



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 366 205**

51 Int. Cl.:

C02F 1/50 (2006.01)

C02F 1/68 (2006.01)

C02F 1/76 (2006.01)

C02F 1/72 (2006.01)

D21C 9/16 (2006.01)

C02F 103/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02758755 .9**

96 Fecha de presentación : **05.08.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1425247**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.06.2004**

54

Título: **Control del desarrollo de biopelículas en aguas de procesos industriales.**

30

Prioridad: **06.08.2001 US 310623 P**
02.08.2002 US 211965

73

Titular/es: **A.Y. Laboratories Ltd.**
P.O. Box 20686
Tel Aviv 61206, IL

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.10.2011

72

Inventor/es: **Barak, Ayala**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.10.2011

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 366 205 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Control del desarrollo de biopelículas en aguas de procesos industriales

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al control del desarrollo de biopelículas en aguas de procesos industriales y líneas de suministro de agua.

Antecedentes

10 Con frecuencia se observa que los recipientes que llevan aguas industriales, tales como recipientes de proceso, tuberías, depósitos de almacenamiento de aguas de proceso, tanques de aditivos, filtros, tuberías de suministro de agua o tuberías de aguas residuales, etc., tienen una masa en crecimiento que cubre una o más superficies del recipiente que contiene agua donde las superficies están en contacto con el agua. Esta masa en crecimiento realmente es una biopelícula, una colección de microorganismos incluidos en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares y diversos compuestos orgánicos e inorgánicos. En los últimos años, la naturaleza de estas biopelículas ha sido el centro de atención entre investigadores tanto académicos como industriales.

15 Aunque las biopelículas pueden contener una sola especie de microorganismo, típicamente las biopelículas comprenden no sólo diferentes especies de microorganismos, sino diferentes tipos de microorganismos, por ejemplo algas, protozoos, bacterias y otros. Se ha descubierto que una de las características específicas de las biopelículas es que los microorganismos que contienen actúan cooperativa o sinérgicamente. De esta manera, por ejemplo, se observa que la actividad de ciertas enzimas producidas por bacterias que están adheridas a una superficie es mucho mayor que la actividad correspondiente de las mismas enzimas producidas por esas bacterias en forma planctónica, es decir, cuando flotan libremente (David G. Davies, en "Microbial Extracellular Polymeric Substances", Springer-Verlag 1999; Editores: J. Wingender, T.R. New, H.C. Flemming, en lo sucesivo "Wingender y col."). Los estudios comparativos de actividades enzimáticas en bacterias planctónicas y bacterias adheridas a superficies sólidas que están en contacto con el agua han mostrado que la actividad enzimática en las bacterias adheridas es mayor que en bacterias planctónicas (M. Hoffman y Alan W. Decho en Wingender y col.). La comunicación dentro de las biopelículas microbianas es responsable de la inducción y regulación de las actividades de la biopelícula, incluyendo, por ejemplo, la biosíntesis de enzimas extracelulares, el desarrollo de la biopelícula, la biosíntesis de antibióticos, la producción de biosurfactante, la síntesis de exo-polisacáridos y más, implicando todas ellas una actividad bioquímica compleja (Alan W. Decho en Wingender y col.). También se ha observado un intercambio de material genético entre los microorganismos de las biopelículas. Empíricamente se ha descubierto que, en un entorno dado de aguas industriales, los microorganismos que viven en una biopelícula están mejor protegidos de los biocidas que los microorganismos que viven fuera de una biopelícula. De esta manera, colectivamente los microorganismos incluidos en una biopelícula presentan características que son diferentes de las características que se presentan por un número similar de microorganismos planctónicos.

35 Al actuar de forma cooperativa, una colección de microorganismos actúa como una comunidad microbiana: puede construir una matriz formada de material inorgánico y orgánico y de esta manera formar y mantener una biopelícula. Como los microorganismos son organismos unicelulares que crecen y se multiplican, los microorganismos de una biopelícula deben reponer continuamente la matriz que los rodea, expandir la matriz y mantener la matriz. Este proceso puede asemejarse a un grupo de personas que actúan conjuntamente para construir una serie contigua de casas para sí mismos, y que después no sólo mantienen las casas existentes, sino que también añaden casas adicionales para acomodar el crecimiento de la población, construyendo de forma contigua horizontalmente o añadiendo nuevas casas verticalmente sobre las casas existentes.

45 Como los científicos saben bien en este momento, el comportamiento cooperativo entre los microorganismos de las biopelículas se induce por la comunicación entre los microorganismos. Por ejemplo, las homoserina lactonas juegan un papel importante en la comunicación entre las bacterias. La matriz polimérica extracelular de una biopelícula parece presentar un medio eficaz para la comunicación química y de esta manera promover una comunicación más eficaz entre microorganismos individuales incluidos en la biopelícula.

50 Como los microorganismos de las biopelículas son más eficaces que los microorganismos planctónicos para producir enzimas, se ha mostrado mucho interés en el desarrollo de biopelículas para realizar reacciones químicas. Sin embargo, en el contexto de los recipientes que contienen aguas de proceso e industriales, tales como conductos, tanques de agua y similares, esta propensión a producir enzimas, y de forma más importante la tendencia de las biopelículas a formar biomasa pesada en la superficie del recipiente, puede ser extremadamente perjudicial. Según crece la biopelícula, se puede reducir el diámetro eficaz de una tubería u otro conducto en un punto particular a lo largo de la trayectoria del agua o aumentar la fricción a lo largo de la trayectoria de flujo en el conducto, aumentando de esta manera la resistencia al flujo de agua a lo largo del conducto, reduciéndose el flujo de agua a su través, aumentando el consumo de energía en las bombas que impulsan o extraen el agua a través del conducto, y reduciendo la eficacia de operaciones industriales.

Las biopelículas también deterioran la calidad de diversos productos químicos y aditivos de proceso. Por ejemplo, en la industria papelera, las biopelículas causan el deterioro de productos químicos tales como lechadas de almidón y

carbonato cálcico que se añaden a las masas de pasta en los procesos de la parte húmeda (K. Jokinen en "Papermaking Chemistry", Parte 4, 1999, Ed. Fapet Oy). Los microorganismos también son responsables de la degradación del peróxido de hidrógeno en sistemas de blanqueo y destintado (J. F. Kramer, MP Chemical Treatment, agosto 1997, págs. 42-50). Por lo tanto, la presencia de enzimas de degradación de H₂O₂ en molinos de destintado y blanqueo necesita el suministro de mayores cantidades de peróxido de hidrógeno que las que serían necesarias en caso contrario para satisfacer los criterios de blanqueo prefijados, con lo que se aumentan los costes de producción.

Las biopelículas también pueden producir una corrosión severa de las tuberías y recipientes, y pueden producir problemas severos en las máquinas de papel y cartón, y, entre otras cosas, pueden producir un deterioro de la calidad del papel terminado, olores desagradables y problemas graves de comportamiento del papel.

En la técnica anterior se han descrito diversos procedimientos para controlar las biopelículas en la industria. Un enfoque ha sido destruir físicamente la biopelícula por medios mecánicos, por ejemplo, por raspado o por sonicación. Por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 4.419.248 de Costerson describe un procedimiento para retirar biopelículas de una superficie sumergida en agua. El procedimiento incluye enfriar la superficie por debajo del punto de congelación del agua para generar de esta manera cristales de hielo grandes y afilados en la biopelícula. La biopelícula congelada después se descongela y se retira de la superficie, por ejemplo, haciendo fluir un líquido por toda la superficie. Sin embargo, este enfoque con frecuencia es poco práctico, ya que el sitio en el que crece la biopelícula puede ser inaccesible y/o puede requerirse la interrupción de operaciones industriales para alcanzar la biopelícula.

Otro enfoque ha sido destruir físicamente la biopelícula por medios químicos, por ejemplo, mediante el uso de agentes tensoactivos y detergentes que hacen que se fragmente la matriz de la biopelícula. Por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 5.753.180 de Burger describe un procedimiento no biocida para inhibir la corrosión microbiana de superficies metálicas susceptibles que tienen una biopelícula anaerobia que contiene bacterias reductoras de sulfato activo, que comprende poner en contacto la biopelícula con una dispersión líquida de un compuesto de antraquinona. La Patente de Estados Unidos Nº 6.149.822 de Fabri, que incluye las enseñanzas del documento EP0 517 102 A1 citado en la misma, describe un procedimiento tanto para retirar como para controlar biopelículas presentes en aguas de proceso y de refrigeración industrial. El procedimiento proporciona una composición que incluye los productos de reacción de una base de amino, formaldehído, una alquilenopoliamina y la sal de amonio de un ácido inorgánico u orgánico. La composición puede usarse para retirar biopelículas existentes de equipos de aguas de proceso. Pueden usarse dosificaciones de mantenimiento menores adicionales para mantener el equipo en un estado sustancialmente sin biopelícula. La Patente de Estados Unidos Nº 5.670.055 de Yu y col. describe un procedimiento para dispersar biopelículas en aguas de procesos industriales, que comprende añadir una cantidad eficaz para dispersar biopelículas de alquibenceno sulfonato lineal a aguas de procesos industriales que contienen bacterias formadoras de depósitos microbiológicos y otros microorganismos. Una realización alternativa de la invención de Yu y col. comprende añadir un compuesto seleccionado del grupo de biocidas citados en dicho documento, junto con un agente para dispersar biopelículas de una lista citada también en dicho documento. La Patente de Estados Unidos Nº 5.882.916 de Wiersma describe un procedimiento de descontaminación para reducir la tensión superficial de una biopelícula, que permite la eliminación de la biopelícula y el control de las bacterias que la sustentan. De acuerdo con la invención de Wiersma, una solución que consiste en saponina y un ácido blando tal como lactato sódico de calidad alimentaria se pone en contacto con la biopelícula. La saponina actúa como agente espumante, proporcionando una reducción de la tensión superficial capaz de soltar la biopelícula.

En la técnica se conocen enfoques en los que la matriz de la biopelícula se degrada por enzimas que se suministran externamente. Por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 6.100.080 de Johansen describe un procedimiento para limpiar y desinfectar una superficie cubierta al menos parcialmente por una capa de biopelícula, que comprende las etapas de poner en contacto la biopelícula con una composición limpiadora que comprende una o más hidrolasas, para liberar o retirar completa o parcialmente la capa de biopelícula de la superficie; y poner en contacto la biopelícula con una composición desinfectante bactericida que comprende una oxidorreductasa en una cantidad eficaz para destruir las células bacterianas vivas presentes en la biopelícula. El ataque con enzimas externas conduce a una pérdida de actividad y a cambios en las propiedades de la biopelícula. Dichos enfoques impiden la capacidad de los microorganismos de mantener o expandir la matriz. Sin embargo, dichos enfoques tienen varios inconvenientes, por ejemplo, el tratamiento puede ser demasiado específico y los resultados pueden variar en diferentes sitios, o el tratamiento puede no ser eficaz en cuanto al coste.

Una dificultad adicional con la que se enfrenta el control de biopelículas de acuerdo con la técnica anterior es que la matriz de la biopelícula se descompone, y normalmente se liberan células viables en el agua. Dichas células viables pueden empezar una nueva biopelícula. De forma similar, la descomposición de la matriz de la biopelícula puede conducir a la liberación de enzimas en el agua, que puede afectar a los procesos industriales que se estén realizando.

A este respecto pueden ser útiles los biocidas. El uso de biocidas para tratar bacterias planctónicas en aguas de procesos industriales se conoce en la técnica. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos del propio inventor Nº 5.976.386 y 6.132.628, cuyos contenidos se incorporan en la presente memoria por referencia, o la Patente de Estados Unidos Nº 5.882.526 de Brown y col., que describe un procedimiento para tratar aguas

reguladas usando una combinación de oxidante que contiene halógeno, un agente de control de la erosión, peróxido de hidrógeno y un estabilizador de peróxido de hidrógeno. Más recientemente se han usado biocidas con la intención de controlar las biopelículas. Este objetivo algunas veces se ha conseguido combinando una técnica de degradación de biopelículas, tal como el suministro de enzimas que degradan biopelículas o la eliminación física de las biopelículas, con la aplicación de un biocida que permite el mantenimiento de un bajo número de microorganismos planctónicos en el agua de proceso. Por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 5.789.239 de Eyers y col. describe el uso de (a) al menos una enzima de un grupo definido para degradar la biopelícula y (b) un glicol de cadena corta como biocida para evitar y/o retirar la biopelícula de las superficies. La Patente de Estados Unidos N° 4.966.716 de Favstritsky y col. describe un procedimiento para controlar el crecimiento de microorganismos que reducen la eficacia de los sistemas de recirculación de agua, que comprende introducir en dichos sistemas una cantidad biocidamente eficaz de un perhaluro soluble en agua. El perhaluro primero se introduce en cantidades suficientes para destruir los microorganismos en las superficies de formación de películas del sistema. Posteriormente, la concentración de perhaluro amónico orgánico se mantiene a un nivel suficiente para reducir sustancialmente el nuevo crecimiento de dichos microorganismos.

Como alternativa, se han usado biocidas par controlar microorganismos incluidos en biopelículas, es decir, para erradicar los propios microorganismos dentro de la matriz de la biopelícula. Específicamente, se reivindicó que las monocloroaminas (MCA) y el cloro libre (CL) mostraban una eficacia similar en la desinfección de las bacterias de la biopelícula (M.W. LeChevallier y col., *Applied and Environmental Microbiology*. págs. 2492-2499, 1988; T.S. Rao y col., *Biofouling* 12(4) págs. 321-332, 1998). La dificultad con este enfoque, como se ha indicado anteriormente, es que empíricamente se ha descubierto que la erradicación de microorganismos de las biopelículas requiere concentraciones de biocidas que son varias veces mayores que las concentraciones de biocidas necesarias para erradicar microorganismos planctónicos, que se requieren largos tiempos de contacto entre los microorganismos de la biopelícula y el biocida, o que se requiere la aplicación continua de biocidas. Esto aumenta el coste del tratamiento y puede exponer a los trabajadores a mayores riesgos por los biocidas de lo que sería deseable o permisible. También supone un mayor riesgo para el medio ambiente.

También se conocen en la técnica enfoques para el control de biopelículas utilizando combinaciones de los procedimientos anteriores. Estos enfoques de combinación, que están diseñados para solucionar problemas que se producen durante la puesta en práctica de cada enfoque por separado, también pueden tener algunos de los inconvenientes descritos anteriormente. Por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 6.106.854 de Belfer describe una composición desinfectante aséptica en forma líquida que tiene propiedades germicidas y limpiadoras de biopelículas que comprenden un agente anti-infeccioso, antiséptico y un agente anti-biopelícula para destruir organismos, un agente de purificación de agua para actuar como detergente, un desinfectante y un bactericida, un agente limpiador para actuar como astringente y abrasivo en la eliminación de la biopelícula de superficies contaminadas y como bactericida y fungicida, un agente antioxidante y estabilizante, un agente de lavado para actuar como abrasivo y un limpiador para la eliminación de la biopelícula de superficies contaminadas, al menos un agente para ajustar el pH para acidificar la composición desinfectante y un diluyente en el intervalo del 35,0% al 50,0% en peso de la composición desinfectante. Barbeau y col., en la Publicación de Patente PCT N° WO 00/27438, describe una composición para retirar biopelículas. Esta composición comprende como mínimo un detergente, una sal o un ácido formador de sal, y un bactericida.

En la Patente de Estados Unidos N° 5.885.412 de Paart y col. se describe un procedimiento y composición para suprimir o inhibir la acción de descomposición de enzimas sobre el peróxido de hidrógeno durante el blanqueo de fibras de celulosa con peróxido de hidrógeno de tal forma que los microorganismos no se ven afectados sensiblemente. La composición contiene hidroxilamina, sales tiocianato, ácido fórmico, ácido ascórbico o nitritos. Se sugiere que el uso de una o más de estas sustancias reprime o inhibe la descomposición del peróxido de hidrógeno por enzimas tales como peroxidasa y catalasas, pero no afecta a los microorganismos.

Un procedimiento más reciente para prevenir el crecimiento de biopelículas ha sido interferir con y prevenir la comunicación química entre células de la biopelícula, por ejemplo, utilizando antagonistas de homoserina lactonas. Como en la historia bíblica de la Torre de Babel, dichos enfoques rompen directamente la comunicación entre los microorganismos contenidos en la biopelícula, obstaculizando de esta manera la capacidad de los microorganismos de coordinar sus acciones para reponer, expandir y mantener la matriz, y finalmente conduciendo a la descomposición de la matriz. Por ejemplo, Rycroft y col. en la Publicación de Patente PCT N° WO 99/27786 describe compuestos que pueden usarse en el tratamiento o prevención de una infección bacteriana en seres humanos o en animales controlando la colonización de las bacterias. Los compuestos pueden emplearse para retirar biopelículas de superficies. Davies y col. en la Publicación de Patente PCT N° WO 98/58075 describen un procedimiento para controlar la formación, persistencia y dispersión de biopelículas microbianas aprovechando los procesos naturales de comunicación célula-célula de las bacterias. Como ocurre con el tratamiento por enzimas extracelulares, el tratamiento de biopelículas en aguas industriales usando antagonistas de homoserina lactonas puede ser demasiado específico, puede producir resultados variables en diferentes sitios o puede no ser eficaz en cuanto al coste.

Se conocen los siguientes documentos adicionales de la técnica anterior: el documento WO 0153216 desvela un procedimiento para desactivar una biopelícula, con lo que la erradicación completa es una alternativa.

El documento DE 3741583 A1 desvela un procedimiento para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie de equipos en una fábrica de papel.

El documento WO 9826807 desvela un procedimiento para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie de equipos en entornos de aguas industriales.

5 La presente invención pretende proporcionar un procedimiento para controlar el desarrollo de biopelículas. La presente invención se basa en la sorprendente observación de que los biocidas de las Patentes de Estados Unidos N° 5.976.386 y 6.132.628 del propio inventor, cuyos contenidos se incorporan en la presente memoria por referencia, inesperadamente controlan el desarrollo de biopelículas a una velocidad de suministro y de acuerdo con un régimen de suministro que son insuficientes para producir la destrucción significativa de los microorganismos incluidos en las biopelículas. La velocidad de suministro y el régimen de suministro inesperadamente bajos pueden usarse para mantener superficies sin biopelículas, para retirar las biopelículas existentes.

15 Además, la presente invención permite operaciones industriales que implican aguas de proceso, tales como plantas de blanqueo o destintado de papel, para que funcionen más eficazmente, por ejemplo, reduciendo la cantidad de peróxido que se requiere durante el blanqueo o destintado, reduciendo la frecuencia de limpieza por ebullición, es decir, la limpieza de la maquinaria de fabricación de papel con calor y agua cáustica, y reduciendo el tiempo de inactividad debido a la limpieza por ebullición y otras operaciones de limpieza. La presente invención también permite la optimización de procesos industriales que utilizan agua, incluyendo la química de la parte húmeda de procesos industriales de fabricación de papel, controlando el desarrollo de biopelículas sobre las superficies de fibras, partículas suspendidas y aditivos. El presente inventor ha reconocido que el crecimiento de biopelículas en las superficies de fibras y partículas suspendidas puede interferir con la unión de dichas fibras o partículas, dando como resultado defectos o una menor calidad en el papel resultante.

Sumario de la invención

De esta manera, de acuerdo con la invención se proporciona un procedimiento para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, como se menciona en la reivindicación 1.

25 En las reivindicaciones dependientes de la reivindicación 1 se definen realizaciones de la invención.

Descripción detallada de realizaciones preferidas

La invención se describe más particularmente con respecto a varios ejemplos expuestos más adelante, y también con respecto a los dibujos adjuntos, en los que:

30 La FIG. 1 es un diagrama de bloques que ilustra una forma de aparato construido y operativo para permitir la puesta en práctica de la presente invención;

La FIG. 2 es un diagrama de bloques similar que ilustra otro aparato construido y operativo para permitir la puesta en práctica de la presente invención;

La FIG. 3 es un gráfico de la diferencia entre el coeficiente de Hazen-Williams en una tubería tratada de acuerdo con la presente invención y una tubería de control no tratada;

35 La FIG. 4 es un gráfico que compara las diferencias entre tuberías tratadas con una sustancia inhibidora de biopelícula, cloramina y una tubería de control no tratada.

40 La FIG. 5 es un gráfico que muestra la incidencia en agujeros y manchas en el papel después del inicio de la aplicación intermitente de una sustancia inhibidora de biopelícula a una biopelícula que crece en una máquina de fabricación de papel, de acuerdo con la presente invención, en la que la máquina no se limpió antes del tratamiento;

La FIG. 6 es un gráfico que muestra la incidencia de agujeros y manchas en el papel después de la limpieza de la máquina de fabricación de papel y después de continuar la aplicación intermitente de una sustancia inhibidora de biopelícula de acuerdo con la presente invención;

45 La FIG. 7 es un gráfico que muestra el número de tipos diferentes de células viables en una máquina de fabricación de papel en respuesta a la aplicación intermitente de una sustancia inhibidora de biopelícula, de acuerdo con la presente invención; y

La FIG. 8 es un gráfico que muestra el efecto de la adición de una sustancia inhibidora de biopelícula sobre la retención de fibras en una máquina de fabricación de papel.

50 Se entenderá que la expresión "factor de trabajo" se refiere a la relación entre (a) el periodo de tiempo durante el que se administra la sustancia inhibidora de biopelícula o la sustancia inhibidora de la producción de enzimas a una colección de microorganismos que tienen potencial de desarrollo de biopelícula y (b) el periodo de tiempo durante el cual dicha sustancia no se administra a una colección de microorganismos que tienen potencial de desarrollo de

biopelícula o potencial de desarrollo de enzimas. En una realización preferida de la presente invención, la sustancia inhibidora de biopelícula o la sustancia inhibidora de la producción de enzimas se inyecta de forma continua según se produce en agua que comunica con una colección de microorganismos que tienen potencial de desarrollo de biopelícula. En relación con esta realización preferida de la invención, se entenderá que la expresión “factor de trabajo” significa la relación entre (a) el periodo de tiempo durante el cual se inyecta continuamente la sustancia inhibidora de biopelícula o sustancia inhibidora de la producción de enzimas según se produce en agua que comunica con una colección de microorganismos que tienen potencial de desarrollo de biopelícula o potencial de desarrollo de enzimas y (b) el periodo de tiempo durante el cual dicha sustancia no se inyecta en agua que comunica con una colección de microorganismos que tienen potencial de desarrollo de biopelícula o potencial de desarrollo de enzimas. De esta manera, si se inyecta una sustancia inhibidora de biopelícula en el agua de proceso durante tres horas una vez cada tres días para inhibir el desarrollo de biopelícula, el factor de trabajo es 1:23.

En el contexto de esta solicitud de patente, la expresión “exceso de base que corresponde al menos a un 10% de NaOH” significa una solución que contiene el equivalente de más de 2 moles de NaOH por mol de Cl₂, calculado en base a la formación de NaOCl a partir de Cl₂ y NaOH de acuerdo con la ecuación:



de forma que la solución contiene un exceso de NaOH, y la cantidad total de NaOH, calculada como la suma de NaOH libre y NaOH representado por NaOCl, es de al menos un 10%.

En el contexto de la presente solicitud de patente se entenderá que la expresión “química de la parte húmeda” es como se define en el Handbook of Pulp and Paper Terminology de G.A. Smook, Cegep de Trois-Rivieres, 1990. Smook define la química de la parte húmeda como “Química física y de superficie de finos y aditivos y su interacción con fibras”.

En el contexto de la presente solicitud de patente, se entenderá que la expresión “una colección de microorganismos adheridos a una superficie” no implica que todos y cada uno de los microorganismos que forman parte del conjunto estén necesariamente adheridos de forma directa a la superficie. Por ejemplo, una colección de microorganismos que tiene varias células de espesor puede tener una primera capa de células que están unidas directamente a la superficie, y varias capas adicionales de células apiladas sobre la capa inferior. De forma similar, los microorganismos en una biopelícula no necesariamente contactan con la superficie a la que está adherida la biopelícula, sino que están incluidos en la matriz de la biopelícula. Para los fines de la presente solicitud de patente, dicha colección de microorganismos también se considera una colección de microorganismos adheridos a una superficie.

Se entenderá que la frase “desarrollo de una biopelícula” incluye tanto la creación de una biopelícula desde el principio por una colección de microorganismos como el mantenimiento o expansión de una biopelícula existente por una colección de microorganismos.

En el contexto de la presente solicitud de patente, “superficie duradera” se refiere a una superficie de un aparato de un proceso industrial, tal como la superficie de una tubería, recipiente de agua u otro recipiente, que no se consume durante la producción y que está en contacto con el agua de proceso. “Superficie consumible” se refiere a una superficie, tal como la superficie de fibras o partículas suspendidas presentes en las aguas de proceso, que durante el ciclo de producción puede consumirse y salir del aparato, por ejemplo, como un producto de papel.

Dependiendo del tipo de proceso industrial, las superficies consumibles pueden estar presentes en el aparato durante significativamente menos tiempo que las superficies duraderas, en cuyo caso la frecuencia de tratamiento o el factor de trabajo puede determinarse por la frecuencia o factor de trabajo necesario para tratar las superficies duraderas.

Por el contrario, en algunos procesos:

(a) pueden estar presentes superficies consumibles en el aparato del proceso durante periodos de tiempo relativamente prolongados, por ejemplo, en casos en los que parte del agua de proceso se recicla de nuevo a la corriente del proceso.

(b) las superficies consumibles pueden revestirse con productos químicos de la parte húmeda de los cuales pueden alimentarse los microorganismos,

(c) el agua de proceso puede contener una concentración relativamente alta de superficies consumibles (partículas y/o fibras) o

(d) es probable que precipiten las partículas o fibras que llevan las superficies consumibles.

En estos casos, la frecuencia o factor de trabajo se determinará por la frecuencia o factor de trabajo necesario para tratar las superficies consumibles.

Particularmente con respecto a las situaciones (c) y (d), se indica que en la fabricación de papel, las fibras se transforman en papel revistiendo una malla de plástico o de alambre con una lámina de suspensión que contiene una mezcla de fibras, pigmentos y productos químicos, como es bien conocido en la técnica de fabricación del papel,

y después mediante una serie de etapas la lámina se seca hasta un contenido de agua de aproximadamente un 8%. “Retención” se define por Smook en la pág. 191 como la cantidad de cualquier material de fabricación de papel que queda retenido en el proceso de formación de papel, normalmente expresada como un porcentaje de lo que se añadió inicialmente. De esta manera, cuanto mayor es el porcentaje de fibras que quedan retenidas por la malla, mayor es la “retención” del proceso de fabricación de papel. Una retención del 90% se considera excelente; una retención del 50% se considera deficiente. Las fibras que no pasan a ser parte de la lámina de papel se reciclan para un uso posterior.

En máquinas de fabricación de papel que tienen una retención baja o deficiente, la concentración de fibras en ciertas partes de la maquinaria puede ser mayor que en máquinas que tienen una buena retención. Además, como las fibras tienen una relación grande entre área de superficie y masa, y como las fibras usadas en la fabricación de papel son porosas, al aumentar adicionalmente la relación entre área de superficie y masa la superficie total presentada por las fibras (que en el contexto de la presente solicitud constituye superficies consumibles) puede exceder con mucho la superficie total presentada por la propia maquinaria. Además, debido al reciclado de las fibras, el tiempo eficaz durante el que algunas de las fibras están presentes en la máquina de fabricación de papel puede ser del orden de horas o incluso días.

Por consiguiente, sin desear quedar ligado a ninguna teoría particular, el inventor cree que existen oportunidades para que se formen biopelículas en las superficies de las fibras de las que está hecho el papel, y que la presencia de dichas biopelículas puede tener un efecto perjudicial sobre la producción de papel, ya que la capacidad de las fibras de adherirse entre sí es crucial para la formación de papel de una calidad aceptable, y la presencia de biopelículas en las fibras interfiere con dicha adherencia. Una mala adherencia entre las fibras también aumenta la probabilidad de que precipiten dichas fibras. Además, se cree que el problema de la formación de biopelículas sobre las fibras puede exacerbarse mediante el uso de ciertos productos químicos, tales como almidón o azúcar en la química de la parte húmeda del proceso de fabricación de papel, ya que estos productos químicos pueden promover el crecimiento de biopelículas sobre las fibras.

El aparato ilustrado en la FIG. 1 proporciona una sustancia inhibidora de biopelículas a una colección de microorganismos I adheridos a una superficie localizada en una localización denominada esquemáticamente 2 en el dibujo. La localización puede ser, por ejemplo, un conducto que lleva agua o parte de una máquina de fabricación de papel, y la superficie puede ser una superficie duradera o una superficie consumible, como se ha definido anteriormente en la presente memoria. La sustancia inhibidora de biopelículas se aplica al grupo de microorganismos 1 introduciendo la sustancia inhibidora de biopelículas en un líquido 3, tal como agua, que está en comunicación con el grupo de microorganismos 1. La sustancia inhibidora de biopelículas se forma mezclando *in situ* dos soluciones, particularmente una solución oxidante, preferentemente una solución de hipoclorito, dentro de un depósito 4, y una solución de fuente de amina, preferentemente una solución de sal de amonio, dentro de un depósito 6.

Como se muestra en la FIG. 1, se suministra agua, por ejemplo agua corriente desde una fuente 8 a través de una tubería de agua 10 a través de un par de líneas de ramificación 12, 14, conectadas en paralelo entre sí, a una mezcladora 21 que alimenta a una tubería de salida común 16 que conduce al líquido 3 en la localización 2. Cada una de las dos líneas de ramificación paralelas 12, 14 incluye un tubo de venturi 18, 20 que tiene un orificio de entrada 18a, 20a, conectado a la línea de ramificación respectiva 12, 14, y un orificio de salida 18b, 20b, conectado a una mezcladora 21 que conecta con la línea de salida común 16 que conduce al líquido en comunicación con el grupo de microorganismos. Cada uno de los tubos de venturi 18, 20 incluye un tercer orificio 18c, 20c que conduce al depósito 4, 6 de la solución respectiva a añadir al agua que fluye a través de la línea de salida 16.

De esta manera, los dos tubos de venturi 18, 20 constituyen bombas de dosificación que inyectan de forma continua y sincrónica tanto la solución oxidante del depósito 4 como la solución de fuente de amina del depósito 6, en el agua procedente de la fuente 8 en proporciones que están predeterminadas para la formación óptima de la sustancia inhibidora de biopelícula. Estos dos productos químicos se mezclan en la mezcladora 21 y reaccionan entre sí en la mezcladora 21 que alimenta a la tubería de salida 16, de forma que el producto de reacción, particularmente la sustancia inhibidora de biopelícula producida por la reacción de estos dos productos químicos, se introduce en el líquido 3 según se produce *in situ*.

Las dos líneas de ramificación 12, 14 para los dos tubos de venturi 18, 20 incluyen válvulas de control 22, 24 que permiten controlar el caudal del agua a través de los dos tubos de venturi 18, 20. Las líneas 26, 28 que conectan los dos depósitos 4, 6 a sus respectivos tubos de venturi 18, 20 también incluyen válvulas, mostradas en 30, 32, para controlar la dosificación de los productos químicos en el agua que pasa a través de los tubos de venturi. Estas últimas válvulas también permiten que el suministro de productos químicos se termine al final de la introducción de la sustancia inhibidora de biopelícula, de forma que el flujo continuado del agua a través de las líneas de ramificación 12, 14, la mezcladora 21 y la línea de salida 16 retire mediante lavado cualquier residuo de estos productos químicos, o sus productos de descomposición, y de esta forma evite la acumulación de productos de descomposición que pueden formarse al final de cada ciclo de producción de sustancia inhibidora de biopelícula en la línea de salida 16 o en la mezcladora 21.

El control de las válvulas anteriores se realiza por un sistema de control, ilustrado esquemáticamente por el bloque

40. El pH de la sustancia inhibidora de biopelícula se reduce según se descompone la sustancia inhibidora de biopelícula. Por lo tanto, la línea de salida 16 también puede incluir y preferentemente incluye un sensor de pH 47 para detectar el pH de la sustancia inhibidora de biopelícula, y controlar el sistema de control 40 en respuesta al mismo.

5 El sistema de control 40 también controla el suministro del agua desde la fuente 8 a través de una válvula eléctrica 48. El sistema de control 40 puede controlar además una alarma 50 u otro dispositivo de señalización. El sistema ilustrado puede incluir además un cronómetro 52 que se puede preestablecer para fijar tanto los periodos de tiempo durante los cuales la sustancia inhibidora de biopelícula se va a suministrar a través de la línea de salida 16 al agua que comunica con el grupo de microorganismos, como los intervalos de tiempo entre dichos suministros de la sustancia inhibidora de biopelícula.

10 La línea de suministro de agua 10 desde la fuente de agua 8 a las dos líneas de ramificación 12, 14 puede incluir dispositivos de control adicionales. Con fines ilustrativos, los dibujos adjuntos ilustran esquemáticamente los siguientes dispositivos de control adicionales: una válvula de control manual 53, que permite el control manual del flujo de agua desde la fuente 8; un reductor de presión 54 para reducir la presión desde la fuente; un sensor de presión 56 que también puede usarse como entrada al sistema de control 40; un medidor de flujo 58 para indicar el caudal o el volumen de flujo; un manómetro 60 para indicar la presión en la línea 10; una válvula de alivio de presión 62; y una válvula de una vía 64.

15 Preferentemente, los dos tubos de venturi 18, 20 y sus controles están diseñados para suministrar de forma sincrónica los mismos volúmenes de soluciones desde las dos fuentes 4, 6 aunque las viscosidades de las dos soluciones pueden ser diferentes. El sistema ilustrado funciona a una presión de agua predeterminada constante y a una relación constante de dilución predeterminada de las dos soluciones en el agua que pasa a través de las líneas de ramificación 12, 14, a través de los dos tubos de venturi 18, 20. Cada uno de estos parámetros puede controlarse como se ha descrito anteriormente de forma que las soluciones de las dos fuentes 4, 6 se inyecten de forma simultánea y sincrónica en las proporciones predeterminadas deseadas entre sí, y también con respecto al agua que fluye a través de los tubos de venturi 18, 20 desde la fuente 8.

20 Como se ha indicado anteriormente, la solución del depósito 4 es una solución oxidante, y la solución que está dentro del depósito 6 es una solución de fuente de amina. Preferentemente, esta última es una solución de una sal de amonio, preferentemente bromuro amónico o cloruro amónico o una mezcla de los mismos, más preferentemente bromuro amónico. La solución oxidante preferentemente es una solución de hipoclorito cálcico o hipoclorito sódico, más preferentemente hipoclorito sódico. Preferentemente, la sustancia inhibidora de biopelícula es cloramina activada con bromuro.

25 Preferentemente, la sustancia inhibidora de biopelícula tiene un pH de al menos 8,5, preferentemente al menos 9,5, justo antes de su inyección en el líquido 3. Preferentemente, la sustancia inhibidora de biopelícula se inyecta a una velocidad para mantener en la sustancia inhibidora de biopelícula un pH estable de al menos 8,5.

35 La FIG. 2 ilustra otro aparato, construido y operativo para proporcionar una sustancia inhibidora de biopelícula de acuerdo con una realización preferida de la invención. El aparato mostrado en la FIG. 2 es similar al de la FIG. 1, indicando los números similares elementos del sistema del la FIG. 2 que son iguales a los del sistema de la FIG. 1 y que funcionan de la misma forma. La principal diferencia entre los dos sistemas es que en el sistema de la FIG. 2, los tubos de venturi 18, 20 se han reemplazado por bombas pulsátiles P_1 , P_2 . Las dos bombas pulsátiles P_1 , P_2 también se controlan por el sistema de control 40 para medir de forma sincrónica los líquidos procedentes de los dos depósitos 4, 6 a través de las líneas de alimentación 26, 28, de una manera similar a la de los tubos de venturi 18, 20, en el sistema descrito anteriormente con respecto a la FIG. 1, con la excepción de que el líquido bombeado hacia el exterior de las bombas P_1 y P_2 se mezcla con el agua en las líneas de ramificación 12, 14 en las mezcladoras M_1 , M_2 según fluye el agua en las líneas de ramificación 12, 14 a la mezcladora 21 y después a la línea de salida 16. Las bombas pulsátiles P_1 y P_2 pueden reemplazarse por otros tipos de bombas, tales como bombas peristálticas y similares.

La presente invención se entenderá mejor mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1 - Formación de Biopelícula en un Sistema Modelo

50 Se evaluó en el laboratorio la formación de biopelículas sobre muestras para ensayo de acero inoxidable en presencia o ausencia de un biocida oxidante o una sustancia inhibidora de biopelícula. El sistema de ensayo consistía en (a) tres matraces cerrados que contenían cada uno 20 l de medio rico en nutrientes (diluido tres veces a partir de su concentración de uso recomendada), (b) tres celdas cerradas que contenían muestras para ensayo de acero inoxidable que colgaban libremente y (c) tres bombas de circulación idénticas, estando conectada cada bomba a través de tuberías de plástico a uno de los matraces y a una de las celdas. El sistema se puso en una sala termostática a 35°C.

A cada uno de los matraces se le añadió un inóculo que contenía un cultivo mixto de bacterias formadoras de depósitos microbiológicos que se habían aislado a partir de una máquina de papel. Al primer matraz se le añadió una vez al día durante el periodo de ensayo (4 días) un oxidante que contenía 5 ppm de mezcla (expresadas como

Cl₂ total) de bromo-clorodimetilhidantoína (un biocida oxidante que es una fuente de HOBr y HOCl) (en lo sucesivo “halógenos mezclados”). Al segundo matraz se le añadió una vez al día durante el periodo de ensayo una sustancia inhibidora de biopelícula, particularmente cloramina activada con bromuro (en lo sucesivo “Fuzzicide BAC”), que también puede funcionar como biocida cuando se aplica a microorganismos planctónicos, recién preparada como se describe en relación con la Fig. 1 y de acuerdo con la Patente de Estados Unidos N° 5.976.386 (2,5 ppm expresadas como Cl₂ total). El tercer matraz sirvió como control para los dos matraces tratados con las sustancias inhibidoras de biopelícula o biocida oxidante. El biocida “Fuzzicide BAC” se produjo en un sistema de suministro específico consistente en dos bombas de alimentación pulsátiles de laboratorio capaces de suministrar volúmenes pequeños (menores de 100 µl) por minuto con una alta frecuencia de pulsos. Se suministró una solución diluida de hipoclorito sódico en agua desionizada (DI) (~8000 ppm como cloro total) con una bomba; y se suministró una solución diluida de bromuro amónico (12.500 ppm) con la segunda bomba. Las dos soluciones diluidas se mezclaron de forma sincrónica en un tubo de vidrio corto para formar una solución de preinyección de sustancia inhibidora de biopelícula, usando un medidor de pH para controlar y comprobar la estabilidad de la sustancia inhibidora de biopelícula formada. La sustancia inhibidora de biopelícula se suministró al sistema de ensayo inmediatamente según se produjo. La solución de preinyección de sustancia inhibidora de biopelícula contenía 3500-4000 ppm como cloro total; el pH era de ~9,5.

Los días 2 y 4, cada celda cerrada se abrió y se retiraron asépticamente 2 muestras para ensayo de cada celda. Al mismo tiempo también se cogieron muestras del medio circulante. El muestreo se realizó después de suministrar la dosis masiva diaria de biocida.

Cada muestra de medio se diluyó en serie 10 veces en solución salina estéril y se cultivó en placas con agar fundido. Cada muestra para ensayo se aclaró minuciosamente para retirar cualquier partícula adherida, se raspó asépticamente y el material retirado por raspado se dispersó cuantitativamente en solución salina, se sometió a agitación vorticial, se diluyó en serie diez veces y se cultivó en placas con agar fundido. Se tomaron recuentos viables de microorganismos después de 48 horas de incubación a 35°C. Los recuentos viables de células en el medio se presentan como unidades formadoras de colonias (ufc) por ml; los recuentos viables en las superficies de las muestras para ensayo se presentan como ufc/cm². Los resultados se presentan en la Tabla 1.

Después de dos días, los recuentos viables en las muestras de medio (es decir, microorganismos planctónicos) eran similares en las dos muestras que se habían expuesto al biocida oxidante o la sustancia inhibidora de biopelícula, y los recuentos viables sólo eran ligeramente mayores en la muestra de control. Se observó que estaba creciendo una biopelícula significativa en la muestra para ensayo de control después de 2 días, y estaba creciendo una población microbiana más pequeña pero significativa en las muestras para ensayo tratadas con halógenos mezclados, mientras que las muestras para ensayo tratadas con Fuzzicide BAC permanecían limpias. Después de cuatro días, la muestra de control de medio presentaba un recuento estacionario de microorganismos planctónicos similar al recuento del día 2, la muestra de medio tratada con los halógenos mezclados presentaba algún control de microorganismos planctónicos (reducción ~10 veces en el recuento viable) y la muestra de medio tratada con Fuzzicide BAC presentaba un control completo de microorganismos planctónicos (dentro de los límites de detección). Con respecto al crecimiento sobre las muestras para ensayo, después de 4 días las muestras para ensayo del ensayo de control presentaban un pequeño aumento en el recuento viable de bacterias de biopelícula en comparación con los resultados del día 2, y las muestras para ensayo tratadas con halógenos mezclados presentaban un aumento de 3 veces en el recuento viable de bacterias de biopelícula en comparación con el día 2. Las muestras para ensayo del sistema tratado con Fuzzicide BAC permanecían limpias.

Tabla 1

Tipo de Tratamiento	Recuento Viable Después de 2 Días		Recuento Viable Después de 4 Días	
	ufc/ml	ufc/cm ²	ufc/ml	ufc/cm ²
Halógenos mezclados (5 ppm expresadas como Cl ₂)	9 x 10 ⁶	27	1 x 10 ⁶	95
Fuzzicide BAC (2,5 ppm expresadas como Cl ₂)	1 x 10 ⁶	< 27*	< 100*	< 27*
Control	1,5 x 10 ⁷	3645	1,3 x 10 ⁷	4050

* Estos valores representan el menor límite de detección del equipo usado y, por lo tanto, se expresan como desigualdades - es posible que los recuentos viables fueran realmente menores que los números citados en la presente memoria.

Ejemplo 2 - Control de incrustaciones biológicas en Aguas Residuales

Se canalizó agua residual tratada desde una planta de tratamiento de aguas residuales a una localización a 7 kilómetros de distancia. Durante el transcurso de los años, se detectó que las tuberías se habían obstruido y se había reducido el caudal de agua a través de las tuberías. Se observó que el uso de una concentración muy elevada

de Cl₂ (suministro hasta 50 ppm, es decir, adición de NaOCl a un nivel de hasta 50 mg/l (calculado como Cl₂)) era ineficaz para mejorar la conductividad del agua en las tuberías. La limpieza mecánica ("raspado") de las tuberías dio como resultado una mejora significativa de la conductividad del agua inmediatamente después de la limpieza, pero esta mejora duraba sólo algunos días, y después de este tiempo las tuberías alcanzaban el nivel de obstrucción observado antes del raspado de las tuberías.

El uso de la presente invención fue eficaz para controlar la biopelícula. Antes de empezar un curso de tratamiento usando la presente invención, se determinó que el coeficiente de Hazen-Williams (HW) en la tubería era de ~90. (El coeficiente de Hazen-Williams se usa para expresar el flujo de agua a través de tuberías industriales. Se calcula

usando la fórmula
$$P = \frac{2340 \times B^{1,852} \times s}{C^{1,852} \times d^{4,870}}$$
, en la que P es la pérdida de carga por rozamiento expresada en

libras por pulgada al cuadrado por 1000 pies de longitud de tubería, B es el caudal en barriles por hora, s es la gravedad específica del líquido, C = un coeficiente de rozamiento (el coeficiente de Hazen-Williams) y d es el diámetro interno de la tubería en pulgadas. P y B se miden para una tubería dada, s y d se tratan como constantes y c se calcula. Los resultados se presentan como el coeficiente de Hazen-Williams. Cuanto mayor es el número, mejor es el flujo a través de la tubería). La aplicación de 10 ppm de sustancia inhibidora de biopelícula, particularmente cloramina activada con bromuro producida de acuerdo con el documento US 5.976.386 ("Fuzzicide BAC"), expresada como cloro total, una vez al día durante tres horas durante 6 días consecutivos aumentó el valor de HW desde ~90 a ~104. Una combinación de "raspado" y dosificación de 10 ppm de Fuzzicide BAC (expresado como Cl₂ total producido de acuerdo con el documento US 5.976.386 suministrado una vez al día durante tres horas elevó el valor de HW desde ~104 a ~116. Una vez que la tubería se limpió de esta manera, se descubrió que el suministro de 10 ppm (expresadas como cloro total) de Fuzzicide BAC producido de acuerdo con el documento US 5.976.386 durante tres horas, una vez por semana, era eficaz durante un período de meses para mantener el coeficiente HW a un valor constante, es decir, inhibía la formación adicional de biopelícula a pesar del alto número de microorganismos viables en el agua residual. El coeficiente HW era constante siempre que la sustancia inhibidora de biopelícula se formara y se suministrara de forma apropiada a la tubería. Se detectó una reducción en el coeficiente HW cuando la tubería no se trató de forma apropiada. Esto se corrigió aumentando la frecuencia de tratamiento durante algunos días.

La sustancia inhibidora de biopelícula en este ejemplo se produjo como se indica a continuación: se construyó un sistema de alimentación que contenía una primera bomba de dosificación pulsátil que se usó para suministrar hasta 300 litros/hora de solución de hipoclorito sódico (10-15% p/v) y una segunda bomba de dosificación pulsátil que se usó para suministrar hasta 150 litros/hora de bromuro amónico (solución al 38% p/v). Se usó agua residual (hasta 10 m³/h) para diluir de forma apropiada los dos productos químicos. Un medidor del pH en línea controló el proceso de producción y la velocidad de suministro de hipoclorito para asegurar la producción de una sustancia inhibidora de biopelícula estable. La sustancia inhibidora de biopelícula se inyectó en la tubería de agua residual tratada según se producía. La concentración de solución de reserva de sustancia inhibidora de biopelícula era de 3000-4000 ppm; el pH se mantuvo a 9,5-10.

Ejemplo 3

Se bombeó agua residual tratada a través de varias tuberías de 10 m de longitud y 4 pulgadas (10,16 cm) de diámetro interno en una planta piloto. La biopelícula se había desarrollado de forma natural en las superficies de las tuberías durante varios meses antes de comenzar el tratamiento. Se supervisó en línea la reducción de presión a través de cada tubería y se calcularon los coeficientes HW medios. Durante el ensayo, las tuberías de control se dejaron sin tratar y las tuberías restantes se trataron con (a) la sustancia inhibidora de biopelícula Fuzzicide BAC, producida *in situ* de acuerdo con la invención del documento US 5.976.386, 10 ppm expresadas como cloro total durante tres horas tres veces por semana, o (b) sin estar de acuerdo con la invención, una cloramina producida a partir de cloruro amónico que forma parte de los documentos US 5.976.386 y US 6.132.628 precedentes de la técnica anterior, preformada como se describe en los ejemplos comparativos del documento US 6.132.628, aplicada a 10 ppm (expresadas como cloro total) durante tres horas, tres veces por semana.

La sustancia inhibidora de biopelícula en este ejemplo se produjo como se indica a continuación, usando un sistema de alimentación pequeño construido específicamente para este ensayo. Se suministraron hasta 4 l/h de hipoclorito sódico y hasta 2 l/h de Fuzzicide BAC en hasta 56 l/h de agua en las tuberías tratadas. La concentración de la solución de preinyección de sustancia inhibidora de biopelícula fue ~3600 ppm y el pH fue 9,2-9,6. Se desechó una parte importante de esta solución de reserva y sólo se suministró una pequeña parte debido al gran exceso de biocida que se formó con este sistema y la baja velocidad de alimentación. Como se muestra por los resultados presentados en la Tabla 2 y en la Fig. 3, la formación de sustancia inhibidora de biopelícula apropiada fue crítica para la estabilidad y eficacia de la sustancia inhibidora de biopelícula – una preparación inapropiada condujo a la formación de un producto que era significativamente menos eficaz que Fuzzicide BAC. La sustancia inhibidora de biopelícula obtenida a partir de cloruro amónico se produjo en un sistema de dosificación que se copió del sistema de alimentación de Fuzzicide BAC.

La Tabla 2 y la Fig. 3 muestran la diferencia en HW entre las tuberías de control (no tratadas) y las tuberías tratadas

con Fuzzicide BAC.

Tabla 2

Diferencia en valor de HW entre Tubería Tratada con Fuzzicide BAC y Tubería de Control			
Día de Ensayo	Diferencia de HW, Fuzzicide BAC-Control	Día de Ensayo	Diferencia de HW, Fuzzicide BAC-Control
1*	10,12	29*	8,75
2	11,25	30	8,93
3	11,62	31	8,93
4	13,04	32	9,02
5*	12,35	33*	8,89
6	13,76	34	8,93
7	15,13	35	9,12
26 ^{'''}	6,11	36*	10,31
27*	6,67	37	9,96
28	7,13	38	13,97

* = día en el que se trató el agua en la tubería con Fuzzicide BAC.
^{'''} = entre los días 7 y 26, el biocida se preparó de forma inapropiada, lo cual hizo que fuera ineficaz y dio como resultado una reducción significativa de la diferencia entre los valores de HW en las tuberías "tratadas" y no tratadas.

5 Como puede verse en la Tabla 2, el efecto de Fuzzicide BAC sobre las biopelículas no es necesariamente evidente el día del tratamiento, pero se puede observar durante varios días después (en forma de un mayor valor de HW en las tuberías tratadas frente a no tratadas). Las características del coeficiente HW medido muestran que el control de las células de la biopelícula no se mantiene mediante la destrucción de las células incluidas. Esto se confirmó por enumeración directa de las células de la biopelícula.

10 La Tabla 3 muestra los resultados de una comparación de los efectos a largo plazo del tratamiento de las biopelículas con Fuzzicide BAC frente al tratamiento con cloramina. El día 1 de esta parte del ensayo, las tuberías se trataron durante 3 horas con Fuzzicide BAC o cloramina (cada uno a una concentración de 10 ppm, expresadas como cloro total). La diferencia en el valor de HW entre las tuberías a las que se suministró sustancia inhibidora de biopelícula y las tuberías de control se supervisó en línea durante los 13 días siguientes. Era de esperar que después de cesar el suministro de la sustancia inhibidora de biopelícula, se reanudara el crecimiento de la biopelícula en las tuberías tratadas, conduciendo a una reducción en el coeficiente HW en estas tuberías, mientras que era de esperar que el coeficiente HW permaneciera constante en las tuberías de control (no tratadas). Se supervisaron las diferencias entre los coeficientes HW de las tuberías tratadas y la tubería de control y los resultados se presentan en la Tabla 3 y en la Fig 4.

Tabla 3

Día de Ensayo	Diferencia de HW, Fuzzicide BAC-Control	Diferencia de HW Cloramina-Control
1	14,3	13,0
2	13,7	10,8
3	12,8	10,7
4	16,5	15,0
5	16,0	15,2
6	16,55	15,15
7	15,8	14,6
8	14,3	12,9
9	16,9	13,0

(continuación)

Día de Ensayo	Diferencia de HW, Fuzzicide BAC-Control	Diferencia de HW Cloramina-Control
10	15,3	11,5
11	16,0	9,5
12	18,1	8,6
13	17,2	7,0
14	15,0	6,2
15	11,9	4,4
16	9,1	2,4
17	7,3	0,8
18	7,2	0,7

Ejemplo 4 - Tratamiento de una Máquina de Papel con un Alto Grado de Ensuciamiento

De Acuerdo con la Presente Invención

5 La Patente de Estados Unidos N° 5.789.239 describe una composición y procedimiento para evitar la creación de depósitos microbiológicos y/o la eliminación de biopelículas en sistemas que contienen agua. De acuerdo con la patente, este objetivo se consigue porque se añade al agua al menos un componente de glicol y al menos un componente enzimático del grupo que consiste en carbohidratos, proteasas, lipasas y glicol proteasas. La patente presenta los resultados de ensayos de campo para demostrar cómo puede realizarse la invención desvelada en la presente memoria y la eficacia del procedimiento desvelado en la presente memoria. Uno de los parámetros usados en la presente memoria para supervisar la eliminación de la biopelícula es la calidad del papel, que se mide en línea durante la producción de papel. Los resultados presentados en el documento US 5.789.239 muestran que la distribución estadística de manchas negras, manchas claras y agujeros supervisados en el producto terminado no difería de los resultados de la calidad de papel en línea previos conseguidos con un tratamiento con biocida convencional.

15 En el presente ejemplo, se trató una máquina de papel con un alto grado de ensuciamiento con la sustancia inhibidora de biopelícula Fuzzicide BAC del inventor, producida *in situ* usando el aparato descrito en la Patente de Estados Unidos N° 5.976.386 del inventor. La sustancia inhibidora de biopelícula se añadió a la máquina de papel de forma semi-continua. La máquina de papel no se sometió a limpieza por ebullición con sosa cáustica antes de iniciar el ensayo. En su lugar, al comienzo del ensayo estaba presente un alto grado de ensuciamiento sobre las superficies de la máquina.

20 Para este ensayo se construyó un sistema de alimentación diseñado específicamente. Una primera bomba pulsátil suministró hasta 30 l/h de hipoclorito sódico; una segunda bomba pulsátil suministró hasta 13 l/h de bromuro amónico. Se usó agua reblandecida para diluir los productos químicos para evitar la formación de incrustaciones. El sistema de alimentación de Fuzzicide BAC se usó para suministrar la dosis en tres puntos de alimentación diferentes a lo largo de la máquina de papel. El proceso de producción de sustancia inhibidora de biopelícula se controló supervisando el pH de la sustancia inhibidora de biopelícula producida y ajustando la mezcla de los ingredientes cuando fue necesario. La solución de preinyección de sustancia inhibidora de biopelícula contenía 3500-4000 ppm expresadas como cloro total, y el pH del producto era 9,6-9,8. La solución de pre-inyección de sustancia inhibidora de biopelícula fue reproducible y estable durante este ensayo y durante meses de uso constante en esta máquina de papel.

25 Se registraron manchas oscuras, manchas claras y agujeros en el papel terminado en línea y se presentan en la Tabla 4 y en la Fig. 5 (esta última muestra agujeros y manchas en el rollo medio de papel, que pesa 20 toneladas). Los resultados se promedian para cada tipo de papel producido (de los que algunos se produjeron durante un período de más de 24 horas).

35

Tabla 4

Día de Ensayo	MC > 20	MC 5-20	MO > 15	MO 5-15	A > 20	A 10-20	A 5-10
1	0	17	0	4	4	10	18
2	0	74	0	1	3	40	65
4*	1	93	4	23	4	19	36
5	1	368	1	9	38	143	291
6	0	390	1	31	15	57	363
7	1	950	9	48	148	361	509
8	1	518	15	45	69	208	417
9	6	979	16	63	56	156	2266
11*	0	1392	6	36	117	382	1152

MC = manchas claras; MO = manchas oscuras; A = agujeros; tamaños proporcionados en micrómetros.

*Los resultados del día 4 incluyen datos del día 3. Los resultados del día 11 incluyen datos del día 10.

5 El aumento estacionario en agujeros y manchas a lo largo del tiempo desde el día del tratamiento se debió a las partículas de biopelícula, de diferentes tamaños y colores, que se desprenden de la superficie de la máquina aumentando la frecuencia como resultado del tratamiento con Fuzzicide BAC.

En el 12º día del ensayo, la máquina de papel se detuvo para la limpieza. Esto reveló superficies cubiertas con una masa de partículas pequeñas de biopelícula que se habían desprendido del área principal de crecimiento de biopelícula y se habían dispersado en el agua de la máquina mientras que se estaban limpiando las superficies de la máquina.

10 Después de la limpieza de la máquina de papel, se reanudó la producción de papel, con la adición de sustancia inhibidora de biopelícula Fuzzicide BAC al agua de proceso. La Fig. 6 muestra manchas oscuras, manchas claras y agujeros registrados durante la producción de papel en este periodo. En comparación con la Fig. 5, la cantidad total de manchas y agujeros registrados se mantuvo relativamente pequeña a lo largo de este periodo, indicando que la aplicación de la sustancia inhibidora de biopelícula prevenía la nueva formación de biopelícula en la superficie de la máquina de papel.

Ejemplo 5 - Inactivación de Catalasa (No según la invención).

20 Se realizaron ensayos de laboratorio en matraces que contenían 100 ml de agua desionizada (DI) y usando catalasa (Merck, la enzima se diluyó en solución salina a una concentración final de 26 unidades por ml) y sustancia inhibidora de biopelícula (Fuzzicide BAC o monocloramina (MCA)). Se añadió sustancia inhibidora de biopelícula recién preparada a los matraces apropiados que contenían catalasa diluida a una velocidad de alimentación predefinida. Los contenidos de los recipientes se mezclaron durante 60 minutos a temperatura ambiente antes de la adición de H₂O₂ (a una concentración final de H₂O₂ de 3,5 g/l). Después de la adición del H₂O₂, la mezcla se dejó mezclar durante 30 minutos a temperatura ambiente, después de lo cual se midieron los residuos de H₂O₂ en cada matraz de acuerdo con el ensayo LCW 058 del Dr. Lange Cuvette, medido con LASA 20 (basado en Jander/Blasius, Lehrbach der Analytischen und Preparative Anorganischen Chemie, como se describe en el Handbook of Photometrical Operation Analysis (octubre 1997)). Los resultados, que se expresan y se presentan como Cl₂ total, se resumen en la tabla 5. Los residuos de Fuzzicide BAC y MCA se midieron con un colorímetro de bolsillo Hach.

Tabla 5

Sustancia inhibidora de biopelícula (SIB)	Concentración de SIB (ppm, como cloro total)	Catalasa, unidades/ml	Concentración de H ₂ O ₂ inicial, % g/l	Concentración de H ₂ O ₂ residual, % de 3,5% g/l
NH ₄ Br + NaOCl	8,1	26	3,5	21,4
NH ₄ Br + NaOCl	60	26	3,5	100
NH ₄ Br + NaOCl	140	26	3,5	100

(continuación)

Sustancia inhibidora de biopelícula (SIB)	Concentración de SIB (ppm, como cloro total)	Catalasa, unidades/ml	Concentración de H ₂ O ₂ inicial, % g/l	Concentración de H ₂ O ₂ residual, % de 3,5% g/l
NH ₄ Cl + NaOCl	6,7	26	3,5	6,8
NH ₄ Cl + NaOCl	58	26	3,5	97,1
NH ₄ Cl + NaOCl	128	26	3,5	99,4
NH ₄ Br + NaOCl	60	0	3,5	100
Ninguna	0	26	3,5	~0
Ninguna	0	0	3,5	100

Estos resultados muestran (1) que la enzima era muy activa en la degradación de H₂O₂, (2) que ni la cloramina ni el Fuzzicide BAC oxidaban peróxido de hidrógeno y (3) que la catalasa se inactivaba completamente por cloramina y por Fuzzicide BAC sólo a una alta dosificación (~60 ppm o mayor como Cl₂ total), que es mucho mayor que el nivel de alimentación que, como se ilustra en los ejemplos previos, se usa para inhibir el potencial de desarrollo de biopelícula de grupos de microorganismos e indirectamente se produce la disgregación de las biopelículas. A un nivel de dosificación de 10 ppm e inferior (expresado como cloro total), las sustancias inhibidoras de biopelícula del inventor inactivaron la catalasa en un grado insignificante, si la inactivaban algo.

Se prepararon MCA y Fuzzicide BAC en el laboratorio usando procedimientos similares a los descritos anteriormente para los ensayos de campo. Se diluyó hipoclorito sódico en agua DI a una concentración final de 6000 ppm expresadas como cloro total. Se prepararon solución de bromuro amónico (equimolar a 1,1 mol de la solución de hipoclorito sódico diluida, exceso del 10% en una base molar) y solución de cloruro amónico (equimolar a 1,1 mol de solución de hipoclorito diluida, exceso del 10% en una base molar). El hipoclorito diluido (50 ml) se añadió gota a gota a 50 ml de la sal de amonio apropiada mientras que el pH se medía constantemente. Inmediatamente se midió la concentración de sustancia inhibidora de biopelícula en la solución de reserva producida e inmediatamente se añadió la sustancia inhibidora de biopelícula al nivel de alimentación apropiado a los matraces de ensayo.

Para todos los fines prácticos, MCA y Fuzzicide BAC son ineficaces en la desactivación de las enzimas de degradación de peróxido cuando se administran a un nivel de velocidad de alimentación optimizado para inhibir el desarrollo de biopelículas a un coste razonable. De esta manera, el modo de acción de estas sustancias inhibidoras de biopelícula contra la enzima de degradación de peróxido catalasa tiene que funcionar de acuerdo con un mecanismo distinto de la inactivación directa de las enzimas. El presente ejemplo muestra que a diferencia de HOCl y HOBr, que reaccionan rápidamente con H₂O₂, MCA y Fuzzicide BAC no oxidan H₂O₂. Esta propiedad permite usar MCA y Fuzzicide BAC como sustancias inhibidoras de biopelícula en presencia de altas concentraciones de fondo de H₂O₂ o en mezclas que contienen H₂O₂. A diferencia de los biocidas oxidantes que se han usado en la técnica para prevenir el crecimiento de biopelículas al destruir microorganismos incluidos en la biopelícula, pueden usarse MCA y, en una realización especialmente preferida de la presente invención, Fuzzicide BAC en presencia o en combinación con otras enzimas que, para diversos fines, pueden añadirse al medio de proceso, especialmente un medio de proceso acuoso.

Ejemplo 6 - Ensayo de Campo en una Planta de Destintado (No según la invención)

Un sistema de destintado usa 7-10 kg de H₂O₂ por tonelada de papel residual. Los intentos previos de controlar la degradación enzimática de H₂O₂ usando biocidas convencionales tales como glutaraldehído no produjo resultados eficaces en cuanto al coste en este sistema. Un sistema de destintado paralelo en la misma planta, utilizando un proceso de destintado similar sobre papel residual procedente de la misma fuente, se trató satisfactoriamente con una formulación química comercial que contenía glutaraldehído: el consumo medio de H₂O₂ en este proceso de destintado se redujo a ~4 kg de H₂O₂/tonelada de papel residual. Las mediciones realizadas antes de comenzar el ensayo con la tecnología Fuzzicide BAC mostraron que estaba presente una alta carga microbiana en diversas partes de la planta de destintado, indicando una alta acumulación de depósitos microbiológicos. A pesar de la alta dosificación inicial de H₂O₂, se encontraron residuos insignificantes de H₂O₂ en diversos puntos a lo largo de la trayectoria del sistema.

Después se suministró Fuzzicide BAC, producido *in situ* con un sistema de producción/alimentación como el descrito en el documento US 5.976.386 de forma continua al agua de proceso durante un período de 850 minutos. La sustancia inhibidora de biopelícula se produjo *in situ* en un sistema de dosificación diseñado específicamente similar al sistema de dosificación descrito en el Ejemplo 4. El pH de reacción se mantuvo a 9,8-10,0. El proceso de producción se controló para asegurar la medición sincrónica de los dos productos químicos, la mezcla de forma continua a la relación molar predeterminada y la producción reproducible de una solución de reserva de sustancia

inhibidora de biopelícula estable durante todo el ensayo y más. La velocidad de dosificación inicial de Fuzzicide BAC fue de 170 g/ton expresado como Cl₂ total. Después de 850 minutos, la velocidad de dosificación se redujo a 85 g/ton expresados como Cl₂ total mediante el suministro de la sustancia inhibidora de biopelícula de forma semi-continua. Se supervisaron diversos parámetros durante el inicio del ensayo: se midió la sustancia inhibidora de biopelícula residual (usando un colorímetro de bolsillo Hach, Cl₂ total, basado en el procedimiento DPD adaptado a partir de Standard Methods for Examination of Waste and Waste Water). El peróxido de hidrógeno residual se midió usando LASA 20 con el procedimiento LCW 085, basado en el procedimiento de Jander/Blasius, Lehrbuch der Analytischen und Preparative Anorganischen Chemie, como se describe en el Handbook of Photometrical Operation Analysis por Dr. Lange para LASA 20, octubre de 1997 (en casos de alta concentración) o tiras de ensayo de Merck (0,5-25 ppm). Cuando fue necesario, las muestras se diluyeron con agua DI.

La actividad de las enzimas de degradación de H₂O₂ en el agua de proceso se midió de acuerdo con el siguiente procedimiento: una solución comercial de H₂O₂ se diluyó con agua DI a una concentración final de 100 g/l de agua (10%). Se añadió un ml de la solución de H₂O₂ diluida a 9 ml de una muestra tomada del agua de proceso de destintado tratada para obtener una velocidad de alimentación final de 10 g/l de H₂O₂. La muestra combinada se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos, después de lo cual se midió el H₂O₂ residual. Como control se utilizó peróxido de hidrógeno diluido en agua DI. La concentración residual de H₂O₂ era baja cuando las enzimas degradaban eficazmente H₂O₂, mientras que la concentración residual de H₂O₂ era alta y próxima a la velocidad de alimentación de H₂O₂ cuando las enzimas de degradación de H₂O₂ se volvían menos eficaces o cuando se reducía la concentración de enzimas en el agua de proceso. Los resultados como % de H₂O₂ que quedaba en el agua de proceso después del tiempo de contacto definido se presentan en la Tabla 6. Las mediciones de adenosina trifosfato (ATP) en la Tabla 6 se basan en el siguiente procedimiento: durante el cambio de ATP a adenosina monofosfato (AMP) en presencia de luciferina y luciferasa, se emite una cantidad definida de luz por molécula de ATP. Esta luz emitida se mide por un fotómetro. Los resultados se proporcionan en términos relativos y por lo tanto son relativos y no absolutos (URL = unidad relativa de luz). Los valores pueden correlacionarse con la actividad microbiana en el sentido de que para un alto recuento viable, se obtiene una alta medida de ATP y viceversa.

Tabla 6

Tiempo, min.	Reducción en Actividad Catalasa, como % de concentración inicial de H ₂ O ₂	ATP (URL)	H ₂ O ₂ Residual, ppm	Fuzzicide BAC Residual, ppm como cloro total
0	37,6	132276	0	0
100	17,8	6340	~5	0,7
240	54,7	2861	~5	1,45
850	92	535	> 25	1,4
1500	135,1	3568	>250	0,7

La rápida reducción en ATP después de iniciar el ensayo demuestra un control eficaz de microorganismos planctónicos (células vivas libres) en el extractor de pulpa. Como era de esperar en base a las Patentes de Estados Unidos mencionadas anteriormente del inventor, el nivel de ATP continuó reduciéndose a lo largo del período de dosificación continua, aunque los residuos medidos de Fuzzicide BAC no fueron muy altos. El aumento aparente en la actividad catalasa entre 0 y 100 minutos se debe a la degradación de la biopelícula y la liberación posterior del material de la biopelícula, incluyendo microorganismos, catalasa y otras enzimas de degradación de peróxido en el agua de proceso.

Después de 850 minutos, cuando se detectaron residuos medibles de H₂O₂ en muestras tomadas del extractor de pulpa, se cambió el régimen de dosificación: la alimentación continua se reemplazó por una alimentación semi-continua y la velocidad de alimentación total se redujo al 50% de su valor inicial, a 85 g (expresados como Cl₂ total) por tonelada de pasta papelera. Como era de esperar, el valor de ATP aumentó, reflejando un aumento en el recuento de microorganismos planctónicos, con una reducción tanto en la velocidad de alimentación como en el residuo de Cl₂ total.

A pesar del aumento en ATP y el recuento viable, la actividad de enzimas de degradación de H₂O₂ se reducía según progresaba el tratamiento, y estaba acompañada de un aumento en la concentración de H₂O₂ disponible medida en el agua de proceso. Después de 1500 minutos, la actividad de enzimas de degradación de H₂O₂ parecía haber desaparecido, aunque la velocidad de alimentación de biocida se redujera a 850 minutos, y las concentraciones de ATP aumentarían entre 850 y 1500 minutos.

Después de aproximadamente 48 horas de dosificación semi-continua del biocida, la velocidad de alimentación de H₂O₂ necesaria para mantener el punto de ajuste de blanqueo se redujo a ~4 kg/ton. Después de algunos días más, se descubrió que la velocidad de alimentación de H₂O₂ podía reducirse adicionalmente a ~2,2 kg/ton y los objetivos

de blanqueo de destintado definidos podían mantenerse a esta velocidad de alimentación reducida.

Ejemplo 7 (No según la invención)

Eficacia de Fuzzicide BAC y Recuento Viable

5 Durante un ensayo de campo con Fuzzicide BAC en una máquina de papel usada para producir papel de impresión y para máquinas de escribir, se supervisaron los recuentos viables de microorganismos, principalmente bacterias, en el silo de agua blanca (ww) y en el recipiente de la máquina (Mchest). Se extrajeron muestras de agua de proceso e inmediatamente se inactivaron con tiosulfato sódico para degradar cualquier residuo de la sustancia inhibidora de biopelícula. Después, las muestras se diluyeron en serie diez veces en un medio de dilución salino Trypton (DIFCO).
10 Las muestras diluidas se cultivaron en placas con Agar R2A fundido (en lo sucesivo = "recuento total") y en agar Plate Count fundido que contenía un elevado exceso de glucosa (en lo sucesivo "formadores de depósitos microbiológicos"). El agar solidificó a temperatura ambiente y las placas se incubaron a 35°C durante 48 horas. Se contaron las células viables y los resultados se presentan en la Tabla 7 a continuación y en la Fig. 7. Se detectaron dos períodos de tratamiento diferentes: el período de limpieza de biosuciedad, durante el cual el tratamiento con la sustancia inhibidora de biopelícula produjo la disgregación de la biopelícula existente (véase también el Ejemplo 4) y el período de funcionamiento normal después del periodo de limpieza, en el que la máquina de papel funcionaba normalmente y se usó la aplicación de la sustancia inhibidora de biopelícula para mantener un funcionamiento uniforme de la máquina de papel (compárese con la Fig. 6).

La Tabla 7 y la Fig. 7 muestran que durante el período de limpieza inicial, los recuentos viables en muestras de agua de proceso tomadas del silo contenían 10^3 - 10^4 células viables por ml, independientemente de si el residuo de la sustancia inhibidora de biopelícula Fuzzicide BAC estaba presente en una concentración alta o baja. Casi todas las muestras del silo contenían un número significativo de colonias, que se desarrollaban en un medio de alta concentración de glucosa. Se observó un fenómeno similar en muestras tomadas de Mchest (resultados no mostrados) que presentaban números incluso superiores tanto del recuento total como de las células que crecían en presencia de un alto contenido de glucosa.

25

Tabla 7

Día del Ensayo	Silo/Cl ₂ residual (ppm)	Silo/formadores de depósitos (ufc)	silo/recuento total (ufc)
1	5,85	$1,0 \times 10^1$	1×10^0
2	6,3	$5,92 \times 10^3$	$5,68 \times 10^4$
3	1,98	$2,0 \times 10^2$	$4,8 \times 10^4$
4	2,64	$1,0 \times 10^0$	$7,6 \times 10^3$
6	2,18	$1,2 \times 10^2$	$3,8 \times 10^3$
7	3,2	$1,0 \times 10^0$	$4,0 \times 10^3$
8	4	$4,0 \times 10^1$	$1,68 \times 10^3$
9	5,05	$2,2 \times 10^2$	$5,0 \times 10^3$
10	5,1	$1,0 \times 10^0$	$1,18 \times 10^3$
13	2,72	$1,0 \times 10^1$	$2,4 \times 10^3$

Como se muestra en la Tabla 8, una vez que la máquina de papel estaba limpia, se observó una reducción significativa en el recuento total en las muestras de agua.

Tabla 8

Día del Ensayo	Silo/Cl ₂ residual (ppm)	Silo/formadores de depósitos (ufc)	silo/recuento total (ufc)
16	2,94	$1,0 \times 10^0$	$2,0 \times 10^2$
17	3,08	$1,0 \times 10^0$	$6,0 \times 10^1$

30

(continuación)

Día del Ensayo	Silo/Cl ₂ residual (ppm)	Silo/formadores de depósitos (ufc)	silo/recuento total (ufc)
20	2,56	1,0 x 10 ⁰	3,0 x 10 ²
21	2,26	1,0 x 10 ⁰	7,5 x 10 ²
24	2,2	1,0 x 10 ⁰	1,0 x 10 ²
27	3,62	1,0 x 10 ⁰	1,1 x 10 ²

5 Considerados conjuntamente, estos resultados indican que (a) siempre que la máquina de papel estuviera muy sucia, muchas si no la mayoría de las células viables, incluyendo las incluidas en la biopelícula, crecían rápidamente en un medio que tenía un alto contenido de glucosa, lo que indica la presencia de enzimas capaces de degradar de forma eficaz y rápida la glucosa, mientras que (b) en una máquina limpia tratada con Fuzzicide BAC, las células viables no podían crecer en un medio rico en glucosa, indicando que estas células no contenían las enzimas capaces de degradar de forma eficaz y rápida la glucosa a una alta concentración, independientemente de si el recuento total de células viables en medio R2A era alto o bajo. Estos resultados pueden compararse con las Figs. 3 y 4, que también muestran que el tratamiento con sustancia inhibidora de biopelícula de acuerdo con la presente invención produce la disgregación de la biopelícula en máquinas con biosuciedad e impide la nueva formación de la biopelícula en máquinas limpias.

Ejemplo 8 (no según la invención)

Efecto de Fuzzicide BAC sobre la Eficacia de Fabricación de Papel

15 En una máquina de fabricación de papel, se suministró Fuzzicide BAC intermitentemente en diversas partes de la máquina. Se observó una pérdida rápida de Fuzzicide BAC residual en la máquina, teniendo lugar la pérdida principal de Fuzzicide BAC residual en los extractores de pulpa, específicamente en el triturador de residuos secos. (El triturador de residuos secos recibe papel producido por la máquina pero que tiene una calidad inaceptable para el envío a los clientes; este papel es reutiliza en la máquina de fabricación de papel). Se observó que en los extractores de pulpa, la pérdida de biocida residual iba acompañada de un rápido aumento de ATP. Las investigaciones iniciales sugirieron que las observaciones eran atribuibles a una desinfección subóptima en la prensa de encolado, en la que está presente almidón usado para revestir el papel y proporciona un buen medio para soportar el crecimiento de microorganismos.

20 Al mismo tiempo que se observó una pérdida de Fuzzicide BAC residual y un aumento de ATP en el extractor de pulpa, también se observó un rápido aumento de ATP en el recipiente de la máquina y la caja de cabeza, así como en el agua limpia.

Aunque el ATP en los extractores de pulpa era elevado, los resultados en las aguas blancas, que es agua reciclada a la máquina, aún estaban dentro de parámetros aceptables.

30 Para determinar si la pérdida de Fuzzicide BAC residual se debía problemas en la química de la parte húmeda, la cantidad de almidón catiónico que se suministraba al recipiente de la máquina se redujo en un 50%, y 11 horas después la dosificación de cloruro de polialuminio (PAC), un floculante para ayudar a la aglomeración de fibras y partículas en la caja de cabeza, se aumentó en un 20%. Durante este periodo aún se usaron residuos secos. El efecto sobre la retención total de carbonato cálcico y la retención de carbonato cálcico precipitado (PCC) (ceniza) fueron similares. Los cambios en la velocidad de alimentación de almidón catiónico y PAC no afectaban a la retención significativamente.

35 Cinco horas después se redujo la cantidad de almidón catiónico que se suministraba al recipiente de la máquina, y la velocidad de dosificación de Fuzzicide BAC se aumentó en un 65%. Dos horas después se detectó una rápida reducción en la concentración de material suspendido y PCC en las aguas blancas, seguido de una mejora estacionaria en la retención durante las 17 horas siguientes. La mejora en la retención se produjo paralelamente a un aumento lento estacionario en el cloro residual.

40 Los expertos en la materia apreciarán que la presente invención no se limita por lo que se ha mostrado particularmente y descrito anteriormente en la presente memoria. En su lugar, el alcance de la presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, estando **caracterizado** el procedimiento porque: se aplica de forma intermitente una sustancia inhibidora de biopelícula a una colección de microorganismos, localizados en una interfaz entre agua y una superficie de un sólido en un entorno de agua industrial, que tiene potencial de desarrollo de biopelículas, incluyendo la administración intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula al agua que comunica con dicha colección de microorganismos, en el que la sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a una velocidad de alimentación y de acuerdo con un régimen de alimentación que es insuficiente para producir la destrucción significativa de dicha colección de microorganismos, en el que dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un factor de trabajo menor de 1:50, donde el factor de trabajo significa la relación entre (a) el periodo de tiempo durante la cual se administra la sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos y (b) el periodo de tiempo durante la cual no se administra la sustancia inhibidora de biopelícula, en el que dicha colección de microorganismos está adherido a una superficie consumible y dicha aplicación intermitentemente comprende administrar de forma intermitente dicha sustancia inhibidora de biopelícula durante un período de aproximadamente 5 minutos en cada aplicación intermitente, en el que dicha aplicación intermitentemente de una sustancia inhibidora de biopelícula incluye la generación intermitente de la sustancia inhibidora de biopelícula a tiempo real e incluye el suministro de dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos según se genera dicha sustancia inhibidora de biopelícula a tiempo real, en el que dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula a tiempo real incluye la producción de una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, la producción de una dilución predeterminada de un bromuro amónico, la introducción sincrónica las dos diluciones en una mezcladora para mezclar continuamente de acuerdo con una relación predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en la mezcladora, en el que dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye una cantidad eficaz de cloramina activada por bromuro y en el que la concentración de cloramina activada por bromuro está comprendida entre aproximadamente 1 parte por millón y aproximadamente 10 partes por millón, expresada como cloro total.
2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula a tiempo real incluye la producción de una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, la producción de una dilución predeterminada de bromuro amónico, la introducción sincrónica las dos diluciones en una mezcladora para mezclar continuamente de acuerdo con una relación predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en la mezcladora, y dicho suministro de dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos cuando dicha sustancia inhibidora de biopelícula se genera a tiempo real comprende inyectar continuamente dicha sustancia inhibidora de biopelícula, según se produce *in situ* en dicha mezcladora, desde dicha mezcladora al agua que comunica con dicha colección de microorganismos.
3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye inyectar de forma continua y sincrónica una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyectar de forma continua y sincrónica una cantidad de bromuro amónico en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada de la sal de amonio e inyectar de forma continua y sincrónica la primera y segunda corrientes en una mezcladora de acuerdo con una relación predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula *in situ* en la mezcladora.
4. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye inyectar de forma continua y sincrónica una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyectar de forma continua y sincrónica una cantidad de bromuro amónico en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada de la sal de amonio e inyectar de forma continua y sincrónica la primera y segunda corrientes en una mezcladora de acuerdo con una relación predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula *in situ* en la mezcladora, y dicho suministro de dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos según se genera dicha sustancia inhibidora de biopelícula a tiempo real comprende inyectar de forma continua la sustancia inhibidora de biopelícula, según se produce *in situ* en la mezcladora, desde la mezcladora al agua que comunica con el grupo de microorganismos.
5. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que cada aplicación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye la producción de una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, la producción de una dilución predeterminada de bromuro amónico, la introducción sincrónica de las dos diluciones en una mezcladora para mezclar continuamente de acuerdo con una relación predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en la mezcladora e inyectar continuamente la sustancia inhibidora de biopelícula, según se produce *in situ* en la mezcladora, directamente desde la mezcladora al agua que comunica con dicha colección de microorganismos.

6. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicha dilución predeterminada de dicho oxidante se produce de forma continua inmediatamente antes de dosificarse de forma sincrónica en dicha mezcladora con dicha dilución predeterminada de dicho bromuro amónico.
- 5 7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicha dilución predeterminada de dicho bromuro amónico se produce de forma continua inmediatamente antes de dosificarse de forma sincrónica en dicha mezcladora con dicha dilución predeterminada de dicho oxidante.
8. Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que dicha sustancia inhibidora de biopelícula, producida *in situ* en dicha mezcladora, tiene un pH de al menos 8,5 antes de introducirse en dicha agua que comunica con dicha colección de microorganismos.
- 10 9. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicha sustancia inhibidora de biopelícula, producida *in situ* en dicha mezcladora, tiene un pH mayor de 9,5 antes de introducirse en dicha agua que comunica con dicha colección de microorganismos.
- 15 10. Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en el que dicha agua que comunica con dicha colección de microorganismos tiene un pH comprendido entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10,5 antes de que dicha sustancia inhibidora de biopelícula se inyecte en dicha agua.
11. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, en el que dicha agua que comunica con dicha colección de microorganismos tiene un pH comprendido entre aproximadamente 7 y aproximadamente 9 antes de que dicha sustancia inhibidora de biopelícula se inyecte en dicha agua.
- 20 12. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, en el que dicha sustancia inhibidora de biopelícula, según se produce *in situ* en el conducto, se inyecta en dicha agua que comunica con dicha colección de microorganismos a una concentración de 3-10 ppm expresada como cloro.
13. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, en el que el bromuro amónico tiene una concentración de aproximadamente un 0,1% en peso a aproximadamente un 50% en peso.
- 25 14. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que el bromuro amónico tiene una concentración de aproximadamente un 2,5% en peso a aproximadamente un 38% en peso.
15. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, en el que dicha dilución predeterminada de bromuro amónico tiene una concentración del 0,1% en peso al 6,0% en peso y es equimolar a dicha solución de oxidante diluida.
- 30 16. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15, en el que dicho oxidante se selecciona del grupo que consiste en hipoclorito sódico e hipoclorito cálcico.
17. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, en el que dicho oxidante es una solución de hipoclorito, y dicho bromuro amónico es una solución que contiene un exceso de base que corresponde al menos a un 10% de NaOH.
- 35 18. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, en el que se añade una base de forma sincrónica a dicho bromuro amónico para estabilizar la cloramina activada con bromuro.
19. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 18, en el que dicho oxidante tiene una concentración comprendida entre el 0,1% en peso y el 15% en peso, expresada como Cl₂.
20. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 19, en el que dicho oxidante tiene una concentración comprendida entre el 5% en peso y el 15% en peso, expresada como Cl₂.
- 40 21. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 18, en el que después de la adición de agua, dicha dilución de oxidante tiene una concentración del 0,1% en peso al 2,0% en peso, expresada como Cl₂.
- 45 22. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha aplicación de una cantidad eficaz de sustancia inhibidora de biopelícula incluye inyectar de forma continua y sincrónica una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir una dilución predeterminada del hipoclorito, inyectar de forma continua y sincrónica una cantidad de bromuro amónico en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir una dilución predeterminada del bromuro amónico, inyectar de forma continua y sincrónica dichas primera y segunda corrientes en una mezcladora de acuerdo con una relación predeterminada para producir dicha sustancia inhibidora de biopelícula *in situ* en dicha mezcladora, e inyectar de forma continua dicha sustancia inhibidora de biopelícula, según se produce *in situ* en dicha mezcladora, directamente desde dicha mezcladora en el agua que comunica con dicha colección de microorganismos.
- 50 23. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 22, en el que el hipoclorito se inyecta continuamente en dicha primera corriente de agua por una primera bomba de dosificación conectada a un depósito de dicho oxidante.

24. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 22 ó 23, en el que dicho bromuro amónico se inyecta continuamente en dicha segunda corriente de agua por una segunda bomba de dosificación conectada a un depósito de dicho bromuro amónico y que funciona de forma sincrónica con dicha primera bomba de dosificación.

FIG. 1

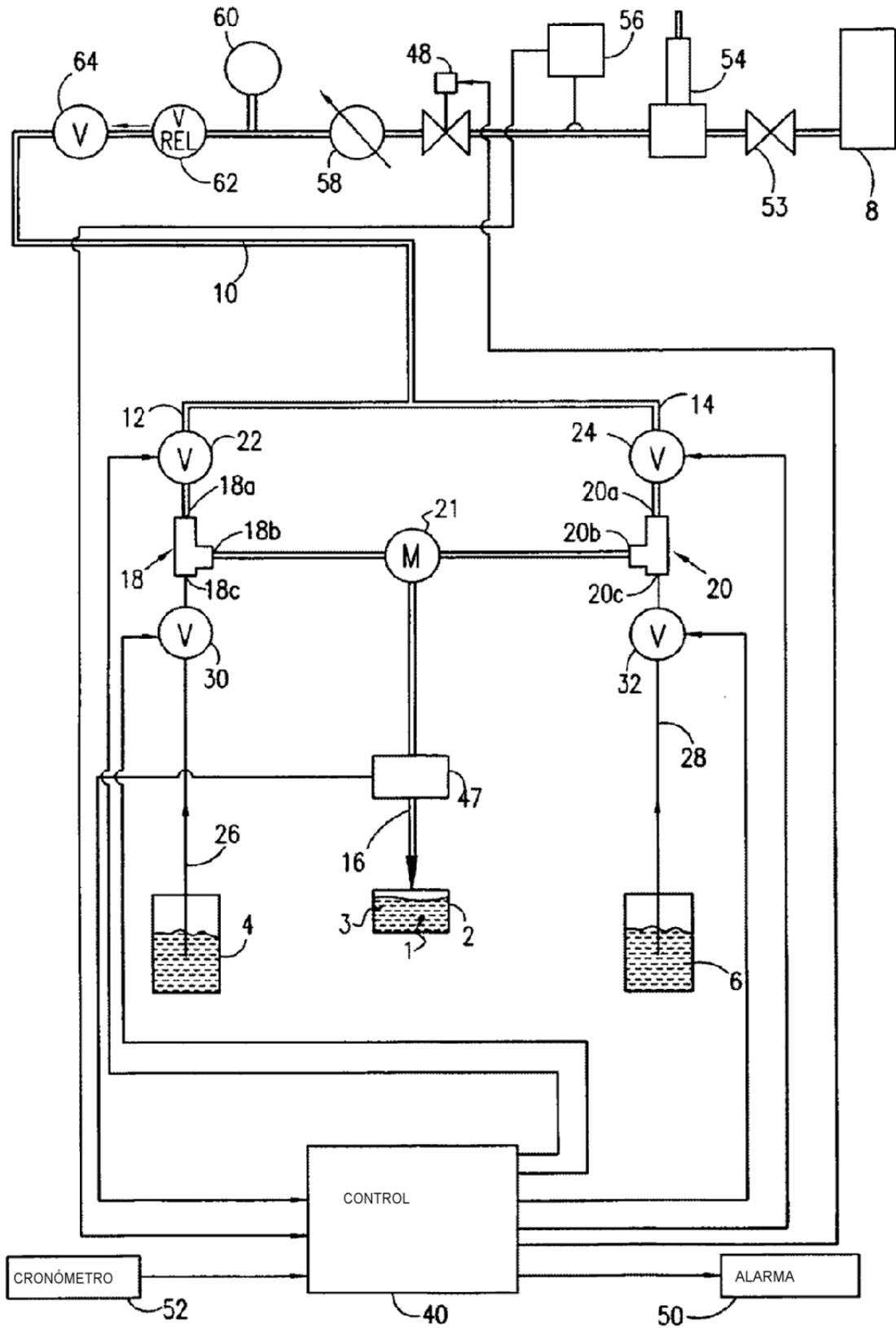


FIG. 2

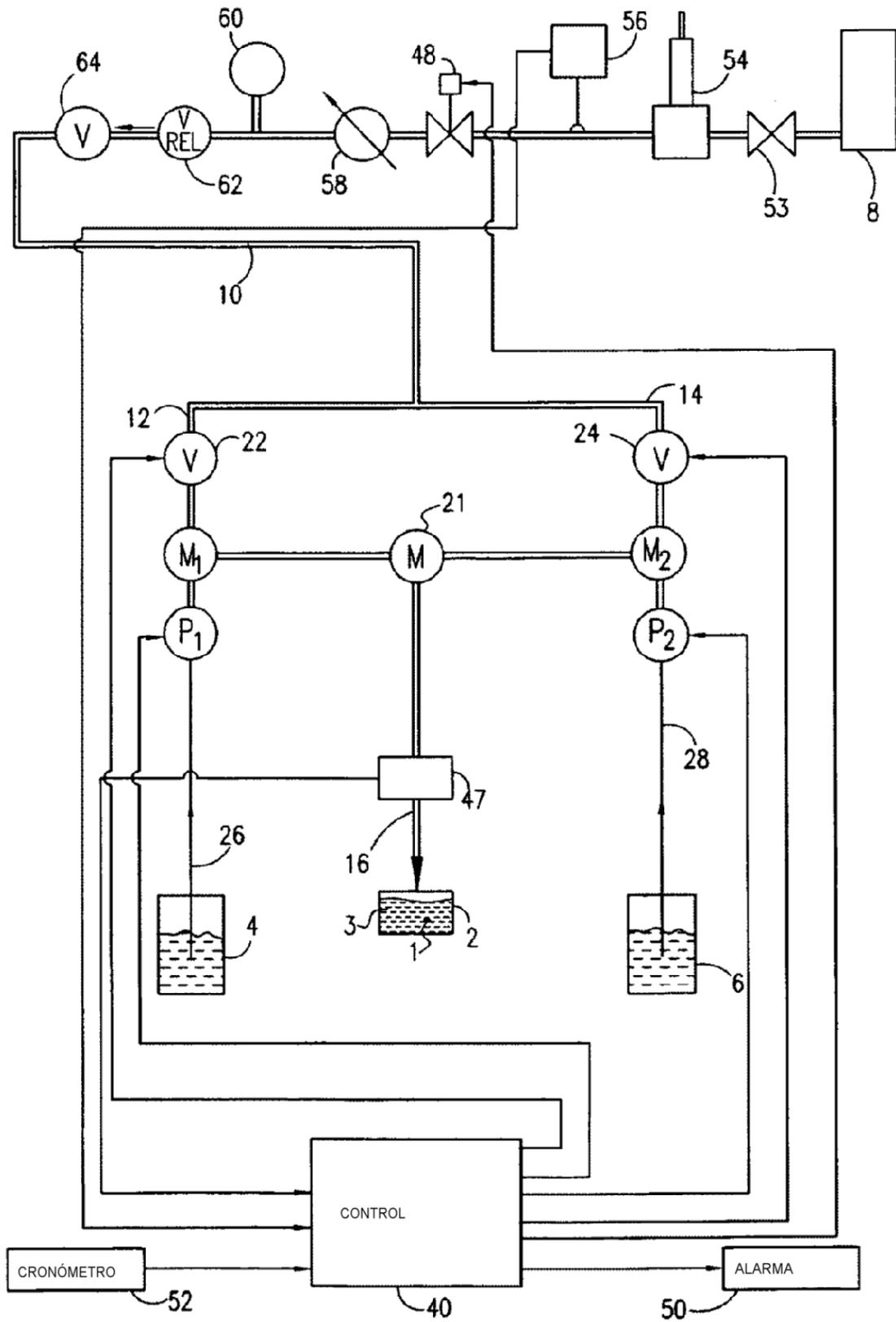
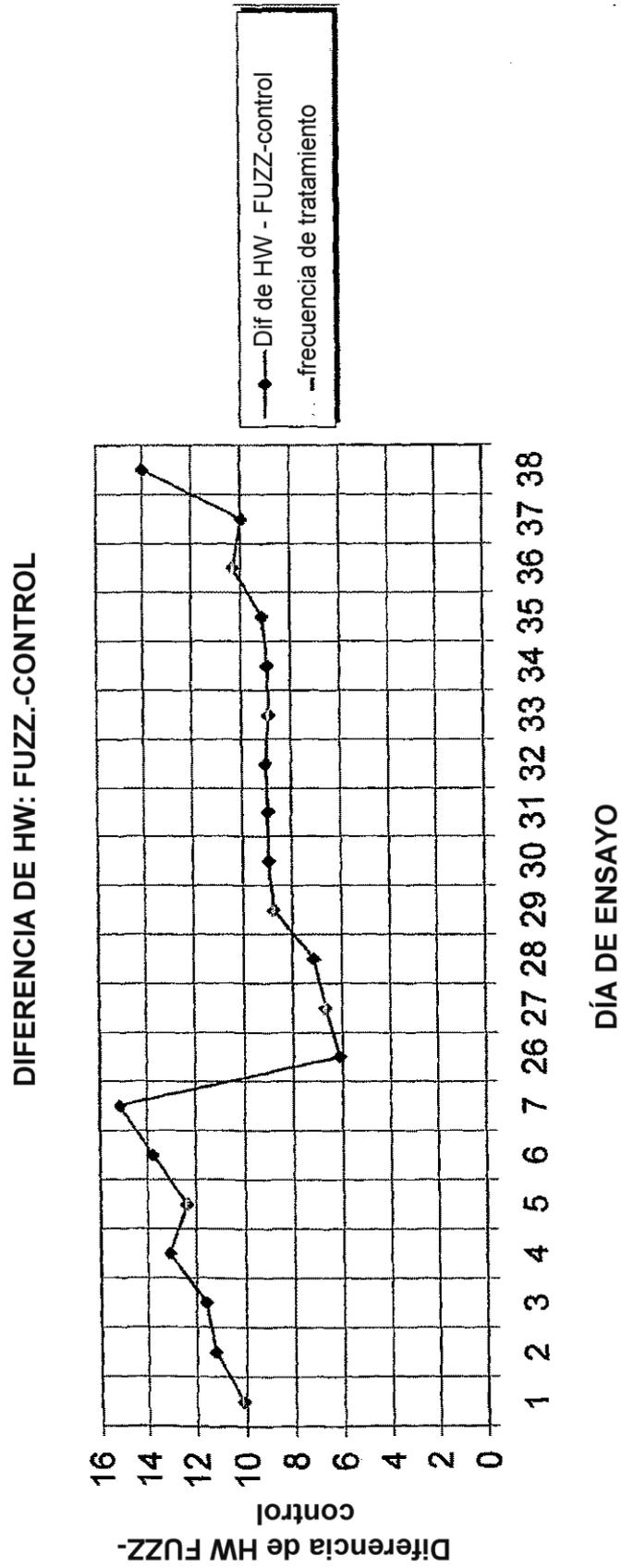


FIG. 3



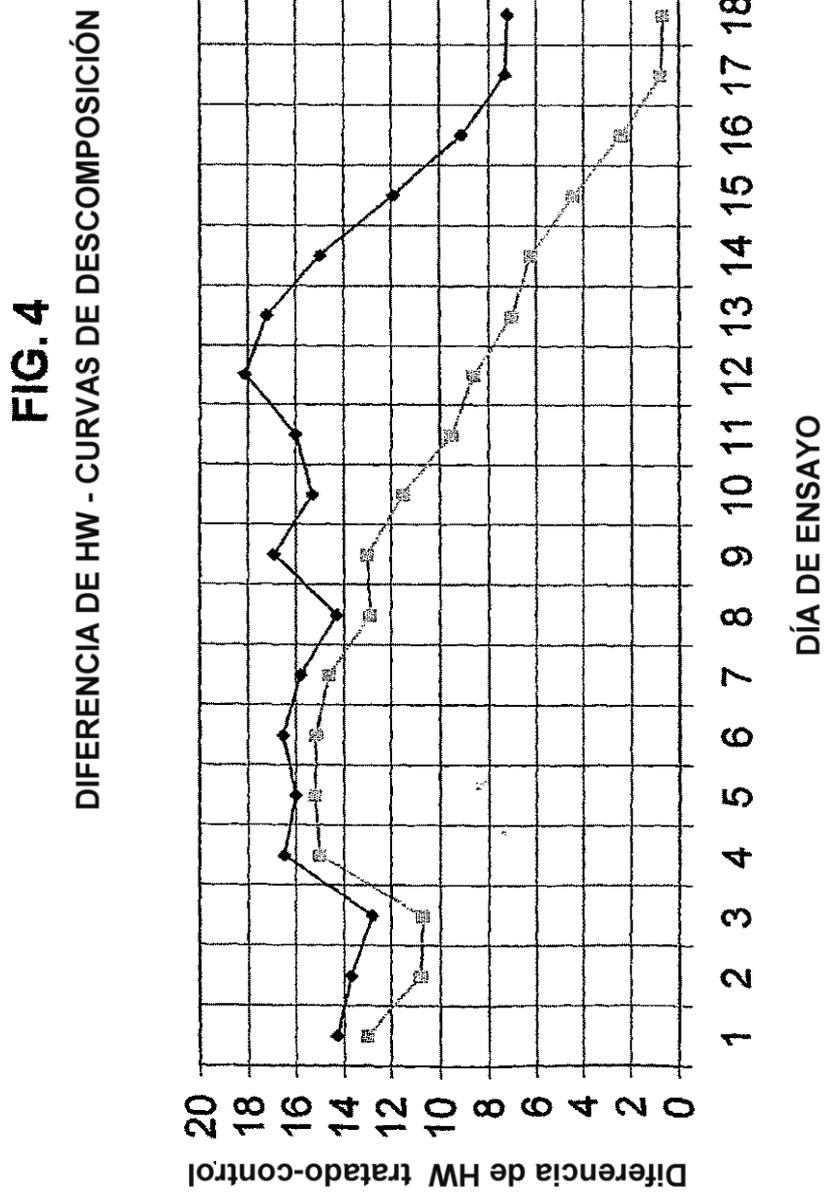


FIG. 5

AGUJEROS Y MANCHAS EN UN PAPEL DE ELIMINACIÓN DE BIOPELÍCULA

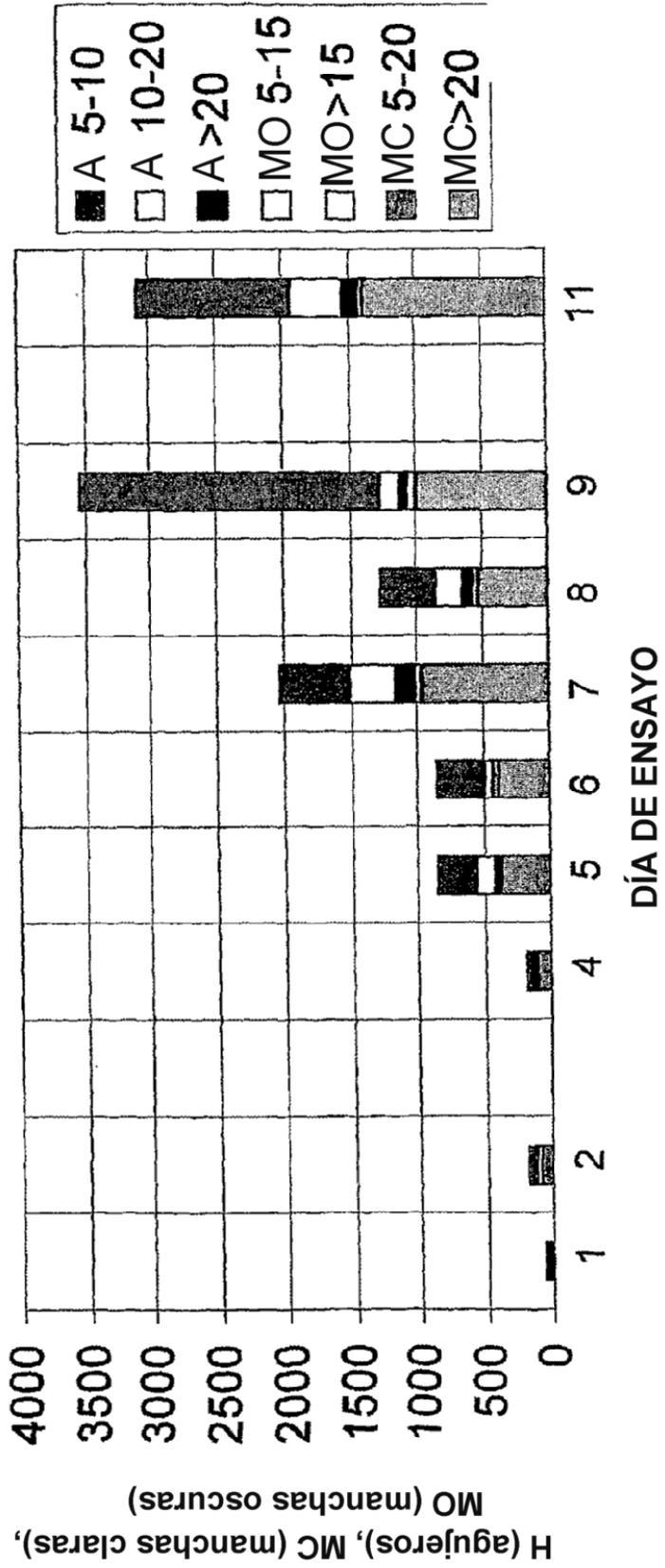


FIG. 6

AGUJEROS Y MANCHAS EN PAPEL - MÁQUINA LIMPIA

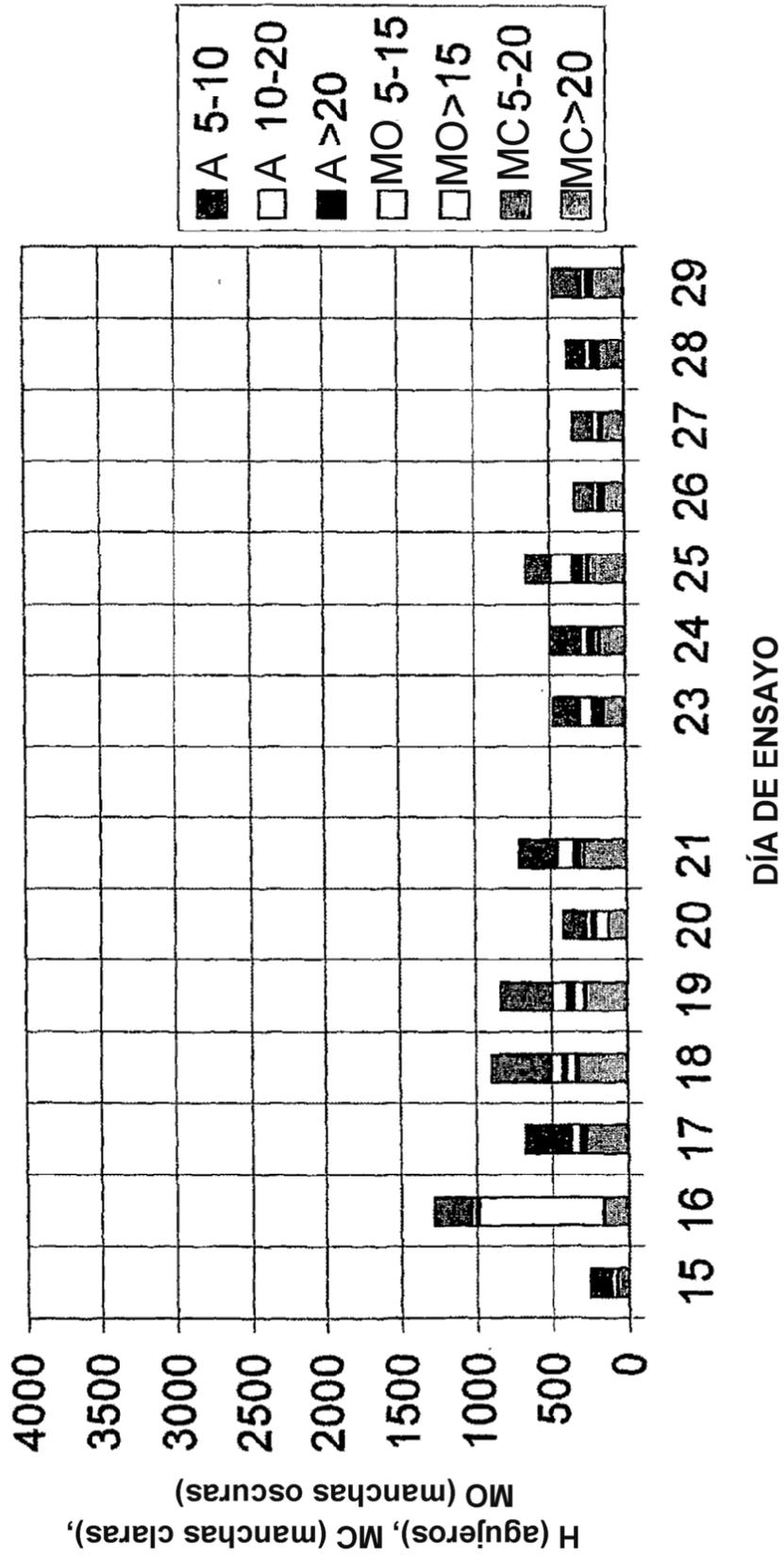


FIG. 7

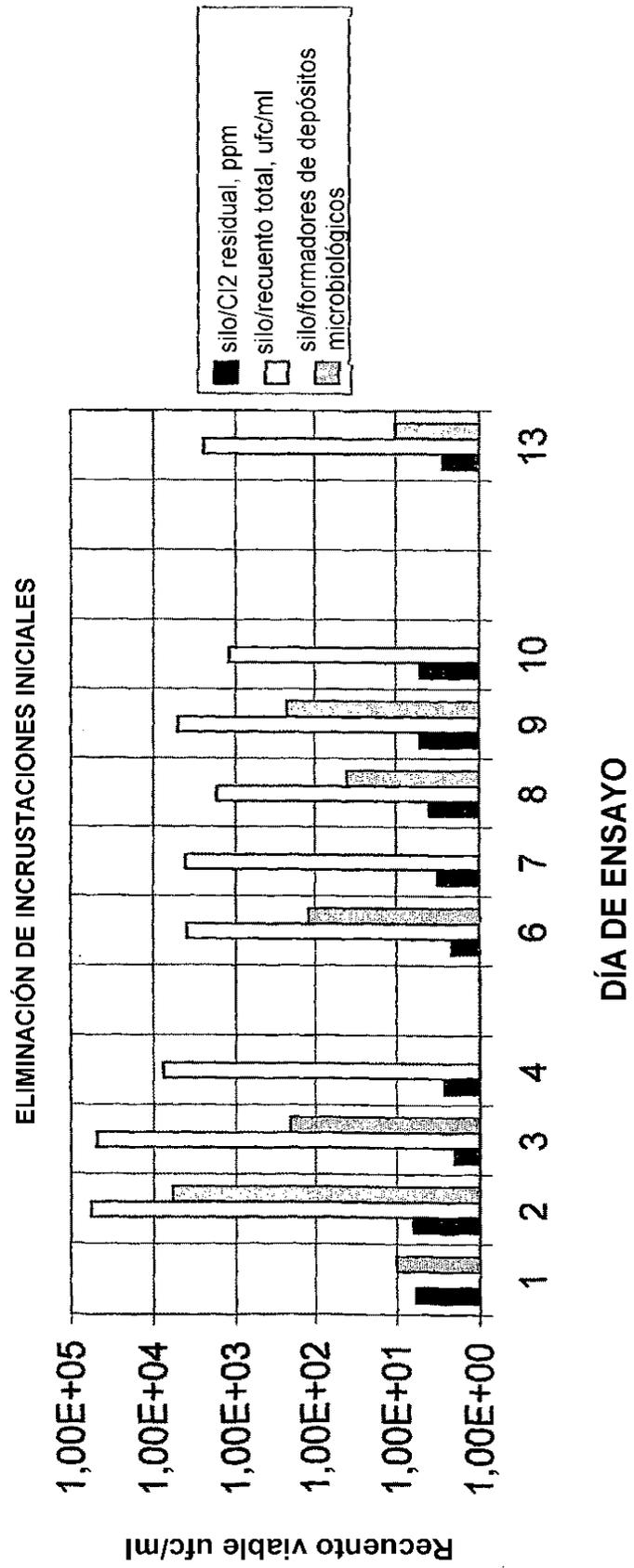


FIG. 8

retención/suministro de sustancia inhibidora de biopelícula

