

AÑO

Expediente núm. \_\_\_\_\_

241765



PUBLICADA 1-1-59  
art. 291

# REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

**PATENTE DE** 1er. CERTIFICADO DE ADICION

## MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de

una **PATENTE DE** 1er. Cert. Adic por \_\_\_\_\_ años, en España

a favor de

R.T. VANDERBILT COMPANY, INC. \_\_\_\_\_, de nacionalidad  
norteamericana domiciliado en 230 Park Avenue, Nueva York,  
ciudad de N.Y., Estados Unidos de América. ~~NY~~

por:

MEJORAS INTRODUCIDAS EN EL OBJETO DE LA PATENTE PRINCIPAL  
Nº 232.079, por: "UN METODO DE CONSERVACION DE UN MATERIAL  
SOMETIDO NORMALMENTE AL ATAQUE DE LOS HONGOS Y BACTERIAS"

Nº 7713

Agente Sr. ELZABURU

241765

241765

241765

P.- 16.942.-

File F 15846.-

16 AGO. 1958



241765

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

e n

E S P A Ñ A

1er. CERTIFICADO DE ADICION

a nombre de R.T. VANDERBILT COMPANY, INC., entidad norteamericana, establecida en 230 Park Avenue, Nueva York, N.Y., Estados Unidos de América, por:

"MEJORAS INTRODUCIDAS EN EL OBJETO DE LA PATENTE PRINCIPAL NUMERO 232.079, expedida el 1 de Marzo de 1957, por: "Un método de conservación de un material sometido normalmente al ataque de los hongos y bacterias".-

---

La invención se refiere a nuevos compuestos y composiciones fungicidas y bactericidas, y a un método para su aplicación.

5 Un cierto número de pesticidas que actúan principalmente en fase vapor, tales como formaldehído, bromuro de metilo, bromo, dicloruro de etileno, paradiclorobenceno, tricloruro de nitrógeno, difenilo y cloropicrina, se han utilizado para diferentes fines de conservación, y son útiles y valiosos para combatir mohos y bacterias. La invención presente proporciona a la

16 A



241765

técnica un nuevo medio por el cual pueden reprimirse de modo efectivo los hongos y bacterias por medio de un tratamiento o proceso que actúa muy frecuentemente en la fase vapor. La presente invención puede usarse también en la fumigación de suelos para matar bacterias, hongos y nematodos.

De acuerdo con la invención presente, los esteres de ácidos nitroso alquilcarbámicos comprendidos dentro del alcance de la fórmula  $R'-N(NO)-COOR$ , en donde R es un radical alifático o cicloalifático que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, de 0 a 1 átomo de cloro y de 0 a 1 átomo de oxígeno, y R' es un radical alifático o cicloalifático que tiene 1-6 átomos de carbono, de 0 a 1 átomo de cloro y 0 a 1 átomo de oxígeno, o mezclas de tales compuestos, proporcionan un nuevo y eficaz medio para controlar hongos y bacterias. Tales compuestos que contienen un sólo átomo de cloro en los grupos R y/o R' pueden ser, por ejemplo, radicales monocloroalquilo; mientras que los compuestos que contienen un sólo átomo de oxígeno en los grupos R y/o R' pueden ser, por ejemplo radicales monohidroalquilo o monometoxialquilo, según se ilustra específicamente más adelante.

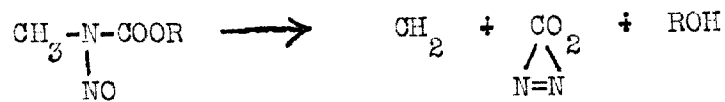
De los compuestos comprendidos dentro de los límites de la fórmula genérica que acaba de citarse, hemos encontrado que los compuestos en los que R' es metilo y R es butilo, amilo normal o hexilo normal, es decir n-butil o isobutil nitrosometil carbamato, n-amil nitrosometilcarbamato y n-hexil nitrosometilcarbamato, respectivamente, son extraordinarios\* desde el punto de vista de su eficacia o actividad elevada en muchas aplicaciones. Así, por ejemplo, aquellos compuestos que hasta ahora no se han obtenido, según nuestras informaciones, presentan una actividad que se aproxima a la de los compuestos mercuriales, que figuran entre los fungicidas y bactericidas de mayor actividad conocidos en



241765

la técnica.

La actividad pesticida de los compuestos puede relacionarse con la hidrólisis conocida en medios alcalinos de dichos compuestos para formar derivados diazometano, que son materiales tóxicos, por la siguiente reacción:



Por el mecanismo descrito, el compuesto  $\text{C}_3\text{H}_7 - \text{N} - \text{COOR}$  y los otros compuestos producirían, probablemente, derivados análogos.

Los compuestos químicos empleados de acuerdo con la invención no son, en general, nuevos. Algunos de ellos se han preparado anteriormente y el resto puede prepararse utilizando procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede prepararse nitrosometilcarbamato de metilo del modo siguiente:

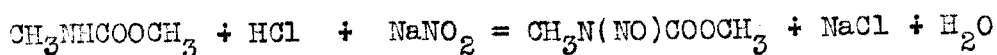
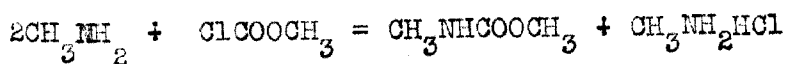
Se prepara primero una solución acuosa que contiene dos moles de metilamina y, sobre esta solución se agrega gradualmente, con buena agitación, un mol de clorocarbonato de metilo (cloroforniato de metilo). La solución contiene ahora un mol del compuesto  $\text{CH}_3\text{NHCOOCH}_3$ , ester metílico del ácido metilcarbámico, y un mol de clorhidrato de metilamina. La siguiente operación consiste en convertir el ester metílico del ácido metil carbámico en nitrosometilcarbamato de metilo. Esto se hace añadiendo un mol de ácido clorhídrico, o medio mol de ácido sulfúrico, y añadiendo luego lentamente un mol de nitrito sódico acuoso, manteniendo la mezcla fría. El nitrosometilcarbamato de metilo se separa de la solución en forma de un aceite y sedimenta en el fondo de la



1958

241765

vasija de reacción, de donde puede sacarse directamente, El pro-  
ducto puede secarse dejándolo en reposo en contacto con un ma-  
terial desecador, por ejemplo, sulfato magnésico anhidro, o el  
aceite puede destilarse y obtenerse incoloro. Las reacciones que  
5 tienen lugar son las siguientes:



El ester butílico normal del ácido nitrosometil carbá-  
mico puede prepararse así: se mezclan 124 gramos de una solución  
10 acuosa al 25 % en peso de monometilamina, con 100 ml. de agua  
y la mezcla se coloca luego en un baño de hielo. Mientras se  
agita y se enfría bien, se van añadiendo gradualmente 68,29 gra-  
mos de clorocarbonato de butilo normal. Posteriormente, se aña-  
den lentamente 45 cc. de ácido clorhídrico al 37 % en peso (áci-  
15 do clorhídrico concentrado comercial), después de lo cual se adi-  
ciona una solución acuosa de 35 gramos de nitrito sódico disuel-  
tos en 75 ml. de agua. El producto se separa en forma de aceite  
de color rosa y se recoge y se seca con sulfato magnésico. Pue-  
den prepararse otros esteres del ácido alquilnitrosocarbámico ha-  
20 ciendo reaccionar los correspondientes clorocarbamatos de alqui-  
lo y monoalquil amina, y nitrosando el producto de reacción de am-  
bos.

Estos productos químicos proporcionan un medio nuevo y  
eficaz para esterilizar superficies, por ejemplo, colocando sen-  
25 cillamente los materiales que se quieren esterilizar en una at-  
mósfera en la cual se deja vaporizar una pequeña cantidad del pro-  
ducto químico o mezcla de productos químicos. Los productos quí-  
micos pueden utilizarse de diferentes maneras según se han utili-  
zado hasta ahora los pesticidas en la técnica, por ejemplo, en  
30 forma de aerosoles, papel impregnado, polvos impregnados, solu-

16 A



241765

ción en diversos disolventes, etc., con el fin de proporcionar un medio ambiente en el que estén presentes los productos químicos.

5 Otro uso ventajoso de los compuestos descritos es el tratamiento del suelo para matar no solamente bacterias y hongos, sino también nematodos o lombrices que han causado recientemente graves trastornos en muchas granjas. Los compuestos pueden inyectarse en la superficie del suelo y distribuirse por la misma en solución en un disolvente orgánico, o soportarse en un  
10 tipo conocido de vehículo pulverulento. Aunque no se vaporizan en la atmósfera en el sentido ordinario de la palabra cuando actúan sobre el suelo, puede suceder que los compuestos sí pasen a la fase vapor y de este modo ejerzan su acción en dicha forma.

15 Los siguientes ejemplos ilustran la práctica de la invención.

#### EJEMPLO I

Para el ensayo de varios compuestos empleados dentro del alcance de la invención, para apreciar la actividad fungicida y bactericida, se utilizó el siguiente procedimiento. Se colocaron  
20 sobre papel de filtro cantidades medidas de una solución acetónica del compuesto, en la parte superior de una placa Petri. La acetona se dejó luego evaporar, produciéndose la evaporación en varios minutos. Se vertió agar Mycophil en el fondo de la placa Petri, y después de endurecer, se inoculó el agar. El fondo de  
25 la placa Petri se invirtió después de manera que el agar inoculado estuviera directamente encima del papel de filtro que contenía el tóxico, sin que el papel de filtro tocara al agar. Las placas se incubaron luego en esta posición durante 96 horas a  $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . y se observaron. La tabla I que se da a continuación explica los  
30 resultados obtenidos empleando este procedimiento de ensayo:

T A B L A I.

CH <sub>3</sub> N(NO)COOR	Ppm bactericidas necesarios para matar <u>B. subtilis M. aureus E. coli</u>		Ppm bacteriocstáticos necesarios para prevenir el des- arrollo. <u>B. subtilis M. aureus E. coli</u>		Fungi- da A. niger	Fungis- tático A. niger
	+ 85	42	+ 85	42		
R = metilo	+ 85	42	+ 85	42	8,5 (x)	8.5
R = etilo	42	8.5	42	8.5	8.5	4.2
R = 2-cloroetilo	+ 42	+ 42	42	8.5	8.5	4.2
R = propilo normal	+ 85	85	85	85	42	4.2
R = butilo normal	4.2	0.85	42	4.2	4.2 (x)	0.8
R = isobutilo	+ 85	4.2	85	+ 85	42	4.2
R = amilo normal	85	8.5	8.5	42	0.8 (x)	0.8
R = hexilo normal	42	42	4.2	8.5	8.5	4.2

! 6 !

241765

16



15 AGO.  
241765



En la tabla anterior, el asterisco indica contaminación bacterial. Las partes por millón son partes por millón de compuesto en fase vapor, según se determina por la cantidad de compuesto empleada y el volumen de la placa Petri.

5

EJEMPLO II

En este ensayo, se colocaron 100 gramos de semilla de trigo en un tarro y se añadieron varias cantidades de compuesto. Al añadirle, el compuesto estaba en forma de polvo, es decir el compuesto estaba mezclado con arcilla en una relación ponderal de 6:94. Luego se volteaba el tarro durante 15 minutos después de lo cual se colocaban las semillas sobre agar Lycophil y se observaban las pruebas evidentes de desarrollo de microorganismos. La tabla II que se da a continuación reproduce los resultados obtenidos al realizar este ensayo.

10

15

TABLA II.

Gramos de polvo que contiene nitroso metilcarbamato de butilo normal	% de semillas que muestran desarrollo de:	
	Bacterias	Hongos
10	0	0
5	0	0
2,5	0	0
1	4,5	0
0,1	22	0

Gramos de polvo que contiene nitroso metilcarbamato de amino normal	% de semillas que muestran desarrollo de:	
	Bacterias	Hongos
10	0	0
5	0	0
2,5	0	0
1	0	0
0,1	41	0



241765

Gramos de polvo que contiene nitroso metilcarbamato de hexilo normal

% de semillas que muestran desarrollo de:  
Bacterias                      Hongos

Gramos de polvo que contiene nitroso metilcarbamato de hexilo normal	% de semillas que muestran desarrollo de: Bacterias	Hongos
10	0	0
5	11	0
2,5	18	0
1	12	0
0,1	32	0

Se ha empleado también un ensayo de incorporación de agar normal utilizando *A. niger*, para determinar la actividad fungicida de varios compuestos empleados de acuerdo con la invención. En este ensayo, el agente tóxico se incorpora en el agar y luego se inocula el agar con el organismo de ensayo. Posteriormente se incuba el agar a 30° C. durante un período de 96 horas. Se ha encontrado que las siguientes cantidades de compuesto inhiben la germinación; nitrosometilcarbamato de metilo ( $\text{CH}_3\text{N}(\text{NO})\text{COOCH}_3$ ), 20 ppm; nitrosometilcarbamato de etilo ( $\text{CH}_3\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_2\text{H}_5$ ), 20 ppm; nitrosometilcarbamato de 2-cloroetilo ( $\text{CH}_3\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_2\text{H}_4\text{Cl}$ ), 20 ppm; nitrosometilcarbamato de propilo normal, 10 ppm; nitrosometilcarbamato de butilo normal, 5 ppm; nitrosometilcarbamato de isobutilo, 20 ppm; nitrosometilcarbamato de amilo normal, 5 ppm; nitrosometilcarbamato de hexilo normal, 10 ppm; nitrosoetilcarbamato de metilo ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}(\text{NO})\text{COOCH}_3$ ), 300 ppm; nitrosoetilcarbamato de 1-metoxietilo ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_2\text{H}_4\text{OCH}_3$ ), 300 ppm; nitrosoetilcarbamato de 3-metoxipropilo ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_3\text{H}_6\text{OCH}_3$ ), 300 ppm; y nitrosociclohexilcarbamato de etilo ( $(\text{CH}_2)_5\text{CHN}(\text{NO})\text{COOC}_2\text{H}_5$ ), 300 ppm.

EJEMPLO III

Se realizaron ensayos para apreciar el valor de los nitrosocompuestos como fungicidas para suelos, sobre los siguientes organismos:



241765

*Armillaria mellea*

*Fusarium solani*

*F. oxysporum* f. *lycopersici*

*Phytophthora cactorum*

5 *Phytophthora cinnamomi*

*Phytophthora citrophthora*

*Pythium aphanidermatum*

*Pythium ultimum*

*Rhizoctonia solani*

10 *Sclerotinia sclerotiorum*

*Sctreptoncyces scabies*

*Verticillium albo-atrum*

15 Cada una de las pruebas tenía cuatro partes, un ensayo de agar, una mojadura del suelo, mezcla de suelo y germinación de semilla. En los ensayos de agar, los productos químicos se suspendían o disolvían en agar de patata-dextrosa a las concen-  
traciones indicadas, es decir, 10, 100 y 1000 partes por millón, y los hongos de ensayo se colocaban sobre el medio de ensayo en  
20 placas Petri. Todo desarrollo resultante se registraba 48 horas más tarde, después de incubación a 20°C., aproximadamente.

25 En los ensayos mojando el suelo, los productos químicos se añadían en solución o suspensión acuosa al suelo estéril en pequeños viales que contenían el hongo de ensayo sobre pequeños bloques de agar. Se agregaban soluciones o suspensiones del pro-  
ducto químico en cantidad que diera las concentraciones deseadas en la masa de suelo, es decir, 10, 100 y 1000 partes por millón. Después de una incubación de 48 horas a 20°C., aproximadamente se recuperaban el inóculo y se hacía un cultivo en placa sobre pla-  
30 cas de agar dextrosa-patata para apreciar el desarrollo resultante, caso de que lo hubiera.

16 AGO. 19

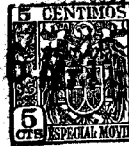


241765

En el ensayo de mezcla de suelo, se mezclaban mecánicamente los productos químicos en suelo estéril a las concentraciones deseadas, es decir, 10, 100 y 1000 partes por millón y se colocaban en pequeños viales que contenían el hongo de ensayo. El resto del procedimiento era el mismo que para la prueba de papilla de suelo.

Los ensayos de germinación de semilla se realizaron con algunos de los productos químicos. Los productos químicos ensayados se mezclaban mecánicamente en suelo estéril a concentraciones de 0, 10, 100 y 1000 partes por millón. Se sembraron en el suelo tratado, veinte semillas de pepino, variedad Marketer, incubadas durante 72 horas en un germinador de semilla a 30°C, y 100% de humedad relativa. Los resultados se registraban como tanto por ciento de germinación y además se anotaba la vitalidad del desarrollo en comparación con el control. En los ensayos de control hubo 100% de germinación.

El compuesto examinado fué el ester etílico del ácido nitrosometilcarbámico, con la siguiente fórmula de estructura:  $\text{CH}_3\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_2\text{H}_5$ . En el ensayo de agar, todos los hongos de prueba murieron a la concentración de 10 partes por millón y, naturalmente, también a las concentraciones mayores. En los ensayos de mojado del suelo, todos los hongos murieron a concentración de 10 partes por millón y mayor, con excepción de *F. oxysporum*, cuyo desarrollo a 10 partes por millón y que murió a 100 y 1000 partes por millón. No se examinó streptomyces. En los ensayos de mezcla de suelo, murieron siete de los hongos a 10 partes por millón; dos acusaron desarrollo a 10 partes por millón pero murieron a concentraciones elevadas, y 3 presentaron depresión a 10 partes por millón y murieron a concentraciones mayores.



241765

En los ensayos de germinación de semilla, tuvo lugar 80% de germinación a 10 partes por millón, pero con desarrollo retardado, mientras que no hubo germinación a 100 y 1000 partes por millón.

5

#### EJEMPLO IV

El producto químico ensayado fué ester metílico del ácido nitroso metilcarbámico,  $\text{CH}_3\text{N}(\text{NO})\text{COOCH}_3$ . Se ensayó en las pruebas de agar contra todos los hongos de la lista anterior. A 10 ppm, mató la armillaria. A 100 ppm redujo o mató tres de los hongos. A 1000 ppm mató o inhibió seriamente el desarrollo de todos los demás hongos.

10

#### EJEMPLO V

El producto químico ensayado fué ester butílico normal del ácido nitrosometil carbámico,  $\text{CH}_3\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_4\text{H}_9$ . A 10 ppm, mató todos los hongos en las pruebas de agar; en los ensayos de mojado del suelo, no se empleó streptomyces pero mató todos los demás a 10 ppm. En las pruebas de mezcla de suelo mató todos a 10 ppm, excepto F, oxysporum y rhizoctonia, siendo este último seriamente inhibido a 10 ppm y resultando muertos los dos últimos a 100 ppm. En los ensayos de germinación de semilla, 55% germinaron a 10 ppm y 35% a 100 ppm, impidiéndose ligeramente el crecimiento a 10 ppm y retardándose grandemente a 100 ppm. Se observó germinación cero a 1000 ppm.

15

20

#### EJEMPLO VI

El producto químico examinado fué ester isobutílico del ácido nitrosometil carbámico,  $\text{CH}_3\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_4\text{H}_9$ . Las pruebas de agar presentaron muerte completa a 10 ppm. En los ensayos de mojado del suelo el único hongo que no murió a 10 ppm fué F. oxysporum, que murió a 100 ppm. No se ensayó Streptomyces. En los en-

25

16



241765

sayos de mezcla de suelo, los únicos hongos que no murieron a 10 ppm fueron el *F. oxysporum* y el *rhizoctonia*, siendo este último notablemente retardado a 10 ppm y resultando ambos completamente muertos a 100 ppm. En los ensayos de germinación de semilla, hubo 100 % de germinación a 10 ppm (con ligero impedimento), 50% de germinación a 100 ppm (desarrollo grandemente retardado) y 35% de germinación a 1000 ppm (desarrollo también grandemente retardado).

#### EJEMPLO VII

El producto químico ensayado fué ester butílico normal del ácido nitrosoetilcarbámico,  $C_2H_5N(NO)COOC_4H_9$ . En el ensayo de agar, mató al armillaria a 10 ppm, acusó un efecto depresor franco sobre el desarrollo de otros seis hongos a 10 ppm, mató cuatro y retardó cuatro hongos a 100 ppm, y mató la totalidad de los hongos a 1000 ppm.

#### EJEMPLO VIII

El producto químico ensayado fué ester 2-cloroetílico del ácido nitrosometil carbámico,  $CH_3N(NO)COOC_2H_4Cl$ . En el ensayo de agar mató todos los hongos a 10 ppm. En los ensayos de mojado del suelo mató 8 de los hongos a 10 ppm y todos los ensayados (12 de las especies) a 100 ppm. En el ensayo de mezcla de suelo mató 9 de los hongos a 10 ppm y retardó seriamente uno de los hongos, mientras que a 100 ppm mató las doce especies de hongos tratados (omitido el *streptomyces*). En el ensayo de germinación de semilla, hubo 100 % de germinación con desarrollo normal a 10 ppm. 80% de germinación con desarrollo grandemente retardado a 100 ppm y 35 % de germinación con desarrollo grandemente retardado a 1000 ppm.

#### EJEMPLO IX

El producto químico ensayado fué ester 3-cloropropílico

16 AGO.



241765

del ácido nitrosometilcarbámico,  $\text{CH}_3\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_2\text{H}_5\text{Cl}$ . En el ensa-  
yo de agar, murieron 12 de los hongos y uno se retrasó seria-  
mente a 10 ppm. Todos murieron a 1000 ppm. En el ensayo de mo-  
jado del suelo (omitido el streptomyces) murieron siete hongos  
5 a 10 ppm y otros tres se retrasaron seriamente. A 100 ppm. murie-  
ron 11 tipos de hongos y uno se retrasó seriamente, mientras que  
a 1000 ppm. murieron los doce ensayados. En las pruebas con mez-  
cla de suelo, murieron cuatro especies de hongos a 10 ppm y otros  
cuatro se retrasaron seriamente, A 100 ppm murieron 10 especies  
10 de hongos, mientras que a 1000 ppm murieron los doce examinados.  
En las pruebas de germinación de semilla, hubo 95% de germinación  
con desarrollo normal a 10 ppm, 100% de germinación con desarrollo  
ligeramente retardado a 100 ppm. y 35 % de germinación con desarro-  
llo grandemente retardado a 1000 ppm.

15

EJEMPLO X

El producto químico ensayado fué ester etílico de ácido  
nitroso-2-metoxi-etilcarbámico,  $\text{CH}_3\text{OC}_2\text{H}_4\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_2\text{H}_5$ . En las prue-  
bas de agar, murieron 11 de los hongos a 10 ppm; otro se redujo  
decididamente. Los trece murieron a 1000 ppm. En las pruebas de  
20 mojado del suelo (omitido el streptomyces), murieron cuatro hon-  
gos a 10 ppm y otros cuatro se redujeron de un modo decidido. A  
100 ppm, nueve murieron y otro resultó rebajado, mientras que los  
doce ensayados murieron a 1000 ppm. En los ensayos con mezcla de  
suelo, tres murieron a 10 ppm y otros tres resultaron decididamen-  
te rebajados. A 100 ppm, resultaron muertos ocho y otros tres de-  
cididamente rebajados, mientras que a 1000 ppm murieron los doce  
25 examinados. En los ensayos de germinación de semillas, 90% germi-  
naron con desarrollo normal a 10 ppm, 85 % germinaron con desarro-  
llo ligeramente impedido a 100 ppm y 45 % germinaron con desarro-



241765

llo grandemente retardado a 1000 ppm.

EJEMPLO XI

5 El producto químico ensayado fué ester etílico del ácido hidroxipropilnitroso carbámico,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{NO})\text{COOC}_2\text{H}_5$ . En el ensayo de agar, se encontró que mataba solerotinia solerotiorum y que inhibía armillaria a 10 ppm. A 100 ppm. murió otro tipo de hongo y resultó inhibido otro, mientras que a 1000ppm murieron los doce y resultó inhibido el restante.

EJEMPLO XII

10 Se vertió agar nutriente estéril que tenía una concentración de 1,5 %, en el fondo de placas Petri de 9 cm. Las bacterias se inocularon en el agar añadiendo cultivo de caldo nutriente al agar fundido. El producto químico cuyo efecto bactericida o bacteriostático se quería ensayar, se impregnaba en un  
15 trozo de papel de filtro disolviéndole en agua o en acetona, según su solubilidad, y remojando luego el papel en la solución. Cuando se utilizó acetona como disolvente, el papel se dejaba secar completamente al aire antes de utilizarle en las pruebas mientras que, cuando se empleaba agua como disolvente, el papel  
20 no se secaba antes de usarle en las pruebas. La cantidad de producto químico ensayado aplicada al papel de filtro se determinaba en todos los casos. El papel de filtro que contenía el producto químico a ensayar se colocaba en la parte superior de una placa Petri y el agar endurecido en el fondo de la placa Petri  
25 se invertía sobre él, formando así un espacio interior cerrado con el papel de filtro que contenía el producto químico a ensayar en el fondo y el agar inoculado en la parte superior. La concentración del producto químico ensayado en el espacio de aire se determinaba tomando como base el volumen del espacio y la cantidad de producto químico a ensayar presente sobre el papel de fil-  
30



16 AGO

24.765

tro. Las placas se incubaron durante 48 horas a unos 37°C. Se hicieron también pruebas de control en las que la placa Petri no contenía producto químico de ensayo. Después del período de incubación de 48 horas, se realizaban observaciones del control y de las muestras de ensayo para apreciar el efecto bacteriostático. Las partes superiores de las placas Petri estériles se sustituyeron luego por las que contenían el producto químico de ensayo y las placas se incubaban durante un período adicional de 48 horas a unos 37°C. Se determinaba la acción bactericida por la ausencia de desarrollo del organismo de ensayo después del tiempo de incubación adicional incluso después de retirar el producto químico de ensayo de la placa Petri. Se ensayaron los siguientes compuestos por el procedimiento anterior:

Prueba No.

- 15            1    ester etílico del ácido nitrosoetil carbámico
- 2    ester etílico del ácido nitrosopropilcarbámico
- 3    ester etílico del ácido nitrosobutil (normal)-carbámico.

Se usaron las siguientes bacterias en las pruebas bacteriostáticas y bactericidas:

- 20            Bacillus subtilis
- Micrococcus Pyogenes var. Aureus

Se realizó una serie de pruebas con concentraciones variables para cada una de las bacterias y para cada uno de los productos químicos ensayados, con el fin de determinar la concentración mínima del producto químico ensayado a la cual se producían las condiciones bacteriostáticas y bactericidas. Los resultados de las observaciones se presentan en la siguiente tabla:



241765

MINIMO DE PPM NECESARIO PARA DAR  
RESULTADOS EN FASE VAPOR.

ENSAYO NO.	A-N(NO)COO-B		ACCION BACTERIGIDA		ACCION BACTERIOSTATICA	
	A	B	B.subtilis	M aureus	B.subtilis	M aureus
1	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	42	8,5	42	4,2
2	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	+ 85	+ 85	85	85
3	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	+ 85	+ 85	85	85

El signo más indica que la concentración mínima está por encima del número dado.

#### EJEMPLO XIII

Se vertió agar Mycophil estéril que tenía una concentración de 2,0 % en el fondo de placas Petri de 9 cm. y se dejaba endurecer. Los hongos se inoculaban en el agar rociando las suspensiones de esporas sobre el agar endurecido. El producto químico que se sometía a ensayo para apreciar el efecto fungicida o fungistático se impregnaba sobre una pieza de papel de filtro disolviéndolo: en agua o en acetona, según su solubilidad, y empapando luego el papel en la solución. Cuando se utilizaba acetona como disolvente, se dejaba secar el papel completamente al aire antes de emplearle en los ensayos, mientras que, cuando se utilizaba agua como disolvente, no se secaba el papel antes del empleo en las pruebas. La cantidad de producto químico a ensayar aplicada al papel de filtro se determinó en todos los casos. El papel de filtro que contenía el producto químico de ensayo se colocaba en la parte superior de la placa Petri y el agar endurecido en el fondo de la placa Petri se invertía sobre aquella con lo cual se formaba un espacio interno encerrado con el papel de filtro conteniendo el producto químico de ensayo en el fondo y el agar inoculado en la parte superior. La concentración del producto químico



241765

mico de ensayo en el espacio de aire se determinaba tomando como base el volumen de espacio y la cantidad de producto químico ensayado presente en el papel de filtro. Las placas se incubaron durante 96 horas a 28°C, aproximadamente. Se hicieron también ensayos de control carentes del producto químico ensayado. Después del período de incubación de 96 horas, se hicieron observaciones del control y de las muestras de ensayo para valorar el efecto fungistático. Luego se sustituyeron las cubiertas de las placas Petri estériles por las que contenían el producto químico de ensayo y se incubaron las placas durante un período adicional de 96 horas a unos 28°C. La acción fungicida se determinaba por la ausencia de desarrollo del organismo de ensayo después del tiempo de incubación adicional, incluso después de separar el producto químico ensayado de la placa Petri. Se examinaron los mismos compuestos que en el Ejemplo XII. El hongo empleado en los ensayos fungistáticos y fungicidas en fase vapor fué *Aspergillus niger*; se hizo una serie de ensayos en concentraciones variables para cada uno de los productos químicos examinados, con el fin de determinar la concentración mínima del producto químico ensayado a la cual se mantenían las condiciones fungistáticas y fungicidas. Los resultados de las observaciones se presentan en la siguiente tabla.

MINIMO DE PPM NECESARIO PARA DAR  
RESULTADOS EN FASE VAPOR.

ENSAYO NO.	A-N(NO)COO-B		ACCION FUNGICIDA	ACCION FUNGISTATICA
	A	B		
1	$C_2H_5$	$C_2H_5$	85	85
2	$C_3H_7$	$C_2H_5$	+ 85	85
3	$C_4H_9$	$C_2H_5$	+ 85	85

La significación del signo más es la misma que se ha dicho en el EJEMPLO XII.



EJEMPLO XIV

241765

Se realizaron ensayos sobre la actividad nematodocida del ester butílico normal del ácido nitrosometil carbámico, de la manera siguiente, utilizando cinco réplicas por cada prueba.

5 Se colocó 1,15 litros de suelo infestado con nematodos, en potes de barro de 12,7 cm. Se hacía después un orificio de 5,7 cm. de profundidad en el centro de la tierra en cada pote y se colocaban 250 cc. de agua conteniendo el ester del ácido nitrosocar-

10 bámico en el orificio. Se llenaba después el orificio con tierra y se prensaba. En diferentes ensayos, se colocaban cantidades diferentes de los nitrosometilcarbamatos, del modo siguiente: 0,5 mg por cada 0,09 m<sup>2</sup> en el primer pote y, en los otros, 1,0; 2,0 y 4 mg por cada 0,09 m<sup>2</sup> respectivamente. El quinto pote era un control al que no se añadía ningún producto químico. En cada pote se

15 colocaba una capa de agua cubriendo la tierra contenida en el mismo, para evitar el escape del carbamato por evaporación. Para determinar el efecto nematodocida, se plantaba una planta en la tierra contenida en cada pote y se dejaba que creciera en el mismo. Al final del período de ensayo, se arrancaban las plantas y se

20 examinaban en las raíces las agallas. En los cuatro potes que habían sido tratados con carbamato, el número promedio de agallas por planta estaba comprendido entre 10 y 20, mientras que el control tenía aproximadamente 55 agallas por promedio de planta.

Pueden hacerse varias modificaciones en los procedimientos de los ejemplos específicos para proporcionar otras realizaciones comprendidas dentro de los amplios límites de mi invención.

25 Así, por ejemplo, en lugar de los compuestos específicos empleados, pueden utilizarse otros compuestos comprendidos dentro del alcance de la fórmula dada arriba, por ejemplo, nitrosometilcarbamato de octilo normal, (CH<sub>3</sub>N-NO-COOC<sub>8</sub>H<sub>17</sub>), nitrosometilcarbamato

30

16 A



241765

de 2-etilhexilo, nitrosometilcarbamato de decilo normal, nitrosometilcarbamato de dodecilo normal, nitrosometilcarbamato de 3-cloro-propilo normal, y análogos. Para el tratamiento o fumigación del suelo se prefieren compuestos de la fórmula  $CH_3N(NO)COOR$ , donde R es un radical del grupo constituido por radicales alifáticos que contienen de 1 a 12 átomos de carbono, cero a un átomo de oxígeno y cero a un átomo de cloro, a causa de su elevada potencia.

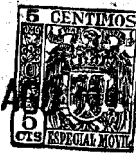
Como se ha dicho antes, los agentes tóxicos definidos por la fórmula general pueden aplicarse del mismo modo que se han utilizado hasta ahora los agentes tóxicos. Por ejemplo, pueden prepararse aerosoles compuestos de dos partes en peso, aproximadamente del agente tóxico líquido, tal como nitrosometilcarbamato de butilo normal, amilo normal o hexilo normal, y aproximadamente 98 partes en peso de un propulsor adecuado tal como Freon 12 o cloruro de metilo.

Además, pueden prepararse polvos impregnados mezclando convenientemente entre 5 y 50 %, aproximadamente, en peso, de nitrosometilcarbamato de amilo normal a uno de los otros agentes tóxicos mencionados arriba, con 95-50 partes, aproximadamente, en peso, de un vehículo adsorbente sólido adecuado, tal como pirofilita, creta, pelitre, tierra de distomáceas, harina de cáscara de nuez, etc., según se conoce ya en la técnica. Las cantidades particulares del agente tóxico y el vehículo sólido elegidas dependerán de varios factores, tales como la facultad del vehículo sólido de absorber el agente tóxico y de la potencia final que se desee para la composición final.

Las composiciones y el método de la invención encuentran aplicación en la conservación de frutos, tales como manzanas, melocotones, naranjas y plátanos, que se tengan que transportar o

241765

16



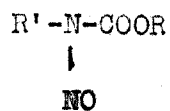
almacenar. También son útiles en la conservación de las cosechas recién recogidas, tales como las de heno, granos, semillas, maiz, etc., que han de experimentar un curado. El tratamiento del suelo descrito arriba es de interés e importancia particulares. Otros usos para la invención se les ocurrirán fácilmente a los expertos en esta técnica.

Esta solicitud, que corresponde a la presentada en los Estados Unidos de América, con fecha 10 de Diciembre de 1957, bajo el número 701.734, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

#### NOTA

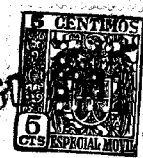
Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de este ler. Certificado de Adición en España son los siguientes:

19. - Mejoras introducidas en el objeto de la Patente principal núm. 232.079 por "Un método de conservación de un material sometido normalmente al ataque de los hongos y bacterias" caracterizadas porque se tratan dichos organismos, con un compuesto, por lo menos, de la fórmula



en la que R es un radical del grupo constituido por radicales alifáticos y cicloalifáticos que contienen de 1 a 12 átomos de carbono, de cero a un átomos de oxígeno y de cero a un átomo de cloro; y R' es un radical del grupo constituido por radicales alifáticos y cicloalifáticos que contienen de 1 a 6 átomos de carbono,

16 AGO



241765

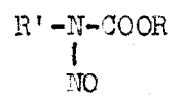
de cero a un átomo de oxígeno y de cero a un átomo de cloro.

22. - Mejoras de acuerdo con la reivindicación 1, según las cuales R es butilo normal y R' es metilo.

5 32. - Mejoras de acuerdo con la reivindicación 1, según las cuales R es amilo normal y R' es metilo.

42. - Mejoras de acuerdo con la reivindicación 1, según las cuales R es hexilo normal y R' es metilo.

10 52. - Mejoras introducidas en el objeto de la Patente principal núm. 232.079, caracterizadas por la incorporación al suelo de por lo menos un compuesto de la fórmula



15 en el que R es un radical del grupo constituido por radicales alifáticos y cicloalifáticos que contienen de 1/a 12 átomos de carbono, de cero a un átomo de oxígeno, y de cero a un átomo de cloro; y R' es un radical del grupo constituido por radicales alifáticos y cicloalifáticos que contienen de 1 a 6 átomos de carbono, de cero a un átomo de oxígeno y de cero a un átomo de cloro.

20 62. - Mejoras de acuerdo con la reivindicación 5 según las cuales el compuesto es el ester etílico del ácido nitrosometilcarbámico.

72. - Mejoras de acuerdo con la reivindicación 5 según las cuales el compuesto es un ester butílico del ácido nitrosometilcarbámico.

25 82. - Mejoras de acuerdo con la reivindicación 5 según las cuales el compuesto es el ester 2-cloroetílico del ácido nitrosometilcarbámico.

41765

16 A



99. - Mejoras introducidas en el objeto de la Patente principal núm. 232.079 según las cuales el compuesto de fórmula  $\text{CH}_2\text{N}(\text{NO})-\text{COOR}$  se incorpora al suelo por fumigación en cantidad efectiva para combatir dichos organismos, siendo R un radical del grupo constituido por radicales alifáticos que contienen 1-12 átomos de carbono, de 0 a 1 átomo de oxígeno, y de cero a un átomo de cloro.

102. - Mejoras introducidas en el objeto de la Patente principal número 232.079.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, con los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de veintidós hojas escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid,

16 AGO. 1958

P.A.

Asesor de Eizabara  
*[Handwritten signature]*