



ESPAÑA

10	ES	11	NUMERO	10	A1
		21	449.894		
		22	FECHA DE PRESENTACION		

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:	32	FECHA	33	PAIS
31	NUMERO		18 de Julio de 1.975		EE.UU. de A.
	596.896				

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			A01N		

64	TITULO DE LA INVENCION
"PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE UNA COMPOSICION INSECTICIDA VIRAL".	

71	SOLICITANTE (S)
SANDOZ, A.G., entidad suiza,	

DOMICILIO DEL SOLICITANTE	
Basilea, Suiza.	

72	INVENTOR (ES)
MARTIN HAROLD ROGOFF, TSUONG TUNG SHIEH.	

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE
D. JAIME GOMEZ-ACEBO Y MODET	

La presente invención se relaciona con la producción de composiciones insecticidas virales.

En consecuencia, la presente invención proporciona una composición insecticida viral, en partículas, que consiste de 0,1 a 35 % por peso de un insecticida viral, encerrado en 65 a 99,9 % por peso de una matriz sólida que consiste de material proteico inerte y/o arcilla.

La presente invención también proporciona un método para la producción de la composición insecticida viral, en partículas, de la invención, caracterizado porque se seca con pulverización una mezcla acuosa que contiene 0,1 a 35 partes por peso de un insecticida viral y 65 a 99,9 partes por peso de un material matriz sólido seleccionado de material proteico inerte y/o arcilla, constituyendo el insecticida viral y material matriz del 3 al 35 %, preferentemente del 8 al 25 % por peso de la mezcla acuosa.

Las composiciones proporcionadas por la invención son composiciones en partículas, ya que las composiciones se componen de una multiplicidad de partículas finas en donde el insecticida viral está encerrado en material matriz. La expresión "encerrado"

tal como se usa en la presente Memoria en relación con tales partículas, abarca un embutido en la matriz con una porción del insecticida expuesta en la superficie de la partícula y abarca igualmente una capsulación completa del insecticida en la matriz, esta última condición siendo la preferida y también la predominante en las partículas producidas mediante el método de la invención. Las partículas en la composición se caracterizan ventajosamente por una dimensión pequeña que no excede 150 micras, preferentemente 3 a 150 micras, con mayor preferencia 5 a 100 micras y particularmente 5 a 25 micras.

Los insecticidas virales empleados en esta invención son los que contienen cuerpos de inclusión con viriones ocluidos. Los cuerpos de inclusión tienen una estructura proteica semejante al cristal y pueden contener de 1 a 1000 o más partículas virales o viriones ocluidos por cada cuerpo de inclusión. Las enfermedades virales causadas por tales virus incluyen, inter alia, la poliedrosis nuclear, la poliedrosis citoplásmica, la granulosis y la pox-virosis de los insectos. Se conocen aproximadamente 250 virus de este tipo para una variedad de huéspedes antrópodos tales como los lepidópteros (por ej. polillas y mariposas), los himenópteros, (por ej. hormigas, abejas y avispas),

los dípteros (por ej. moscas y mosquitos), los ortópteros (por ej. langostas) y los neurópteros (por ej. insectos con alas que parecen encaje).

Las variantes preferidas de esta invención abarcan insecticidas que contienen un virus de poliedrosis nuclear (VPN). Los virus de poliedrosis nuclear se desarrollan en los núcleos de las células infectadas, son virus ADN, y tienen cuerpos de inclusión poliédricos. Los tipos artrópodos más específicos para los que se conoce un virus de poliedrosis nuclear incluyen: Heliothis, Autographa, Pseudoplusia, Trichoplusia, Spodoptera, la polilla de Deschampsia caespitosa, la lagarta peluda y Neodiprion. Las variantes particularmente preferidas de esta invención abarcan insecticidas que contienen el virus de poliedrosis nuclear para la oruga de la cápsula del algodón (Heliothis zea), el falso cogollero del tabaco (Heliothis virescens), la oruga de la col (Trichoplusia ni), el gusano de la hierba (Laphygma frugiperda) y la gardama (Laphygma exigua).

También son de interés los virus de granulosis (VG) para la polilla de las manzanas, el cigarrero de los frutales y el cigarrero de franjas rojas.

Las expresiones "insecticida viral" y similares, tal como se usan en la presente Memoria en re-

lación con el patógeno para insectos empleado en las composiciones de la invención; incluyendo la cantidad del mismo, se refieren no solamente al cuerpo de inclusión mismo, sino también a otra materia y detritus de insectos, sólidos, que no pueden ser separados del cuerpo de inclusión, ya sea por selección o por las limitaciones de la tecnología después del tratamiento para la liberación del componente activo de las larvas huéspedes en donde es producido. Otras materias y detritus como los antes citados, cuando están finamente divididos, pueden emplearse y hallarse en las composiciones de la invención en cantidades substanciales sin tener efecto adverso substancial. En consecuencia, el insecticida viral se emplea en las composiciones en cantidades de hasta el 35 % por peso y puede contener, además de los cuerpos de inclusión, cantidades substanciales de materia de larvas y células, finamente dividida, que no contribuyen a la actividad insecticida de la composición. Por lo tanto, mientras que las partículas individuales y la composición global pueden tener concentraciones relativamente bajas del virus patógeno, es deseable desde un punto de vista práctico mínimo, que las composiciones contengan el equivalente activo de una DL_{50} mínima de 1,0 microgramo/mililitro (γ/ml). La potencia de las composi-

ciones puede variar convenientemente de 0,001 γ /ml hasta 1,0 γ /ml y generalmente queda dentro del alcance de 0,003 γ /ml a 0,4 γ /ml.

Los procedimientos y métodos para la cría e infección de las larvas y para la recolección de las larvas infectadas son bien conocidos. En cuanto a las técnicas y métodos para la separación y purificación del componente viral activo, se ha encontrado que pueden proporcionarse polvos insecticidas virales, adecuados, de malla sub-200, moliendo sencillamente las larvas infectadas tal como se obtienen mediante trituración con agua en los procedimientos conocidos en el arte previo, y pasando luego a través de un filtro bruto tal como tamiz de malla 50-150 Tyler standard con el fin de separar los detritus celulares inertes. El molido o sumisión a las fuerzas quebrantadoras queda esencialmente finalizado en el transcurso de 1 a 20 minutos y se efectúa en presencia de cantidades controladas de agua añadida. Tal molido puede efectuar ya sea con las larvas infectadas inmediatamente después de su recolección, mediante trituración, o con el material triturado, congelado y almacenado. Las composiciones insecticidas de la invención generalmente contienen de 0,5 a 20 % por peso del insecticida viral,

preferentemente de 1 a 15 %, basado en el peso total del insecticida viral y material matriz.

Las composiciones de la invención pueden prepararse luego mediante secado con pulverización de una mezcla acuosa de los ingredientes sólidos de la composición. El secado con pulverización puede llevarse a cabo con los aparatos de pulverización usuales. La mezcla acuosa con la que se alimenta el secador con pulverización preferentemente es una suspensión acuosa de los componentes sólidos, agitada lo suficientemente para que los sólidos queden esencialmente dispersados uniformemente en el agua. La temperatura de la mezcla acuosa, inmediatamente antes de ser introducida en el secador con pulverización puede variar de -12,2°C a 37,8° C, y preferentemente queda dentro del alcance de 10°C a 32,2°C. El orificio en la tobera de admisión es un factor mayor en la determinación del tamaño de la partícula en el producto y se selecciona conformemente. La mezcla para alimentar el secador puede introducirse en el secador con pulverización bajo una presión que fluctúa entre 34 y 306 atmósferas, preferentemente entre 68 y 272 atmósferas, por ejemplo entre 68 y 170 atmósferas. El secado con pulverización que produce las composiciones de la invención es, en

esencia, un procedimiento de secado rápido a temperatura baja. Las temperaturas de entrada, es decir la temperatura en la zona de atomización, se regulan conformemente de modo que no excedan 232°C. Las temperaturas

5 de entrada mínimas pueden ser tan bajas como aprox. 71°C. Generalmente las temperaturas de entrada fluctúan entre 77°C y 182°C y preferentemente quedan dentro del alcance de 82°C a 166°C, por ej. 82°C a 121°C. La operación del secador con pulverización se lleva a cabo

10 de tal modo que las temperaturas de salida queden dentro del alcance de por lo menos aprox. 49°C hasta no más de 138°C, generalmente entre 54°C y 104°C y con mayor preferencia entre 54°C y 93°C. El descenso de -----

15 temperatura entre la temperatura de entrada y temperatura de salida puede variar considerablemente dependiendo de factores conocidos y puede alcanzar 104°C. La diferencia de temperatura generalmente queda dentro del alcance de 4,44°C a 82°C y preferentemente queda entre 10°C y 77°C. El calor en el secador con pulverización

20 es proporcionado por un gas calentado que sea inerte o de otro modo inocuo para el virus o los demás ingredientes en las composiciones de la invención. Pueden emplearse diversos gases de calentamiento de tipo convencional, preferentemente aire. Los gradientes de

25 temperatura deseados en la operación de secado con pul-

verización hacen indispensable que el flujo de gas de calentamiento esté en concomitancia con la masa sólida descendiente. El tiempo de permanencia de la masa sólida en el secador preferentemente es muy corto, siendo deseable que no exceda 3 segundos a temperaturas de 71°C o más elevadas, generalmente no más de 2 segundos. El tiempo de exposición total en el procedimiento a temperaturas de 49°C o mayores, preferentemente es de no más de 15 segundos, con mayor preferencia no más de 10 segundos, y los procedimientos de recuperación se ajustan conformemente.

El contenido de sólidos de la mezcla acuosa con que se alimenta el secador con pulverización, basado en el insecticida viral y material matriz, queda dentro del alcance de 3 a 35 % del peso total de la mezcla acuosa, preferentemente de 8 a 25 % por peso y con mayor preferencia de 12 a 20 % por peso. Pueden añadirse materiales adicionales, pero el contenido total de sólidos de la mezcla preferentemente queda dentro del alcance de aprox. 3 a 38 % del peso total de la misma, preferentemente de 8 a 28 % y con mayor preferencia de 12 a 23 % por peso. Todos los materiales sólidos en la mezcla están divididos finamente y el material matriz y los aditivos facultativos son, en esencia, materiales

pulverizados que preferentemente pasan a través de un tamiz de malla 200 Tyler standard y que preferentemente tienen un tamaño de la partícula de 0,1 a 50 micras, preferentemente 0,2 a 20 micras. El insecticida viral también está dividido finamente. Los insecticidas tratados con acetona (Patente de los Estados Unidos 3.639.578) son polvos de naturaleza muy fina y tienen tamaños de la partícula entre 0,5 y 100 micras, generalmente de 0,5 a 20 micras. Los insecticidas virales no producidos mediante el procedimiento de acetona se tratan por otros medios tales como molido en presencia de cantidades controladas de agua para producir un material que pasa a través de un tamiz de malla 50-150 Tyler, preferentemente malla 100, y en donde los cuerpos de inclusión o la sustancia que soporta los cuerpos de inclusión se liberan o reducen, respectivamente, a un tamaño muy fino que fluctúa entre 0,5 y 100 micras, generalmente 0,5 a 25 micras, preferentemente 0,5 a 15 micras. Los procedimientos para convertir las larvas conteniendo insecticida viral en dispersiones acuosas de tal fineza, a menudo llamados "homogeneización", son bien conocidos. Las dispersiones acuosas de los insecticidas virales, tal como producidas a partir de las larvas para usarse en la alimentación del secador con pulverización, tienen

un pH ácido típicamente dentro del alcance de aprox.
pH 2,0 a 5,0, más generalmente un pH de 3,0 a 5,0, y
pueden usarse como tales. Sin embargo, es preferible
ajustar el pH de tales dispersiones a un pH dentro del
5 alcance de 5,5 a 8 para el secador con pulverización y
para otros fines. Cuando se desea o cuando sea necesari-
o, esto puede lograrse añadiendo una base que no sea
perjudicial para la composición viral, por ejemplo un
hidróxido de metal alcalino tal como hidróxido de pota-
10 sio. También es preferible controlar o regular el pH de las
dispersiones acuosas para la alimentación del secador
con pulverización mediante la incorporación en las mis-
mas de un fosfato hidrosoluble en cantidad suficiente,
es decir para mantener el pH de 5,5 a 8, preferentemente
15 6,0 a 7,5. La cantidad de fosfato hidrosoluble añadida
preferentemente es de 1 a 12 % del peso del insecticida
viral y preferentemente 3 a 9 % del peso del insecticida
viral. Los fosfatos inorgánicos, hidrosolubles, que
pueden usarse incluyen los fosfatos de metal alcalino,
20 por ej. fosfatos de sodio y de potasio, incluyendo
los mono- y dihidrogen-fosfatos, por ej. fosfato de
potasio, monohidrogenfosfato de potasio y dihidrogen-
fosfato de potasio, preferentemente este último.

Por lo general, se ha encontrado que la inclusión de un fosfato inorgánico en un insecticida viral en cantidad suficiente para regular una composición insecticida a un pH de 5,5 a 8, preferentemente 6,0 a 7,5, da por resultado una composición con una estabilidad mejorada hacia el calor y también hacia otras condiciones del ambiente y de uso, tales como rocío y humedad, que pueden afectar el pH de la composición en el campo. Tal fosfato puede ser añadido a cualquier composición viral, ya sea conteniendo diluyente(s) acuoso(s) y/o no acuoso(s). Si la composición no es acuosa, tal composición, ya sea que se trate de una composición no acuosa líquida o sólida, incluirá el fosfato en cantidad suficiente para proporcionar un pH dentro del alcance previamente indicado al mezclarse la composición. El pH se mide convenientemente en una solución de sólidos al 20% a 25°C. Las composiciones reguladas con fosfato, preferidas, son las que contienen un insecticida viral y un diluyente seleccionado del grupo de agua, sólidos inertes y mezclas de los mismos. Cuando el insecticida viral es de bajo pH inicialmente, por ej. pH de aprox. 3,0, éste puede ajustarse al alcance de pH deseado con diversas bases, por ej. hidróxidos de metal alcalino tal como

naturaleza fina, esencialmente pulverizada, a modo de ilustración: arcillas de caolín, arcillas de Olancha, arcillas de Attapulcus y arcillas de bentonita. Las arcillas preferidas son la de Olancha y de Attapulcus.

5 El material proteico empleado como material matriz es un material normalmente sólido y también puede provenir de cualquiera de una variedad de fuentes de proteína que han sido tratadas para proporcionar una forma fina, esencialmente en polvo.

10 Es preferible que los materiales sean desgrasados o que de otro modo estén substancialmente libres de grasa. Las fuentes de proteína vegetal que pueden mencionarse a modo de ilustración incluyen: soja, semillas de algodón, semillas de girasol y extractos de diversas levaduras. Los materiales proteicos vegetales preferidos son 15 la proteína de soja y la proteína de semilla de algodón, preferentemente las procedentes de una fuente desgrasada, con mayor preferencia la proteína de soja desgrasada. Como representantes de las proteínas animales pueden men- 20 cionarse la leche descremada, la caseína y la albúmina de huevo. El material proteico, tal como obtenido de una fuente natural, puede contener una cantidad substancial de material no proteico y las expresiones "proteína"

y "material proteico", tal como se emplean en la presente Memoria, generalmente se refieren a materiales que contienen tan poco como el 25 % por peso de proteína verdadera. Los materiales proteicos preferidos son las proteínas vegetales. Los materiales adecuados tales como las proteínas vegetales preferidas generalmente contienen entre 40 % y 75 % de proteína real.

El material matriz preferido consiste de una mezcla de material proteico y arcilla, con mayor preferencia material proteico vegetal, especialmente polvo de soja desgrasado y arcilla, especialmente arcilla de Attapulgius. Cuando se emplea una mezcla matriz de proteína/arcilla, la proporción por peso de la proteína y arcilla preferentemente es de 0,1 a 10 : 1, con mayor preferencia 0,3 a 4 : 1, especialmente 0,5 a 3 : 1, respectivamente.

Las composiciones de la invención se caracterizan por ciertas propiedades deseables, tales como estabilidad, humectabilidad, dureza y/o capacidad de adhesión aumentadas, tal como lo indican los métodos de ensayo siguientes.

Ensayo 1 Estabilidad a la luz ultravioleta

La muestra de ensayo de la composición se suspende en un alícuota de agua y se coloca en una cápsu-

la de Petri. La suspensión se expone luego a la luz ultravioleta durante 5 segundos y se mide la actividad insecticida residual. La comparación de la actividad insecticida residual con la original proporciona una medida de la estabilidad a la luz ultravioleta de la muestra de ensayo.

Ensayo 2 Humectabilidad

Un vaso de pyrex (10,5 x 8,5 cm) No. 1000 se coloca sobre un soporte de anillo. Se añaden 100 cc de agua con dureza de 30 granos a 23°C. Encima del vaso se coloca un embudo de plástica que tiene un diámetro superior de 10 cm y un diámetro interno del cuello de 1,6 cm, de tal modo que el borde inferior del cuello del embudo quede 10 cm por encima de la superficie del agua. En el embudo se coloca una muestra de 0,5 g del material de ensayo y se mide el tiempo requerido para humectar completamente el material flotante. Un tiempo de humectación de menos de 60 segundos se considera como bueno.

Ensayo 3 Adhesividad

Dos gotas de una suspensión del 0,5 % por peso de la muestra de ensayo se colocan sobre un portaobjetos de vidrio y se dejan secar hasta una capa delgada a temperatura ambiente durante dos horas. La capa

delgada sobre el portaobjetos es fácilmente visible a simple vista. El portaobjetos se mantiene luego a un ángulo de 45° a una distancia de 10 cm por debajo del grifo de agua corriente, dejándose correr el agua a razón de 100 cc por cada 15 segundos. El grado de desaparición de la capa que tiene lugar como resultado de la exposición de la película al agua que corre constantemente, también es visible sin dificultad alguna. El material sobre el portaobjetos que ha sido borrado visiblemente por el lavado y el material que visiblemente ha permanecido intacto por el agua corriente se registra para medir la adhesividad.

Ensayo 4 Tamaño y dureza de la partícula

Se mide la aproximación de los diámetros de las partículas en la suspensión en agua con un contador de bacterias Petroff-Hanssen bajo un microscopio de fases. La dureza de las partículas en suspensión de agua se mide colocando una suspensión al 0,5 % en un cilindro de 100 cc de volumen e invirtiendo y enderezando el cilindro 30 veces en el transcurso de 60 segundos. La integridad de las partículas se observa bajo un estereomicroscopio. Las partículas blandas generalmente se disgregan para formar partículas finas de tipo amorfo,

EJEMPLO 1:

Cada una de doce porciones separadas de 80 gramos de concentrado técnico de acetona en polvo de una preparación H. zea, con actividad biológica expresada como DL_{50} de 0,003 a 0,006 γ/ml contra H. zea en el primer estado de desarrollo, ----- se mezcla con 500 cc de agua con un mezclador Waring durante un minuto. Cantidades variantes de los aditivos indicados en la Table 1, siguiente, se suspenden en 10 11 litros de agua y luego se mezclan con una de las suspensiones de virus. El volumen final de cada mezcla se completa hasta 15 litros con agua y cada una se agita hasta que se obtiene una suspensión homogénea. Las suspensiones de virus se secan con pulverización, a una 15 temperatura de admisión de $160^{\circ} C$ y una temperatura de salida de $71^{\circ} C$, manteniéndose la presión entre 136 y 272 atmósferas y usando un orificio No. SA.O,044. Cada una de las composiciones, secadas con pulverización, resultantes se evalúa en cuanto a potencia, adhesividad 20 (mencionada como "capacidad de adhesión"), humectabilidad y dureza de las partículas, y los resultados se indican en la Table 1 siguiente.

TABLA 1

Características físicas de formulaciones H. zea secadas con pulverización

Aditivos	Canti- dad (g/15 l)	DL ₅₀ /cc	Humec- tabili- dad	Capaci- dad de adhesión sobre vidrio	Dureza de las partí- culas
1. Arcilla Olancha	2320	0,16	buena	se borran	duras
2. Caolín	2320	0,11	buena	se borran	blandas
3. Soja K	2320	0,14	mala	adhieren	duras
4. Leche des- cremada	2320	0,17	mala	adhieren	amorfás
5. Arcilla Olancha	1500				
y caolín	820	0,15	buena	se borran	duras
6. Arcilla Olancha	1500				
y soja K	820	0,12	buena	adhieren	duras
7. Soja K y Olancha	1500 820	0,12	buena	adhieren	duras
8. Soja K y caolín	1500 820	0,10	buena	adhieren	duras
9. Proflo	2320	0,08	mala	adhieren	duras
10. Proflo y caolín	1500 820	0,10	buena	adhieren	NM*

*NM = no medidas

EJEMPLO 2:

Mezclas separadas de 800 gramos de concentra-
do técnico en polvo de preparación H. zea (producida
mediante el procedimiento de acetona), 50 gramos de
5 dihidrogen-fosfato de potasio y 2,0 gramos de sulfato
de magnesio heptahidrato se mezclan con uno de los pri-
meros tres aditivos de la Tabla 2 siguiente, y 12 ga-
lones de agua, con agitación, hasta que se obtiene una
suspensión homogénea. Cada una de las tres suspensiones
10 se completa hasta un volumen de 20 galones mediante
la adición de agua y se ajusta a un pH de 6,5 mediante
la adición de hidróxido de potasio. Las suspensiones
se secan separadamente con pulverización tal como se
indica en el Ejemplo 1 y se determina la potencia y las
15 características físicas de las masas de partículas re-
sultantes. Los resultados se indican en la Tabla 2
siguiente y se comparan con un insecticida viral standard
identificado por la marca registrada Viron/H y que
contiene el mismo concentrado técnico en polvo mezclado
20 con lactosa en polvo.

TABLA 2

Propiedades del virus de poliedrosis nuclear H. zea,
secado con pulverización, preparado de concentrado
técnico de acetona en polvo

Aditivos	g/ 20 galones	Tamaño Dureza de las partículas	Humec- tabili- dad	Capaci- dad de adhesión	DL ⁵⁰ γ/cc
1. Arcilla Olancha y Soja K	7100 4100	duras 5-25 mi- cras	45	buena	0,12
2. Proflo	11200	duras 5-25 mi- cras	150	buena	0,11
3. Arcilla Olancha Proflo	7100 4100	duras 5-25 mi- cras	35	buena	0,12
4. Viron/H	6% conc. técnico 94% lac- tosa en polvo	amorfas	90	mala	0,38

EJEMPLO 3:

Dos mezclas separadas de 5000 gramos de lar-
vas de oruga de la cápsula del algodón, contaminadas,
congeladas, se suspenden en 6 galones de agua y se
5 mezclan en un mezclador Waring durante 2 minutos. Las
mezclas homogéneas se tamizan luego a través de un tamiz

de malla 100 con el fin de separar los detritus de células de insecto. A la preparación bruta de virus se le añaden 60 g de dihidrogenfosfato de potasio, 2,0 g de sulfato de magnesio, 7,0 g de agua y los aditivos mencionados en la Tabla 3 siguiente, y el volumen final se ajusta a 20 galones con agua. El pH se ajusta a 6,5 con hidróxido de potasio. Se lleva a cabo el secado con pulverización con una tobera SA. 027, a una temperatura de admisión de 93°C, una temperatura de salida de 60°C y a una presión de 102 a 122,4 atmósferas. Sesenta gramos del polvo secado con pulverización equivalen al virus proporcionado por 40 larvas contaminadas. La potencia y caracterización física de las masas de partículas resultantes se indican en la Tabla 3 siguiente.

TABLA 3

Propiedades del virus de poliedrosis nuclear H. zea, secado con pulverización, preparado de larvas contaminadas, congeladas

Aditivos	g/ 20 galo- nes	Tamaño Dureza de las partículas	Humec- tabili- dad (seg.)	Capaci- dad de adhesión	DL ₅₀ γ/cc
Arcilla					
1. Olancha	6000	duras	35	buena	0,103
Soja K	5250	5-25 micras			
2. Caolín	6200	duras	45	buena	0,109
y Proflo	5000	5-25 micras			...

EJEMPLO 4:

Masas de partículas, secadas con pulverización, obtenidas en los Ejemplos 2 y 3, se suspenden en un alícuota de agua y se colocan en una cápsula de Petri.

5 Las suspensiones de virus se examinan entonces para determinar su actividad de estabilidad a la luz ultravioleta. Los resultados se indican en la Tabla 4.

TABLA 4

Efecto de la irradiación ultravioleta sobre la actividad insecticida de diversas preparaciones

<u>Formulaciones de Virus</u>	<u>DL₅₀ Control</u>	<u>Irradia- ción UV</u>	<u>Actividad residual</u>
1. Viron/H (standard)	0,25	0,62	40
2. Conc.tecn. y arcilla y soja K	0,12	0,20	60
3. Conc.tecn. y Proflo	0,14	0,17	82
4. Conc.tecn. y arcilla y Proflo	0,11	0,20	55
5. Larvas congeladas y arcilla y soja K	0,11	0,15	74
6. Larvas congeladas y caolín y Proflo	0,13	0,15	87

EJEMPLO 5:

Las preparaciones, secadas con congelación, obtenidas en los experimentos 2 y 3, se almacenan a 50°C.

durante diversos períodos de tiempo con el fin de determinar su estabilidad al calor. La potencia residual después del almacenamiento queda indicada en la Tabla 5 siguiente:

TABLA 5

Estabilidad al calor

	<u>Semiperíodo de vida</u>	
	<u>50°C (días)</u>	<u>38°C (semanas)</u>
1. Viron/H	2	1
2. Conc.tecn. y arcilla y soja K	8	6,0
3. Conc.tecn. y Proflo	12	9,5
4. Conc.tecn. y arcilla y Proflo	8	2,5
5. Larvas congeladas y arcilla y soja K	10	5,5
6. Larvas congeladas y caolín y Proflo	9	4,0

5 En los Ejemplos precedentes, Proflo es la marca registrada de un polvo de semilla de algodón desgrasado y soja K es una marca registrada de polvo de soja desgrasado. El caolín es caolín Georgia.

10 La medida de la actividad o potencia insecticida, tal como se usa y se hace referencia en esta Memoria, se basa en la determinación del valor DL₅₀ indicado en microgramos por cc. (γ/cc) de la dieta re-

querida para proporcionar una dosis letal para el 50 por ciento de las larvas en primer estado de desarrollo, criadas a una temperatura de 30°C. El método está descrito básicamente en *Insect Pathology*; 6, 737-45 (1963) en relación con la estimación de la potencia del virus de poliedrosis nuclear Trichopusia ni. El nutrimento empleado en tal ensayo tiene la composición siguiente:

	<u>Ingrediente:</u>		<u>Cantidad:</u>
	Agua destilada	cc	3.100
10	Parahidroxibenzoato de metilo (15 % peso/volumen en alcohol etílico al 95 %)	cc	36
	Cloruro de colina (0,1 g/cc de agua)	cc	36
	Hidróxido de potasio, 4 molar	cc	18
15	Formalina (0,1 g/cc)	cc	15
	Provisión de vitaminas ¹	cc	6
	Caseína	g	126
	Sucrosa	g	126
	Germen de trigo	g	108
20	Agar	g	90
	Sal de Wesson	g	36
	Celulosa alfa	g	18
	Acido ascórbico	g	15
25	Antibiótico (clorotetraciclina, kanamicina)		

1 600 mg de niacina, 600 mg de pentotenato de calcio,
300 mg de riboflavina, 150 mg de cada uno de los si-
guientes: tiamina, piridoxina y ácido fólico, 12 mg de
biotina y 1,2 mg de vitamina B₁₂ en 100 cc de agua des-
5 tilada. La preparación del nutrimento está descrita
en Journal of Invertebrate Pathology, 7, No. 2, páginas
217-226 (Junio de 1965).

EJEMPLO 6:

Se repite el procedimiento de secado con
10 pulverización del Ejemplo 3 empleando una mezcla
acuosa con la composición siguiente:

8 % de preparación de virus, bruta (H.zea)
incluyendo algo de detritus celular
que pasa a través de un tamiz de malla
15 100,

56 % de soja K (polvo de soja desgrasado)

30 % de Attaclay (una arcilla de Attapulcus
obtenida de Engelhart Minerals and
Chemical Co.)

20 y 6 % de dihidrogenfosfato de potasio, junto
con agua para formar una mezcla con un contenido sólido
del 20 % por peso. Las partículas resultantes son
duras, humectables, poseen las propiedades de adhesión
necesarias y tienen una DL₅₀ de 0,10 ± 0,10 micro-

gramos/mililitro.

Por lo general, la masa en partículas, recién preparada, proporcionada por la invención tiene un contenido de humedad de 3% a 10% por peso, más generalmente de 4% a 8%, por razón del secado con pulverización a partir de la mezcla acuosa. El secado con pulverización de tales composiciones también permite la preparación de una composición insecticida viral caracterizada por una ausencia esencial de disolventes orgánicos y las composiciones más preferidas conteniendo proteína vegetal y/o arcilla generalmente proporcionan partículas individuales caracterizadas por ser esféricas en su forma. La composición preferida, con ciertas excepciones limitadas representadas solamente por la arcilla Georgia Kaoline, se caracteriza por la propiedad altamente deseable de la integridad en agua tal como puede comprobarse en el ensayo de dureza de la partícula previamente descrito.

Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarse en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle, en cuanto no alteren su principio fundamenta.

REIVINDICACIONES

=====

5 1. Procedimiento para la producción de una composición insecticida viral, caracterizado porque se seca con pulverización una mezcla acuosa que contiene de 0,1 a 35 partes en peso de un insecticida viral y de 65 a 99,9 partes en peso de un material matriz seleccionado entre material proteico inerte y/o arcilla, constituyendo el insecticida viral y material matriz del 3 al 35% en peso de la mezcla acuosa.

10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la mezcla acuosa para alimentar el secador se seca con pulverización a una temperatura de entrada de 77° a 182°C.

15 3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque la mezcla acuosa se seca con pulverización a una temperatura de salida de 49° a 138°C.

4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 2 y 3, caracterizado porque la diferencia entre la temperatura de entrada y de salida es de 4,44° a 82°C.

20 5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque la mezcla acuosa se seca con pulverización a una presión de 34 a 306 atmósferas.

6. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la mezcla acuosa se seca con pulverización en un flujo de gas calentado, concurrente.

25 7. Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado porque el tiempo de exposición a temperaturas de 71°C y

superiores durante el secado con pulverización es de menos de 3 segundos.

5 8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el pH de la mezcla acuosa queda dentro del alcance de 5,5 a 8.

9. Procedimiento según la reivindicación 8, caracterizado porque dicho pH queda dentro del alcance de 6,0 a 7,5.

10 10. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 8 ó 9, caracterizado porque dicho pH es controlado por la incorporación de un fosfato inorgánico hidrosoluble.

11. Procedimiento según la reivindicación 10, caracterizado porque la cantidad de dicho fosfato es de 1 a 12% del peso del insecticida viral.

15 12. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la matriz se compone de una mezcla de proteínas vegetal y arcilla.

13. Procedimiento según la reivindicación 12, caracterizado porque la proporción en peso de proteína y arcilla es de 0,1 a 10 : 1.

20 14. Procedimiento según la reivindicación 13, caracterizado porque la proporción en peso de proteína y arcilla es de 0,3 a 4 : 1.

25 15. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el material proteico es soja desgrasada.

16. Procedimiento según cualquiera de las reivindi-

aciones precedentes, caracterizado porque la arcilla es arcilla de Attapulgius.

5 17. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el insecticida viral es un insecticida de virus de poliedrosis nuclear.

18. Procedimiento según la reivindicación 17, caracterizado porque el insecticida viral es el insecticida de virus de poliedrosis nuclear de Heliothis zea.

10 19. Procedimiento según la reivindicación 10, caracterizado porque el fosfato inorgánico hidrosoluble es dihidrogenfosfato de potasio.

15 20. "Procedimiento para la producción de un composición insecticida viral", tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 30 hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 11 AGO. 1977

20

SANDOZ, A.G.

J. M. GOMEZ ASESO Y POMELO
p. p. Firmado: J. Susaeta Diaz

