseigenschaften und die Stabilität der Peroxysäuren zu erhöhen. Zum Beispiel 1-Hydroxyethyliden-1, 1-Diphosphonsäure, kommerziell zu erhalten von der Monsanto Company unter der Marke „DEQUEST“, erwies sich als effektiv. Chelatisierungsreagenzien können der vorliegenden Verbindung zugegeben werden, um Härteionen wie Calcium und Magnesium zu kontrollieren oder sequestrieren. In diesem Zusammenhang können sowohl die reinigenden Eigenschaften als auch die desinfizierenden Eigenschaften erhöht werden.

[0045] Andere Materialien die hinreichend stabil bei dem durch die vorliegende Verbindung hervorgerufenen niedrigen pH sind können der Verbindung zugegeben werden um gewünschte Qualitäten in Abhängigkeit der gewünschten letztendlichen Verwendung zu erzeugen. Zum Beispiel kann Phosphorsäure (H_3PO_4) der Verbindung der Erfindung zugegeben werden. Zusätzliche Verbindungen können dem Konzentrat (und damit letztendlich auch der gebrauchsfertigen Lösung) zugegeben werden, um deren Farbe oder Geruch zu verändern, die Viskosität einzustellen, die thermische Stabilität (d. h. Gefrier-Tau-Punkt) zu erhöhen oder andere Qualitäten bereitzustellen, die es vermarktbare machen.

[0046] Die Verbindung der Erfindung kann durch Kombinierung durch einfaches Mischen einer hinreichenden Menge einer C_8-C_{12} Peroxysäure wie eine Peroxyfettsäure mit ein wenig einer Quelle für C_2-C_4 Peroxycarbonsäuren wie Peroxyessigsäure hergestellt werden. Diese Verbindung würde mit zuvor hergestellten Perettsäuren und zuvor hergestellter Peroxyessigsäure hergestellt werden. Eine bevorzugte Verbindung der Erfindung kann durch Mischen einer C_2-C_4 Carbonsäure, einer C_8-C_{12} Carbonsäure, einem Kupplungsreagenz und einem Stabilisierer und dem zur Reaktion bringen dieser Mischung mit Wasserstoffperoxid hergestellt werden. Eine stabile Gleichgewichtsmischung mit einer C_2-C_4 Peroxycarbonsäure und einer C_8-C_{12} Peroxysäure wurde dadurch hergestellt, daß die Mischung für 1 bis 7 Tage bei 15° bis 25° Celsius stand. Wie bei jeder wäßrigen Reaktion von Wasserstoffperoxid mit freien Carbonsäuren ergibt dies die wirkliche Gleichgewichtsmischung. In diesem Fall wird die Gleichgewichtsmischung Wasserstoffperoxid, eine C_2-C_4 Peroxycarbonsäure, eine C_8-C_{12} Carbonsäure, eine C_2-C_4 Peroxycarbonsäure, eine C_8-C_{12} Peroxysäure, Wasser und unterschiedliche Kupplungsreagenzien und Stabilisierer enthalten.

[0047] Bei der oben genannten Lösung kann die Verbindung durch bloßes Mischen von fertig beziehbaren Ausgangsmaterialien wie z. B. Essigsäure, Wasserstoffperoxid und Fettsäureformuliert werden. Erlaubt man der Lösung Zeit zur Einstellung des Gleichgewichts, wird beobachtet, daß das Produkt beide aktiven Biozide aufweist. Durch Variation des Verhältnisses der C_2-C_4 Carbonsäure zur C_8-C_{12} Carbonsäure kann einfach das Verhältnis der C_2-C_4 Peroxycarbonsäure zur C_8-C_{12} Peroxysäure variiert werden.

Behandlungsmethoden

[0048] Die vorliegende Erfindung sieht eine konzentrierte Verbindung vor, welche zu einer gebrauchsfähigen Lösung verdünnt wird bevor diese als Mikroorganismen abtötende Verbindung eingesetzt wird. Hauptsächlich aus ökonomischen Gründen würde normalerweise das Konzentrat vermarktet und der Endverbraucher würde das Konzentrat mit Wasser zur gebrauchsfertigen Lösung verdünnen. Eine bevorzugte antimikrobielle Kon-

zentratverbindung weist ungefähr 0,1 bis 20 Gew.-%, bevorzugt ungefähr 0,1 bis 5 Gew.-% einer C₈-C₁₂ Peroxyfettsäure, ungefähr 1 bis 20 Gew.-% einer C₂-C₄ Peroxycarbonsäure, ungefähr 1 bis 15 Gew.-% eines hydrotropen Kupplungsreagenz, und ungefähr 1 bis 30 Gew.-% Wasserstoffperoxid auf. Andere Säuerungsmittel wie Phosphorsäure können optional in der Verbindung eingesetzt werden.

[0049] Der Gehalt an aktiven Komponenten in der konzentrierten Verbindung ist abhängig von dem vorgesehenen Verdünnungsfaktor und der gewünschten Acidität der gebrauchsfertigen Lösung. Die C₈-C₁₂ Peroxysäure wird generell durch die Reaktion einer C₈-C₁₂ Carbonsäure mit Wasserstoffperoxid in der Gegenwart einer C₂-C₄ Carbonsäure erhalten. Da resultierende Konzentrat wird mit Wasser verdünnt um eine gebrauchsfähige Lösung zu erhalten. Allgemein kann eine Verdünnung von einer Flüssigunze zu 4 Gallonen (d. h. eine Verdünnung von 1 bis 500 bezüglich des Volumens) mit Wasser bei einem Konzentrat mit 2% bis 20% Gesamtper-säure erhalten werden.

[0050] Die Verbindung der Erfindung kann auf wachsendem Pflanzengewebe mit unterschiedlichen Techniken appliziert werden. Die wäßrige Lösung kann gesprüht, gestrichen, beschmiert, benebelt oder auf die Pflanzen, das Hydrokultursubstrat der Pflanzen, oder den Mutterboden aufgespült oder eingespült werden. Das Material kann im Bedarfsfall periodisch reappliziert werden.

Beispiele

[0051] Alle Beispiele die ausschließlich POAA betreffen sind kein Teil der beanspruchten Erfindung.

Ausgangstest

[0052] Die hier vorgestellten Beispiele beschreiben die Behandlung eines Schneeschimmelpilzes der von einer Bergesche (*Sorbus Americana*) isoliert wurde. Die Tests bestehen aus einem unbehandelten Kontrollversuch versus einen mit Peroxyessigsäure (POAA) (C₂) und einer Peroxyessig/Peroxyoctansäure (POAA/POOA) C₂/C₈) Verbindung behandelten Pilz. Diese Tests zeigen, daß die Letztere sehr effektiv bei der Abtötung des Pilzes ist.

[0053] Dementsprechend wurden ungefähr 10 cm² des „Schneeschimmels“ von einem Zweigbereich entnommen und in drei Teile aufgeteilt; jedes wurde in Wasser gegeben. Ein Teil blieb unbehandelt. Ein Zweiter wurde mit 500 ppm Peroxyessigsäure behandelt und der Dritte wurde mit einem gemischten Persäuresystem (C₂/C₈) behandelt. Nach zwei Tagen:

1. Die Kontrollprobe war weiterhin blühend und fühlte sich sehr feucht an; mit einem großen geleeartigen Volumen an Pilz.
2. Die behandelte POAA Probe war ungefähr zur Hälfte abgestorben mit einer anscheinend toten äußeren Kruste über etwa 2/3 der Probe und einem trockenen komplett abgestorbenen Teil über dem Rest. Die 2/3 verkrustete Probe hatte weiterhin eine weiche geleeartige Masse.
3. Der mit der C₂/C₈ Peroxysäuremischung behandelte Pilz erschien komplett abgestorben und vertrocknet. Keine Geleemasse blieb zurück.

Peroxyessigsäureauswirkung auf wachsende Pflanzengewebe

[0054] Die Studie wurde auf wachsenden Pflanzengewebe mittels Besprühung vor 8 Uhr morgens durchgeführt. Der Test wurde auf gewöhnlich erkrankungsfreien Pflanzen durchgeführt, um mögliche Nebeneffekte wie Verbrennungen des Pflanzengewebes zu ermitteln. Die Daten zeigen, daß beide Persäureverbindungen gleichwirkend in der Beeinflussung des wachsenden Pflanzengewebes während der Anwendung sind; beide sind relativ inert auf den Gewebsoberflächen mit Ausnahme von Pflanzen mit großen Oberflächenbereichen wie Asparagus leaves (keine Auswirkung auf den Ansatz).

Persäure Formulierung	Dosis Per- säure (ppm) ³	Pflanzenart/ Behandlungsbereich	Beobachtete Wirkung 8 h nach Anwendung
POAA ¹	100	Amerikanische Linde untere Blätter	keine Änderungen, keine Verbren- nungen oder Gewebeschäden
POAA/POOA ²	100	Amerikanische Linde untere Blätter	keine Änderungen, keine Verbren- nungen oder Gewebeschäden
POAA ¹	100	Amerikanische Linde untere Blätter (ca. 30')	keine Änderungen, keine Verbren- nungen oder Gewebeschäden
POAA/POOA ²	100	Amerikanische Linde untere Blätter (ca. 30')	keine Änderungen, keine Verbren- nungen oder Gewebeschäden
POAA ¹	100	Jahrmarktsapfel/gesamter Baum (ca. 7')	keine Änderungen, keine Verbren- nungen oder Gewebeschäden
POAA/POOA ²	100	Jahrmarktsapfel/gesamter Baum (ca. 7')	keine Änderungen, keine Verbren- nungen oder Gewebeschäden
POAA ¹	100	Wildrosenbusch/ganz (3')	keine Änderungen, keine Verbren- nungen oder Gewebeschäden
POAA/POOA ³	100	Wildrosenbusch/ganz (2')	keine Änderungen, keine Verbren- nungen oder Gewebeschäden
POAA ¹	100	Spargel halbe Pflanze (ca. 4')	leichte Gelbfärbung, offensichtlicher Blattbrand auf behandelten Holmen
POAA/POOA ²	100	Spargel halbe Pflanze (ca. 4')	leichte Gelbfärbung, offensichtlicher Blattbrand auf behandelten Holmen
POAA ¹	100	Pixwell Stachelbeere/ halbe Pflanze (ca. 3')	keine Änderung
POAA/POOA ²	100	Pixwell Stachelbeere/ halbe Pflanze (ca. 3')	keine Änderung

1. POAA = Peroxyessigsäure (C₂)
2. POAA/POOA = Peroxyessigsäure/Peroxyoctansäure (C₂/C₈)
3. Gesamt aktive Persäure

Fortgesetzte Tests für Persäuren auf Pflanzengewebe

Persäure ^A	Dosis ppm	Pflanze/Bereich ^B	Kommentare
1	100	Linde/untere Äste	keine Auswirkung, kein Verbrennen oder Bleichen
2	100	Linde/untere Äste	keine Auswirkung, kein Verbrennen oder Bleichen
1	100	Rose/ganz	keine Auswirkung, kein Verbrennen oder Bleichen
2	100	Rose/ganz	keine Auswirkung, kein Verbrennen oder Bleichen
1	100	½ Spargelpflanze	Blattgelbfärbung und mehr Ausbleichen, beenden der Be- handlung um Pflanzentod zu ver- meiden
2	100	½ Spargelpflanze	Blattgelbfärbung und mehr Ausbleichen, beenden der Be- handlung um Pflanzentod zu ver- meiden
1	100	Speckapfel/ganz Jahrmarktsapfel/ganz	keine Auswirkung, wie oben
2	100	Jahrmarktsapfel ganz Hinweis: geänderte Anwendungs- vorschrift im Vergleich zur Vorwoche	keine Auswirkung, wie oben
1	100	Stachelbeere/halb	keine Auswirkung, wie oben
2	100	Stachelbeere/halb	keine Auswirkung, wie oben
1	100	Pontiac Kartoffelpflanze/ ganz	keine Auswirkung, wie oben
2	100	Pontiac Kartoffelpflanze/ ganz	keine Auswirkung, wie oben
1	100	Beta Weinstock ½ Stock	keine Auswirkung, wie oben
2	100	Beta Weinstock ½ Stock	keine Auswirkung, wie oben

Erhöhte Dosis Tests:			
1	300	Wilde Pflaume/ca. ½ Baum	keine Auswirkung, wie oben
2	300	Wilde Pflaume/ca. ½ Baum	keine Auswirkung, wie oben
1	300	Pontiac Kartoffelpflanze/ganz	keine Auswirkung, wie oben
2	300	Pontiac Kartoffelpflanze/ganz	keine Auswirkung, wie oben

- A. wie in vorheriger Tabelle
- B. selbe Testpflanzen und Testbereiche wie in vorherige Tabelle, wenn nicht anders gekennzeichnet

Persäure	Dosis ppm	Pflanze/Bereich	Kommentar
1	300	ca. 10' wilde Pflaume/ganz	keine Auswirkung beobachtet, kein Verbrennen oder Bleichen
2	300	ca. 8' wilde Pflaume/ganz	keine Auswirkung beobachtet, kein Verbrennen oder Bleichen
1	300	Rote Pontiac/ganz	wie oben – keine Auswirkung
2	300	Rote Pontiac/ganz	wie oben – keine Auswirkung
1	300	Stachelbeere ½	wie oben – keine Auswirkung
2	300	Stachelbeere ½	wie oben – keine Auswirkung
1	300	Bienenblasampflanze (Monarda) 10 Pflanzen	Leichte Blattgelbfärbung, abgetöteter Schneeschimmel auf allen Pflanzen (ca. 16 mit Schimmel vor der Behandlung)
2	300	Bienenbalsampflanze (Monarda) 10 Pflanzen	leichte Blattgelbfärbung, abgetöteter Schneeschimmel auf allen Pflanzen (ca. 16 mit Schimmel vor der Behandlung)
1	300	Rose / ganz	keine Auswirkung, wie oben
2	300	Rose / ganz	keine Auswirkung, wie oben
1	300	Speckapfel / ganz	keine Auswirkung, wie oben
2	300	Jahrmarktsapfel, ganz	keine Auswirkung, wie oben

Persäure	Dosis ppm	Pflanze / Bereich	Kommentare
1	300	Amerikanische Linde/Boden	keine Auswirkung, wie oben
2	300	Amerikanische Linde/Boden	keine Auswirkung, wie oben
1	300	Hagedorn (ca. 7 ¹) ganz	keine Auswirkung, wie oben
2	300	Hagedorn (ca. 8 ½ ¹) ganz	keine Auswirkung, wie oben
1	300	Betterboy Tomate / ganz	keine Auswirkung, wie oben
2	300	Betterboy Tomate / ganz	keine Auswirkung, wie oben
1	300	Beta Traube / ½ Stock (10')	keine Auswirkung, wie oben
1	300	Beta Traube / ½ Stock (10')	keine Auswirkung, wie oben

Arbeitsbeispiele

Arbeitsbeispiel 1:

Minimale Inhibitionskonzentration von Peressigsäure vs. gemischte Persäureverbindung gegen Botrytis cinera Pflanzenpathogene

[0055] Dieses Beispiel vergleicht die Auswirkung des Standes der Technik unter Verwendung von Peressigsäure (POAA) vs. der kombinierten Persäureformulierung der vorliegenden Erfindung. Das Ziel ist die Bestimmung der minimalen Inhibitionskonzentration gegen den Botrytis cinera ATCC 11542 Pflanzenpathogenorganismus.

[0056] Botrytis cinera Kulturen wurden hergestellt durch Animpfung der Mitte von 10 Sabouraud Dextrose Agar gefüllten Schalen und Inkubation bei 26°–30° C für 15 Tage. Die Mycilmatten wurden durch Zugabe von 10 mL sterilem Wasser und unter Verwendung eines sterilen Spatels zum Abkratzen des mikrobischen Gewächses von der Agaroberfläche entfernt. Die Suspension wurde in eine Gewebemühle überführt und mit 10–25 mL sterilem Wasser aufgeschossen, anschließend durch ein Käsetuch filtriert und in einer Glasflasche bei 4°C bis zum Testzeitpunkt gelagert.

[0057] Produktionslösungen wurden in Sabouraud Dextrose Brüher mit POAA Prozenten eingestellt um eine Teile pro Millionenkonzentration von 30, 45, 60, 75, 150 und 300 zu erhalten. Die Lösungen wurden mit 0,5 mL der hergestellten Kultursuspension angeimpft und bei 26°–30° C für 15 Tage inkubiert um das Wachstum zu beobachten. Ein Reagenzglas der Sabouraud Dextrosebrühe wurde als positive Wachstumskontrolle für jede Kultur und ein Reagenzgläschen zur Kontrolle der Sterilität der Brühe verwendet.

[0058] Tabelle 1 vergleicht die minimalen Inhibitionskonzentration (der niedrigste Persäurespiegel der hinreichend ist um kein Wachstum in den Pflanzenpathogenen zu ermöglichen) der gemischten Persäureverbindung (Linie 1) und der der einzelnen Persäure (Linien 2) zur Reduktion von gewöhnlichen Pflanzenpathogenen. Das Ergebnis zeigt die fünffach verbesserten Effektivitätsergebnisse der gemischten Persäureverbindung zur Reduktion von Botrytis cinera ATCC 11542 (siehe Linien 1 und 2); d. h., die minimale Inhibitionskonzentration zur Kontrolle von Botrytis cinera ist 60 ppm Persäure mit der vorliegenden Formulierung, während 300 ppm Persäure im Stand der Technik benötigt werden.

[0059]

Tabelle 1

Minimale Inhibitionskonzentration von Peressigäsure vs. einer neuen gemischten Persäureverbindung gegen Botytis cinera Pflanzenpathogene

Minimale Inhibitionskonzentration								
Lauf #	Persäure Test	Organismus	30 (ppm)	45 (ppm)	60 (ppm)	75 (ppm)	150 (ppm)	300 (ppm)
bekannte Art								
	gemischte Persäure Formulierungen (POAA/POOA) ₁	Botrytis cinera	+	+	-	-	-	-
Stand der Technik								
	Stand der Technik (POAA) ³	Botrytis cinera	+	+	+	+	+	-

(-) = kein Wachstum, (+) = Wachstum

1 POAA/POOA = Peroxyessigsäure/Peroxyoctansäure

2 Stand der Technik gezeigt in GB 2187958A.

3 POAA = Peroxyessigsäure

Arbeitsbeispiel 2:

Vergleichende Persäurebehandlung von einem Substrat gegenüber Alfalfa Sprossen zur Mikrobenkontrolle während des Wachstums auf Hydrokulturen

[0060] Die Aufgabe dieses Beispiels war es die Anwendung einer einzelnen Persäure gegenüber der Anwendung von gemischten Persäuren zur Reduktion von Mikroben während des hydrokulturellen Wachstums von Alfalfa Sprossen zu vergleichen. Anhaltendes Interesse besteht in der Industrie an der Kontrolle von Mikrobenpopulationen; insbesondere von Mensch und Pflanzenpathogenen, aber auch von Nahrungslösungsschimmeln und Pilzen. Der folgende Test wurde ausgeführt um eine mögliche Mikrobenkontrolle während des hydrokulturellen Wachstumszyklus zu bestimmen.

[0061] Tabelle 2 vergleicht die Ergebnisse bei der Anwendung der kontinuierlichen hydrokulturellen Behandlungstechnik gemäß der vorliegenden Erfindung im Vergleich zu US 5,168,655, in welcher Peressigsäure zur Desinfektion von hydrokulturellen Substraten eingesetzt wird; d. h. wesentliche (>5-log) Mikrobenreduktion wurden bei anhaltender Behandlung mit Persäure im Gegensatz zu im wesentlichen keiner Reduktion bei der alleinigen Behandlung des Substrats beim hydrokulturellen Wachstum gefunden.

Tabelle 2

Peressigsäure (POAA) und Peressigsäure – Peroctansäure (POAA-POOA) Behandlungen von Alfalfa Sprossen in Vergleich zwischen dem Stand der Technik und der vorliegenden Erfindung.

Aerobe Platten Zählergebnis

	1	2	3	4	5	6
	Mikroben Reduktion					
Persäure Behandlungsbedingungen	Persäurekonzentration (ppm)	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	
Kontrollstudie						

	1	2	3	4	5	6
	Mikroben Reduktion					
	Persäure Behandlungsbedingungen	Persäurekonzentration (ppm)	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4
1	Wasserkontrolle (keine Persäurebehandlung) ²	0	0	0	0	0
	Beispiele der vorliegenden Erfindung					
6	POAA-POOA Behandlung ³	40 ppm	1.5	<0.1	keine Reduktion	keine Reduktion
7		80 ppm	1.8	1.9	0.5	0.2
8		160 ppm	1.9	5.4	3.1	2.9
9		320 ppm	1.6	5.9	5.0	2.5
	Beispiele für den Stand der Technik					
9	POAA Behandelte Substrate ⁴	40 ppm	<0.5	keine	keine	keine
10		80 ppm	<0.5	Reduktion	Reduktion	Reduktion
11		160 ppm	<0.5	bei	bei	bei
		320 ppm	<0.5	irgendeinem Spiegel	irgendeine m Spiele	irgendeinem Spiegel

¹⁾ Mikrobenreduktion gegenüber der Wasserkontrollstudie ohne eine Art von Persäurebehandlung

²⁾ Die Wasserkontrolle wurde als Hintergrundbasis für die Behandlungseffizienz Log-Reduktion für jeden Behandlungstag genutzt. Typische log-Zählungen von 1×10^4 wurden gefunden.

³⁾ POAA-POOA = Peroxyessigsäure aus einer Gleichgewichtszusammensetzung nach der Methode der Patentanmeldung US 5,168,655.

⁴⁾ POAA = Peroxyessigsäure = Peroxyoctansäure einer Gleichgewichtszusammensetzung nach der Methode der vorliegenden Erfindung.

Arbeitsbeispiel 3:

POAA und POAA-POOA Behandlung von Alfalfa Sprossen mit unterschiedlichen Konzentrationen von Persäuren

[0062] Die Aufgabe dieses Beispiels ist die Bestimmung der Mikrobenreduktion bei Anwendung von Persäurebenebelung während des täglichen Wachstums von Alfalfa Sprossen auf Hydrokulturen; gegenüber der natürlichen Bakterienflora. Kommerziell werden Bohnen und Alfalfa Sprossen durch über Kopfbenebelung von Samenplatten für 3 bis 5 Tage gezüchtet. Die Sprossen werden geerntet und der Samenabfall entsorgt. Ein anhaltendes Bestreben der Industrie ist die Kontrolle der Mikrobenpopulation; insbesondere Mensch und Pflanzenpathogene, aber auch Nährlösungsschimmel und Pilze. Der Test wurde zur Bestimmung der möglichen Mikrobenkontrolle während des hydrokulturellen Wachstumszyklus durchgeführt. Alfalfa Sprossen wurden in unterschiedlichen Konzentrationen in Gleichgewicht befindlicher Essigsäure (POAA) oder Peressigsäure-Peroctansäure POAA-POOA Lösungen getaucht. Eine Probe wurde zur Kontrolle in Wasser getaucht. Am nächsten Morgen wurden die Alfalfa Sprossen auf sterilen Petrischalen durch gleichmäßiges Verteilen der Samen auf dem Boden der Schale aufgebracht. Die Petrischalen wurden mit einer Käseglocke für den Wachstumsvorgang abgedeckt.

[0063] Während des Wachstums (1 bis 4 Tage) wurden die Alfafasamen zweimal täglich um 8 Uhr morgens und 4.45 nachmittags mit 10 ml der gleichen Konzentration von Persäure benebelt, in welche sie getaucht werden. Die Wasserkontrollprobe wurde mit Wasser benebelt. Mikrobenproben wurden um 8 Uhr morgens an je-

dem der vier Behandlungstage genommen. Eine 1:10 Gew.-% Mischung von Sprossen und Wasser wurde zerkleinert und auf TGE Agar Kulturwachstumsmedien gegeben, wobei eine Reinplattentechnik mit Phosphat gepufferten Verdünnungen von 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} eingesetzt wurde. Nach 48 Stunden bei 35°C wurde das Mikroergebnis bestimmt und ist in Tabelle 3 dargestellt:

Die Ergebnisse von Tabelle 3 demonstrieren die Fähigkeit die Mikrobenpopulation während des hydrokulturellen Wachstums von Pflanzengewebe mittels kontinuierlicher Persäureaufbringung zu kontrollieren. Im Unterschied zu US 5,168,655, welche Peressigsäure als Desinfektionsmittel für Hydrokultursubstrate vor einem Kornproduktionszyklus verwendet, zeigen die mikrobischen Persäuren der vorliegenden Erfindung die neue Möglichkeit Persäuren zur kontinuierlichen Mikrobenkontrolle während des gesamten hydrokulturellen Wachstumszyklus einzusetzen, ohne Verlust an Kornausbeute (siehe Beispiele 4 und 5). Die Daten zeigen gleichfalls die Notwendigkeit die Behandlungsdosis zur Verbesserung der Mikrobenreduktion nahe dem Ende des hydrokulturellen Wachstumszyklus zu erhöhen. Diese Hypothese ist in Beispiel 3 getestet worden.

Tabelle 3

Peressigsäure (POAA) und Peressigsäure-Peroctonsäure (POAA-POOA) Behandlungen von Alfalfa Sprossen unter Verwendung variabler Behandlungskonzentrationen

Aerobe Platten Zählergebnisse

	1	2	3	4	5	6
		Mikrobenreduktion				
	Persäure Behandlungsbe- dingungen	Persäurekonzentration (ppm)	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4
1	Wasserkontrolle (keine Persäurebehandlung) ^a	0	0	0	0	0
2	POAA behandelt ^b	40 ppm	0.4	0.1	keine Reduktion	keine Reduktion
3		80 ppm	1.7	0.5	0.2	0.1
4		160 ppm	1.9	2.2	0.4	0.2
5		320 ppm	1.7	4.7	4.2	0.3
6	POAA-POOA behandelt ^c	40 ppm	1.5	<0.1	keine Reduktion	keine Reduktion
7		80 ppm	1.8	1.9	0.5	0.2
8		160 ppm	1.9	5.4	3.1	2.9
9		320 ppm	1.6	5.9	5.0	2.5

^a) Die Wasserkontrolle wurde als Hintergrundbasis für die behandlungseffiziente Log-Reduktion für jeden Tag genutzt. Typischer Weise 10^9 cfu/ml.

^b) POAA = Peroxyessigsäure aus einer Gleichgewichtszusammensetzung.

^c) POAA-POOA = Peroxyessigsäure – Peroxyoctonsäure aus einer Gleichgewichtszusammensetzung

Arbeitsbeispiel 4:

POAA und POAA-POOA Behandlung von Alfalfa Sprossen mit alternativen Benebelungsverfahren

[0064] Die Aufgabe dieses Beispiels war die Bestimmung der Mikrobenreduktion bei Anwendung kontinuierlicher (stündlicher) Persäurebenebelungsverfahren während des täglichen hydrokulturellen Wachstums von

Alfalfa Sprossen; gegen die natürliche Bakterienflora. Dies sollte ein niedrigeres Dosierungsprofil für Persäuren erlauben. Gemäß der vorherigen Mikrobentechnik wurden die Alfalfa Sprossen in 80 ppm POAA oder POAA-POOA Lösungen getaucht. Eine Probe wurde in Wasser als Kontrolle getaucht. Am nächsten Morgen wurden die Alfalfa Sprossen in eine sterile Petrischale durch gleichmäßige Verteilung der Samen auf dem Boden der Schale gegeben. Die Petrischalen wurden für den Wachstumsvorgang mit einer Käseglocke abgedeckt.

[0065] Während des Wachstums (1 bis 4 Tage) wurden die Alfalfasamen von 8 Uhr morgens bis 3 Uhr nachmittags auf stündlicher Basis mit 10 ml derselben Konzentration an Persäure benebelt, in welche sie getaucht wurden. Die Wasserkontrollprobe wurde mit Wasser benebelt. Mikrobenproben wurden um 4 Uhr nachmittags an allen vier Behandlungstagen entnommen.

[0066] Das Ergebnis von Tabelle 4 zeigt die verbesserte Wirksamkeit von: Verwendung eines kontinuierlichen Dosierungssystems und Anwendung eines gemischten Persäuresystems zur Mikrobenkontrolle während des hydrokulturellen Wachstums auf Pflanzengewebe. Während Peressigsäure eine anfängliche (Tag 1–2) Mikrobenreduktion Ggengsatz zur Kontrolle (siehe Experiment 1, 2) erzeugt, versagt es nach dem zweiten Wachstumstag. Im Gegensatz dazu ermöglicht das gemischte Peressigsäure-Peroctansäure (POAA-POOA) System eine kontinuierliche Mikrobenkontrolle (>20 Log) über den kompletten Sprossenwachstumszeitraum (Experiment 3). Für all diese Experimente war die Keimzahl der Samen größer 95%.

Tabelle 4

Peressigsäure (POAA) und Peressigsäure-Peroctonsäure (POAA-POOA) Behandlungen von Alfalfa Sprossen unter Verwendung einer 7 Stunden pro Tag Benebelungsmethode

Aerobe Platten Zählergebnisse

		1	2	3	4	5	6	7	8
		Tag 1		Tag 2		Tag 3		Tag 4	
	Probenidentifikation	CFU/ml	LogR ²	CFU/ml	LogR ²	CFU/ml	LogR ²	CFU/ml	LogR ²
1	Wasserkontrolle	2.0×10^8	0 ^b	1.1×10^9	0 ^b	7.8×10^8	0 ^b	2.1×10^9	
2	Peressigsäure (POAA) 80 ppm	2.5×10^6	1.9	3.1×10^8	0.6	8.7×10^8	no red ^c	2.1×10^9	no red
3	Peressigsäure – Peroctansäure (POAA-POOA) 80 ppm	4.0×10^4	3.7	8.0×10^6	2.1	6.5×10^6	2.1	1.3×10^7	2.2

a) Log R = log Reduktion

b) Die Wasserkontrolle wurde als Hintergrundbasis für die behandlungseffiziente Reduktion genutzt.

c) no red - keine Reduktion der Mikrobenbelastung im Fehlerrahmen der Tests.

Arbeitsbeispiel 5:

POAA und POAA-POOA kontinuierliche Benebelungsbehandlung von Alfalfa Sprossen

[0067] Die Aufgabe dieses Beispiels war die Bestimmung der Mikrobenreduktion bei Anwendung eines kontinuierlichen (stündlich über 24 Stunden) Persäurebenebelungsverfahrens während des täglichen hydrokulturellen Wachstums von Alfalfa Sprossen; gegen die natürliche Bakterienflora.

[0068] Gemäß der zuvor genannten Mikrobentechnik wurden die Alfalfa Sprossen in 80 ppm POAA oder POAA-POOA Lösungen getaucht. Ein Beispiel wurde in Wasser zur Kontrolle getaucht. Am nächsten Morgen wurden die Alfalfa Sprossen in sterile Petrischalen durch gleichmäßige Verteilung der Samen auf dem Boden der Schale gegeben. Die Petrischalen wurden für das Wachstum mit einer Käseglocke abgedeckt.

[0069] Während des Wachstums (1 bis 4 Tage) wurden die Alfalfasamen auf stündlicher Basis (über die gesamten 24 Stunden des Tages) durch Benebelung mit 10 ml derselben Konzentration von Persäure in die sie getaucht wurden behandelt. Die Wasserkontrollprobe wurde mit Wasser benebelt. Mikrobenproben wurden um 4 Uhr nachmittags an jeden der vier Behandlungstage genommen.

[0070] Die Ergebnisse in Tabelle 5 zeigen das unerwartete Ergebnis, daß kontinuierliche 24 Stunden pro Tag Benebelung keine Verbesserung gegenüber der vorherigen Beispiele mit 7 Mal täglicher Persäurebehandlung am letzten Wachstumstag bezüglich der Effizienz der Mikrobenkontrolle für beide Persäuresysteme während der hydrokulturellen Produktion von Pflanzengewebe zeigt (siehe Tabelle 4, Experimente 2, 3 vs. Tabelle 5 Experiment 2, 3). Zusätzlich sank die Keimrate dramatisch (<50%) in allen 24 Stunden pro Tag Studien in Vergleich zu Beispiel 3.

Tabelle 5

Peressigsäure (POAA) und Peressigsäure-Peroctonsäure (POAA-POOA) Behandlungen von Alfalfa Sprossen unter Verwendung einer 24 Stunden pro Tag Benebelungsmethode

Aerobe Platten Zählerergebnisse

		1	2	3
		Tag 4 Ergebnisse		
	Probenidentifikation	Mikrobene CFU/mL	Log R ²	Keimrate ^b
1	Wasserkontrolle	1.0 x 10 ⁸	0 ^b	<50%
2	Peressigsäure (POAA) 80 ppm	6.0 x 10	0.2	<50%
3	Peressigsäure – Peroctansäure (POAA-POOA) 80 ppm	3.5 x 10 ⁶	1.9	<40%

^{a)} Log R = log Reduktion

^{b)} Eine visuelle Bestimmung in Prozent von wachsenden Samen gegenüber nicht gekeimten Samen

^{c)} Die Wasserkontrolle wurde als Hintergrundbasis zur Bestimmung der behandlungseffizienten Log Reduktion genutzt.

Arbeitsbeispiel 6:

Keimraten von Alfalfa Sprossen bei täglicher POAA und POAA-POAA Benebelung

[0071] Die Aufgabe dieses Beispiels war die Bestimmung der Keimrate für unterschiedliche Persäureanwendungen während des hydrokulturellen Wachstumszyklus von Alfalfa Sprossen.

[0072] Gemäß der vorherigen Mikrobentechnik wurden die Alfalfa Sprossen in 80 ppm POAA oder POAA-POOA Lösungen getaucht. Eine Probe wurde zur Kontrolle in Wasser getaucht. Am folgenden Morgen wurden die Alfalfa Sprossen in sterile Petrischalen durch gleichmäßige Verteilung der Samen auf dem Boden der Schale gegeben. Die Petrischalen wurden für das Wachstum mit einer Käseglocke bedeckt.

[0073] Während des Wachstums (Tage 1 bis 4) wurden die Alfalfa Sprossen mit unterschiedlichen Anwendungszeiten gemäß der Beispiele 2 bis 4 mit jeweils 10 ml derselben Konzentration an Persäure benebelt, in die sie getaucht wurden. Die Wasserkontrollprobe wurde mit Wasser benebelt. Nach vier Tagen wurde die Keimrate visuell bestimmt.

[0074] Die Ergebnisse in Tabelle 6 zeigen: Eine sorgfältige Auswahl der Anwendungsrate und Persäurezusammensetzung ist sowohl für die verbesserte Mikrobenreduktion als auch für die verbesserte hydrokulturelle Samenkeimung notwendig. Sowohl obere als auch untere Anwendungsgrenzen wurden gefunden.

Tabelle 6

Peressigsäure (POAA) und Peressigsäure-Peroctansäure (POAA-POOA) Behandlungen von Alfalfa Sprossen unter Verwendung variabler Behandlungsraten

Aerobe Platten Zählergebnisse

		1	2	3
	Persäure Behandlungsraten	Tag 4	Mikroben- und	Keimergebnisse
		(Log Reduktion und %) ^a		
		2 Behandlungen pro Tag	7 Behandlungen pro Tag	24 Behandlungen pro Tag
1	POAA behandelt, Log Reduktion ^b	0	0	0.2
2	POAA-POOA behandelt, Log Reduktion ^b	< 0.1	2.2	1.9
3	POAA behandelt, Keimung ^c	>95%	>95%	<50%
4	POAA-POOA behandelt, Keimung ^c	>95%	>95%	<80%

a) Die Wasserkontrollprobe wurde als Hintergrundbasis für die behandlungseffiziente LOG Reduktion am Ende des Behandlungszykluses genutzt.

b) Log Reduktion gegenüber Wasserkontrolle.

c) Prozentkeimung gemäß visueller Bestimmung in Prozent nicht gekeimter Samen.

Arbeitsbeispiel 7:

Hydrokulturelle POAA und POAA-POOA Behandlungen von Alfalfa Sprossen mit einer Vordosierungsbenebelungsmethode

[0075] Die Aufgabe dieses Beispiels war die Bestimmung der Mikrobenreduktion bei Anwendung einer Vordosierung von Persäure(en), gefolgt von anschließender nur Wasserbenebelung während des täglichen hydrokulturellen Wachstums von Alfalfa Sprossen; gegenüber der natürlichen Bakterienflora. Dies wiederum erlaubt ein geringeres Gesamtdosierprofil an Persäuren.

[0076] Unter Anwendung der vorherigen Mikrobentechnik wurden die Alfalfa Sprossen für 16 Stunden in 80 ppm POAA oder POAA-POOA Lösungen getaucht. Eine Probe wurde zur Kontrolle in Wasser getaucht. Am nächsten Morgen wurden die Alfalfa Sprossen in sterile Petrischalen durch gleichmäßige Verteilung der Samen auf den Boden der Schale gegeben. Die Petrischalen wurden für das Wachstum mit einer Käseglocke abgedeckt.

[0077] Während des Wachstums (Tage 1 bis 4) wurden die Alfalfa Sprossen von 8 Uhr morgens bis 3.00 Uhr nachmittags auf stündlicher Basis mit ausschließlich Wasser benebelt. (keine Persäuren in diesem nachfolgenden hydrokulturellen Wachstumszyklus). Gleichfalls wurde die Wasserkontrollprobe mit Wasser benebelt. Mikrobenproben wurden um 4 Uhr nachmittags an jedem der vier Behandlungstage genommen.

[0078] Das Ergebnis in Tabelle 7 zeigt, daß die Persäuresysteme einen anhaltenden antimikrobischen Effekt über den kompletten hydrokulturellen Wachstumszyklus zeigen. Überraschender Weise führten die gemischten Persäuresysteme zu viel höheren Effizienzen im Vergleich zu ausschließlichen Peressigsäureformulierungen.

gen; d. h. während Peressigsäure anfänglich (Tag 1) die Mikroben gegenüber der Kontrollprobe reduzieren kann ($> 1\text{-log}$) (siehe Experiment 1, 2), versagte sie am zweiten Wachstumstag. Dem hingegen führt das gemischte Peressigsäure-Peroctansäuresystem (POAA-POOA) zu einer kontinuierlichen Mikrobenkontrolle ($> 2\text{-log}$) über den gesamten Wachstumszeitraum der Sprossen (Experiment 3) auch wenn die wachsenden Samen nur mit der Persäureformulierung geimpft wurden. Für alle Experimente zeigte sich eine Keimungsrate der Samen größer 95%.

Tabelle 7

Peressigsäure (POAA) und Peressigsäure-Peroctansäure (POAA-POOA) Behandlungen von Alfalfa Sprossen unter Verwendung einer Einzelnebelmethode

Aerobe Platten Zählergebnisse

		1	2	3	4	5	6	7	8
		Tag 1		Tag 2		Tag 3		Tag 4	
	Proben-identifikation	CFU/ml	Log R ²	CFU/ml	Log R ²	CFU/ml	Log R ²	CFU/ml	R ²
1	Wasser-kontrolle	2.0×10^6	0 ^b	7.0×10^6	0 ^b	5.8×10^8	0 ^b	5.2×10^8	0 ^b
2	Peressig-säure (POAA) 80 ppm	9.4×10^4	1.3	1.8×10^6	0.6	2.9×10^8	0.3	3.9×10^8	0.1
3	Peressig-säure-Perocton-säure	1.8×10^4	2.1	8.0×10^3	2.9	1.0×10^6	2.8	5.0×10^5	2

Patentansprüche

1. Verfahren zur Anpflanzung von mindestens einer Pflanze auf einem Hydrokultursubstrat in einem Hydrokulturflüssigkeit bereitstellenden Medium zur Produktion von Nutzfrüchten oder Gemüseprodukten mit reduzierter mikrobieller Verunreinigung, aufweisend:

- Herstellen von wachsenden und lebenden Pflanzengewebe in einem Hydrokultursubstrat;
- Kontaktieren des lebenden Pflanzengewebes, des Hydrokultursubstrates und der Hydrokulturflüssigkeit mit einer verdünnten wässrigen Lösung, aufweisend wenigstens 4 ppm einer C₂-C₄ Percarbonsäure und mindestens 1 ppm einer aliphatischen C₈-C₁₂ Percarbonsäure; und
- Ernten eines verbesserten Produktes.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Percarbonsäure Peressigsäure aufweist.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die wässrige Lösung etwa vier bis 100 ppm einer C₂-C₄ Percarbonsäure und etwa 1 bis etwa 100 ppm einer aliphatischen C₈-C₁₂ Percarbonsäure aufweist.

4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3, wobei die wässrige Lösung eine Mischung von Peroxiessigsäure und Peroxioktansäure aufweist.
5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, wobei das lebende Gewebe einen keimenden Samen einschließt.
6. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, wobei das lebende Gewebe eine wachsende Knolle einschließt.
7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, wobei das Pflanzengewebe ein wachsendes Dikotyledon einschließt.
8. Verfahren nach Ansprüchen 1 bis 6, wobei das Pflanzengewebe eine wachsende monokotyledonische Pflanze einschließt.
9. Verfahren nach Ansprüchen 1 bis 4, wobei das lebende Gewebe einen Pflanzensteckling einschließt.
10. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, wobei das Pflanzengewebe einen Wurzelstock und einen Sprössling einschließt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen