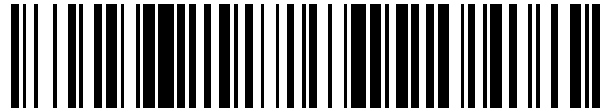


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 405 360**

51 Int. Cl.:

D21H 21/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.03.2007 E 07730533 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2013 EP 1994221**

54 Título: **Prevención de la formación de esporas bacterianas en un sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón**

30 Prioridad:

16.03.2006 FI 20060247

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

30.05.2013

73 Titular/es:

**KEMIRA OYJ (100.0%)
PORKKALANKATU 3
00180 HELSINKI, FI**

72 Inventor/es:

KOLARI, MARKO

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 405 360 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

Prevención de la formación de esporas bacterianas en un sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

5 La invención se refiere a la prevención o retraso de la formación de esporas bacterianas en el sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón o papel. El punto principal de formación de esporas bacterianas en una máquina de producción de cartón o papel es el sistema de circulación del papel de desecho. La transformación de las bacterias en esporas, o esporulación, en el sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón o papel puede prevenirse haciendo uso de la invención. La invención además se refiere a un método para producir cartón
10 de embalaje o papel de embalaje con un bajo contenido de esporas bacterianas, en el que el cartón de embalaje o papel de embalaje se produce a partir de papel de desecho.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Especialmente en las máquinas que producen cartón de embalaje para líquidos u otros cartones de embalaje aptos para el uso alimenticio, un bajo contenido en esporas bacterianas en el producto final es un importante factor de calidad. Las
15 células bacterianas que forman esporas normalmente están presentes en el entorno de las máquinas de producción de cartón bien como células vegetativas que se multiplican por división celular (forma vegetativa) o bien en forma de esporas muy resistentes a condiciones ambientales adversas (forma latente que puede sobrevivir durante años). La transformación de las células bacterianas de la forma vegetativa en la forma latente resistente se denomina esporulación, mientras que la retransformación de esporas bacterianas para dar células vegetativas se denomina germinación. En algunas máquinas de producción de cartón, es difícil conseguir un contenido bajo de esporas en los productos finales debido a una esporulación bacteriana excesiva. La erradicación de las esporas maduras requiere concentraciones elevadas de biocida y, en consecuencia, la prevención de la esporulación de las células bacterianas sería más eficiente en comparación con la eliminación de esporas maduras. Si se previene la esporulación bacteriana, las células del proceso permanecen en el estado vegetativo, por consiguiente, son más sensibles a los biocidas y más
20 susceptibles de ser aniquiladas por las altas temperaturas de la sección de secado al final.

Los factores que influyen en la germinación y esporulación de las células bacterianas se han estudiado ampliamente. Se sabe que la esporulación es un proceso controlado de una manera relativamente estricta que no puede detenerse una vez que se ha iniciado. Además, las células solamente esporulan en condiciones de estrés ambiental, por ejemplo, cuando carecen de nutrientes. Recientemente, González-Pastor *et al.* (2003) han mostrado que ante la escasez de nutrientes las bacterias *Bacillus subtilis*, primero tratan de retrasar la esporulación recurriendo al canibalismo. Los genes denominados *skf* (factor de esporulación citolítico) y *sdp* (proteína retardadora de la esporulación) se activan primero en las células que carecen de nutrientes, lo cual provoca la secreción de agentes citotóxicos y la muerte de las células hermanas que las rodean. Los nutrientes liberados por las células muertas son utilizados por las células supervivientes. Fujita *et al.* (2005) mostraron que la iniciación de la esporulación depende de la unidad de control denominada SpoOA que controla la expresión de alrededor de 121 genes implicados en la esporulación. El aumento de la proteína SpoOA primero resultó en el control de los genes necesarios para el crecimiento, y que por consiguiente causó, p e., la muerte de las células hermanas, la utilización de los nutrientes liberados y un incremento en la formación de la película biológica, y el proceso de esporulación real sólo tuvo lugar más tarde.

Hay varios estudios centrados en la resistencia de las esporas maduras frente a los factores de estrés ambiental. Turner *et al.* (2000) han estudiado la influencia de los agentes antimicrobianos en las esporas maduras de las bacterias *Bacillus subtilis*. La eficacia de los biocidas se redujo según se formaron la corteza y las capas interna y externa de las esporas durante el progreso de la esporulación. En las etapas iniciales de la esporulación, las esporas eran resistentes al tolueno, formaldehído, fenol y nitrato fenilmercurio. Una vez que estuvo lista la corteza, las esporas se volvieron resistentes al diacetato de clorhexidina (CHA, por sus siglas en inglés), compuestos de amonio cuaternario (QAC, por sus siglas en inglés) y compuestos que liberan cloro. En la etapa final de la esporulación, una vez que se terminaron las capas interna y externa, también se detectó resistencia a la enzima lisozima y al glutaraldehído. La resistencia a los biocidas de las esporas maduras es considerablemente mayor que la de las células bacterianas en el estado vegetativo. El cartón acabado no puede contener cantidades residuales de biocidas demasiado altas y, en consecuencia, las cantidades de biocida aplicado están limitadas para varias máquinas de producción de cartón, lo que, de este modo, previene en la práctica el uso de biocidas en las cantidades necesarias para la erradicación de las esporas maduras. Las esporas resistentes al calor también sobreviven a las altas temperaturas de la sección de secado de la máquina de producción de cartón, normalmente letales para las células vegetativas.

Varios iones metálicos, incluido el manganeso, están implicados en el crecimiento, esporulación y germinación de los microbios. En la bibliografía se pueden encontrar varios estudios acerca de la influencia de varios metales sobre diferentes actividades enzimáticas. Charney *et al.* (1951) mostraron que el manganeso es un metal de transición importante en la esporulación de las bacterias *Bacillus subtilis*. En este estudio, no tuvo lugar la esporulación bacteriana

5 en un medio de cultivo muy rico en nutrientes pero con una baja concentración de manganeso. La cantidad de células que esporularon se incrementó con la adición de 0,1 ppm o más de manganeso. Vasantha y Freese (1979) examinaron la función del manganeso en el crecimiento y esporulación de las bacterias *Bacillus subtilis*. Se mostró que el manganeso es un metal importante para la actividad de la enzima fosfoglicerato-fosfomutasa durante la esporulación. La esporulación en ausencia de manganeso tuvo éxito únicamente cuando se añadieron al medio glucosa, malato y el inhibidor de la decoyinina, ya que dicho inhibidor impide la formación de la guanosina-monofosfato-sintasa y, por consiguiente, evita la ruta metabólica del ácido 3-fosfoglicerídico. Por consiguiente, las células necesitan manganeso para la ruta normal de esporulación. Inaoka *et al.* (1999) mostraron que la enzima SodA (superóxido-dismutasa) de las bacterias *Bacillus subtilis* junto con el manganeso protegía las células contra agentes oxidantes externos en las etapas de crecimiento y esporulación, es decir, el manganeso es también un factor de protección celular importante. Que y Helmann (2000) mostraron que los genes *mnt* de las bacterias *Bacillus subtilis* están implicados en el transporte de manganeso. La mutación en estos genes impidió el transporte de manganeso lo cual provocó una reducción en la esporulación en comparación con la esporulación de las cepas naturales. La cantidad de células que esporularon en las cepas naturales fue de alrededor del 2,6 % cuando se añadieron 0,006 ppm de manganeso, y dicha cantidad fue del 39 % cuando la adición de manganeso fue de 0,8 ppm. Por tanto, la adición de manganeso claramente incrementó la esporulación.

20 Se sabe que el metabolismo de una spora bacteriana es prácticamente insignificante. Sin embargo, incluso en su etapa latente, las esporas ejercen una influencia sobre el manganeso presente en su ambiente. Francis y Tebo (2002) mostraron que se pueden aislar de la superficie de las esporas las enzimas capaces de oxidar manganeso en su forma soluble de Mn(II) para dar su forma insoluble de Mn(IV).

La publicación de la patente EP 0 799 928 describe un material fibroso que contiene un agente antifúngico antibacteriano que comprende una sal metálica de un compuesto orgánico. Dicha sal metálica puede ser una sal de plata, una sal de cobre o una sal de zinc y una fibra de intercambio iónico de un material fibroso salino. Se sugirió el uso de dicho material fibroso, por ejemplo, en filtros de aire.

25 GB 1 268558 describe complejos preparados haciendo reaccionar sales de zinc o cobre y ésteres del ácido 2-benzimidazolcarbámico. Se sugirió el uso de dichos complejos para controlar los hongos en la tierra o en plantas vivas.

30 Desde hace tiempo hay constancia de que el crecimiento de los microbios puede limitarse quelando el hierro y otros metales, pero, sin embargo, los quelatos no se usan normalmente con este fin ya que las concentraciones necesarias de estos son normalmente muy altas. Por ejemplo, en las máquinas de producción de cartón, se usan varios biocidas para inhibir el crecimiento microbiano. Fortnagel y Freese (1968) han estudiado la influencia de los quelatos en la esporulación. Mostraron, en una investigación básica centrada en el mecanismo de la esporulación de las bacterias *Bacillus subtilis*, que la esporulación puede detenerse con quelantes que se unen a los metales de transición e inhiben, por consiguiente, la enzima aconitasa. El ácido alfa-picolínico no inhibió el crecimiento en concentraciones menores de 1 mM (<123 ppm), mientras que en una concentración de 0,4 mM redujo la esporulación. También se inhibió la enzima aconitasa con concentraciones de ácido quináldico, *o*-fenantrolina y dipiridilo menores de 1 mM.

40 En la industria papelera, se ha estudiado la quelación de manganeso con respecto a los procesos de blanqueo. El objetivo del estudio de Kujala *et al.* (2004) fue la reducción de la cantidad de manganeso presente de forma natural en la madera durante el proceso de producción de la pulpa ya que descompone el peróxido de hidrógeno usado en el blanqueo de la pulpa. El mejor quelante de manganeso fue DTPMP, uno de los cuatro agentes quelantes usados en el estudio, a saber, NTA (ácido nitrilotriacético), EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético) y DTPMP (ácido dietilentriaminopentakis(metilenfosfónico)), con una capacidad quelante mayor del 95 %.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

45 La invención se refiere a la supresión de la esporulación bacteriana en el sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón o papel mediante la reducción de la concentración de metales de transición bivalentes, especialmente manganeso, controlando la esporulación hasta un nivel que impida la esporulación sin aniquilar las bacterias en el sistema del papel de desecho. Esto se consigue de una manera especialmente eficaz con la quelación, más específicamente, con el uso combinado de un agente quelante y un agente dispersante.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

50 El inventor ha descubierto que la circulación del papel de desecho es el punto principal de formación de esporas en las máquinas de producción de cartón. El inventor también ha descubierto que la cantidad total de bacterias en el tanque del papel de desecho puede mantenerse en el mismo nivel durante varios días, mientras que, simultáneamente, la proporción de bacterias que esporulan puede variar considerablemente. De acuerdo con las medidas, las concentraciones de manganeso bivalente y hierro bivalente en el sistema del papel de desecho varían entre valores de concentración microbiológicamente significativos. El inventor ha descubierto que la esporulación de bacterias presentes

5 en las máquinas de producción de cartón se controla de manera específica con el contenido de manganeso, y además, que un contenido bajo de manganeso es un factor limitante de la esporulación. La esporulación de las bacterias en el sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón se incrementa según se incrementan las concentraciones de manganeso bivalente y/o hierro bivalente. Parece ser que se necesitan unas cantidades mayores de manganeso en las etapas iniciales de la esporulación bacteriana que para las actividades normales de la vida. Por consiguiente, se ha descubierto que la esporulación puede prevenirse si se elimina, mediante quelación, una pequeña porción de la cantidad del manganeso, sin que esto influya en la viabilidad de las células. Por consiguiente, una ligera reducción de las concentraciones de manganeso bivalente y hierro bivalente resulta en niveles más bajos de esporas bacterianas tanto en el sistema del papel de desecho de la máquina de producción de cartón como en el producto final, sin aniquilar directamente las células bacterianas (método no biocida para controlar microbios).

10 Por consiguiente, la invención proporciona un método para prevenir o retrasar la esporulación bacteriana en el sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón o papel disminuyendo el contenido de metales de transición en el papel de desecho hasta un nivel desfavorable para la esporulación.

15 Además, la invención proporciona un método para producir cartón de embalaje o papel de embalaje con un bajo contenido en esporas bacterianas, donde se usa papel de desecho para producir el cartón de embalaje o el papel de embalaje, y dicho método comprende la disminución del contenido de los metales de transición en el papel de desecho hasta un nivel desfavorable para la esporulación.

Dicho procedimiento para disminuir el contenido de los metales de transición comprende en particular la quelación.

20 De acuerdo con una realización preferida, el procedimiento usado para disminuir el contenido de los metales de transición no aniquila sustancialmente las células bacterianas presentes en el sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón o papel.

25 En la presente invención, la expresión "disminuir el contenido de los metales de transición" se refiere principalmente a la reducción de las concentraciones de iones libres de los metales de transición. Si se usan agentes quelantes, las concentraciones de los metales de transición disminuyen como consecuencia de la unión de dichos iones de los metales de transición a dichos agentes quelantes.

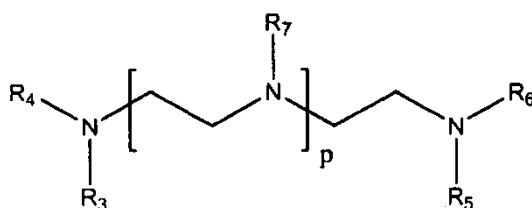
30 La invención concierne principalmente a los sistemas del papel de desecho de las máquinas de producción de cartón que producen cartón de embalaje, en particular, cartón utilizable en el embalaje de alimentos, principalmente cartón de embalaje de líquidos. Los cartones de dicho tipo normalmente tienen estructuras multicapa donde el cartón producido de acuerdo con la invención se coloca, preferentemente, en el medio de la estructura multicapa, por ejemplo, en el caso de una estructura con tres capas, entre las capas superior y trasera. Dichas capas superior y trasera pueden, por ejemplo, producirse a partir de pulpa química blanqueada. Tales cartones de embalaje pueden, por consiguiente, comprender del 10 al 25 % de la capa superior, del 50 al 80 % del cartón que contiene el papel de desecho y del 10 al 25 % de la capa trasera, en peso. Como es sabido, los cartones de embalaje también pueden comprender una o más capas de papel de aluminio y/o una o más capas poliméricas.

35 La invención también se refiere al sistema del papel de desecho de una máquina de producción de papel que produce papeles higiénicos o papeles de embalaje útiles, por ejemplo, para embalajes de alimentos, embalajes de medicamentos, envoltorios protectores para materiales asépticos, en la industria tabaquera o en otras aplicaciones donde se requiere pureza microbiológica en el producto acabado.

Bacillus, *Paenibacillus*, *Brevibacillus* y *Alicyclobacillus* son géneros bacterianos con capacidad de esporulación aeróbica.

40 De acuerdo con la invención, se puede disminuir el contenido de los metales de transición mediante la quelación. Puede usarse para la quelación un agente quelante que tenga las fórmulas I, II, III, IV, V o VI mostradas a continuación o cualquier otro agente quelante descrito a continuación.

Un agente quelante preferido es un compuesto que tiene la siguiente fórmula general:



45 donde

p es 0 o un número entero comprendido entre 1 y 10,

R₃, R₄, R₅, R₆ y R₇ son independientemente un átomo de hidrógeno o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene uno o más ligandos quelantes activos tales como un grupo o grupos hidroxilo, fosfónico o carboxilo, o una sal de estos.

5 Dicha cadena alquilo es preferentemente metileno –CH₂– o etileno –CH₂CH₂–.

En la fórmula I, R₃, R₄, R₆ y R₇ son preferentemente grupos idénticos.

Los agentes quelantes que tienen la fórmula I anterior incluyen ácidos poliaminopolicarboxílicos y ácidos poliaminopolimetilfosfónicos.

10 Los ácidos poliaminopolicarboxílicos pueden producirse por métodos típicos a partir de poliamina y formaldehído y cianuro sódico o ácido cianhídrico. Un método más adecuado para la producción a pequeña escala es el uso del ácido acético halogenado como material de partida, en particular el ácido monocloroacético.

Los ácidos poliaminopolicarboxílicos preferidos incluyen:

DTPA: p = 1; R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = R₇ = –CH₂COOH

TTHA: p = 2; R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = R₇ = –CH₂COOH

EDTA: p = 0; R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = R₇ = –CH₂COOH

HEDTA: p = 0; R₃ = R₄ = R₅ = –CH₂COOH, R₆ = –CH₂CH₂OH

EDDS: p = 0; R₃ = R₅ = H, R₄ = R₆ = –CH(COOH)CH₂COOH (ácido etilendiaminodisuccínico).

15 Los ácidos poliaminopolimetilfosfónicos se producen de modo convencional a partir de la correspondiente poliamina, formaldehído y ácido fosfónico. En el caso de aminas superiores, la sustitución completa con grupos de ácido acético o grupos de ácido metilfosfónico es cada vez más difícil.

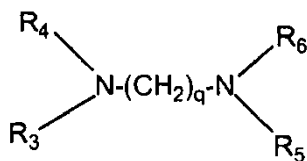
Los ácidos poliaminopolimetilfosfónicos preferidos incluyen:

DTPMPA: p = 1; R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = R₇ = –CH₂POO₂H₂

TTHMPA: p = 2; R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = R₇ = –CH₂POO₂H₂

EDTMPA: p = 0; R₃ = R₄ = R₅ = R₆ = –CH₂POO₂H₂

Otro agente quelante preferido es un compuesto que tiene la siguiente fórmula general:



20

II

donde

q es un número entero comprendido entre 3 y 10,

R₃, R₄, R₅ y R₆ son independientemente un átomo de hidrógeno o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene uno o más ligandos quelantes activos tales como un grupo o grupos hidroxilo, fosfónico o carboxilo, o una sal de estos.

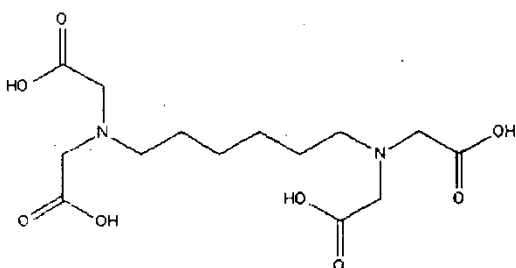
25

Dicha cadena alquilo es preferentemente metileno –CH₂– o etileno –CH₂CH₂–.

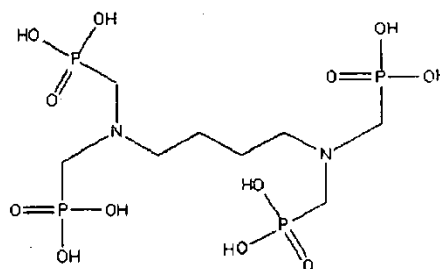
En la fórmula II, R₃, R₄, R₅ y R₆ son preferentemente grupos idénticos.

El grupo –(CH₂)_q– puede representar también una estructura cíclica tal como un anillo ciclohexano. El ácido 1,2-diaminociclohexanotetraacético (DCTA) es un ejemplo de un agente quelante de este tipo.

30 Los agentes quelantes de la fórmula II anterior incluyen el ácido hexametildiaminotetraacético (q = 6) y el ácido tetrametilendiaminotetra(metilfosfónico) (q = 4), ambos comercializados y tienen las siguientes fórmulas:

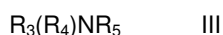


ácido hexametilendiaminotetracético



ácido tetrametilendiaminotetra(metilenfosfónico)

Un tercer agente quelante preferido es un compuesto que tiene la siguiente fórmula general:



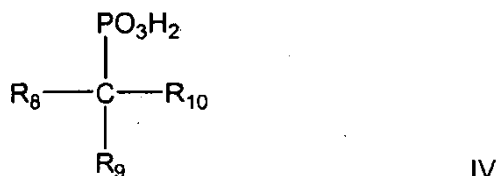
- 5 donde R_3 , R_4 y R_5 son independientemente un átomo de hidrógeno o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene uno o más ligandos quelantes activos tales como un grupo o grupos hidroxilo, fosfónico o carboxílico, o una sal de estos.

Dicha cadena alquilo es preferentemente metileno $-\text{CH}_2-$ o etileno $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$.

- 10 En la fórmula III, R_3 , R_4 y R_5 son preferentemente grupos idénticos.

Los ejemplos de los agentes quelantes con la fórmula III anterior incluyen el ácido nitrilotriacético (NTA) comercializado: $R_3 = R_4 = R_5 = -\text{CH}_2\text{COOH}$.

Otro agente quelante preferido más es un compuesto que tiene la siguiente fórmula general:

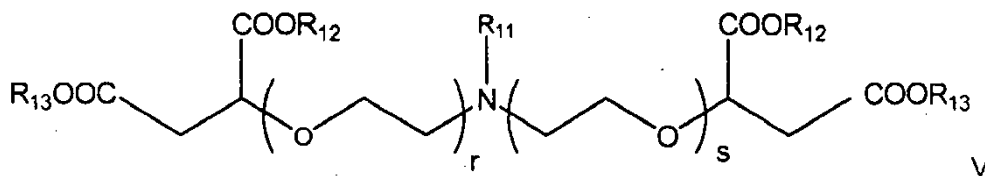


- 15 donde R_8 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo con 1-6 átomos de carbono o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene un grupo hidroxilo, fosfónico o carboxilo, R_9 representa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un grupo fosfónico, un grupo carboxilo o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene uno o dos grupos carboxilo, y R_{10} representa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, un grupo alquilo con 1-6 átomos de carbono o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene un grupo carboxilo o una sal de este.

Dicha cadena alquilo es preferentemente metileno $-\text{CH}_2-$ o etileno $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$.

Los ejemplos de agentes quelantes con la fórmula IV anterior que no contienen nitrógeno incluyen el ácido 1-hidroxietiliden-1,1-difosfónico (HEDP).

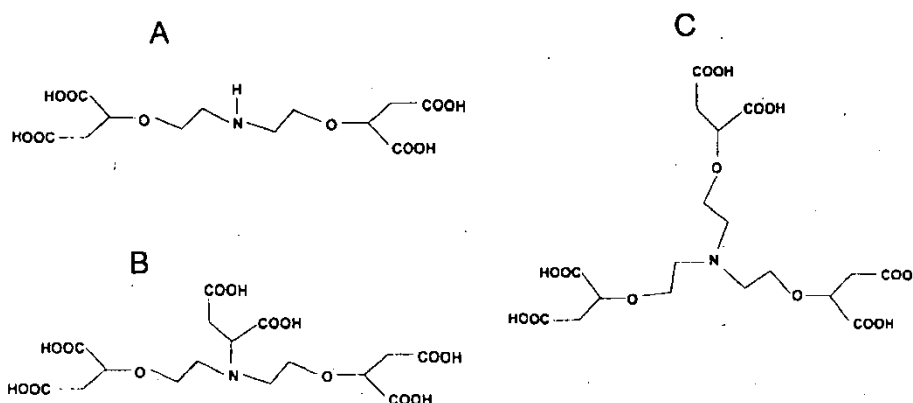
- 25 Otro agente quelante preferido más es un compuesto que tiene la siguiente fórmula general:



donde R_{11} representa:

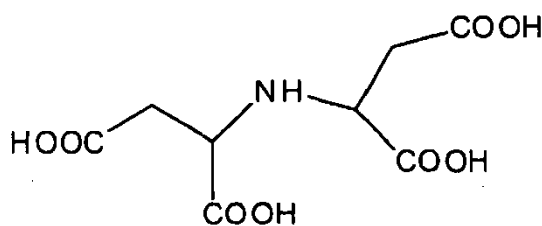
- un átomo de hidrógeno,
 una cadena alquilo con 1-30 átomos de carbono,
 una cadena alquilo con 1-30 átomos de carbono y con 1-10 grupos ácido carboxílico unidos a dicha cadena, o una sal de un metal alcalino o un metal alcalinotérreo de estos,
 5 una cadena alquilo con 1-30 átomos de carbono y con 1-10 grupos éster de ácido carboxílico unidos a dicha cadena
 una cadena hidrocarbonada (poli)etoxilada con 1-20 grupos etoxilo, o
 una amida de un ácido carboxílico con 1-30 átomos de carbono, donde el enlace N-R₁₁ es un enlace amida,
 R₁₂ y R₁₃ son: hidrógeno, un ión de un metal alcalino o un ión de un metal alcalinotérreo o un grupo alquilo que tiene 1-30 átomos de carbono,
 10 r es 0 o 1, y
 s es 0 o 1.

Se prefieren las siguientes *N*-bis- o tris[(1,2-dicarboxietoxi)etil]aminas con la fórmula V:



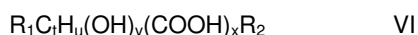
- 15 A = *N*-bis[2-(1,2-dicarboxietoxi)etil]amina
 B = ácido *N*-bis[2-(1,2-dicarboxietoxi)etil]aspártico (AES, por sus siglas en inglés)
 C = *N*-bis[2-(1,2-dicarboxietoxi)etil]amina.

Una *N*-bis(1,2-dicarboxietil)amina con la fórmula V preferida es el ácido iminodisuccínico (ISA, por sus siglas en inglés) que tiene la fórmula:



ISA

- 20 Otro agente quelante preferido más es un compuesto que tiene la siguiente fórmula general:



- donde
 t varía entre 1 y 8,
 u varía entre 0 y 2t,
 25 v varía entre 0 y t,
 x varía entre 0 y 2,
 R₁ es COOH y
 R₂ es H, CH₂OH o COOH.

Un agente quelante con la fórmula VI anterior es un ácido hidroxicarboxílico que no contenga nitrógeno ni fósforo, tal como:

ácido glucónico: $t = 4, u = 4, v = 4, x = 0, R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$

ácido cítrico: $t = 3, u = 4, v = 1, x = 1, R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{COOH}$

5 ácido tartárico: $t = 2, u = 2, v = 2, x = 0, R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{COOH}$.

Otros ácidos hidroxicarboxílicos útiles incluyen el ácido salicílico.

Otro agente quelante útil más es el ácido etilenglicolbis(2-aminoetileter)-*N,N,N',N'*-tetraacético (EGTA).

10 Además de los agentes quelantes anteriores, también se pueden usar como agentes quelantes ácidos carboxílicos insaturados o saturados tales como el ácido acético o ácido maleico, o aminoácidos tales como la alanina, glicina o cisteína.

15 Aunque la descripción precedente presenta las fórmulas de los agentes quelantes en la forma ácida, dichos agentes normalmente se comercializan como sales básicas, principalmente sales sódicas, y, por consiguiente, debe sobrentenderse que las fórmulas anteriores representan tanto los ácidos libres como sus sales, incluidas las sales de metales alcalinos tales como las sales sódicas y potásicas, y de metales alcalinotérreos tales como las sales magnésicas y cálcicas.

De acuerdo con la invención, también es posible usar una mezcla de dos o más de los agentes quelantes descritos anteriormente.

DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético) es un agente quelante especialmente preferido.

20 La cantidad del agente quelante es preferentemente de al menos 1,5 ppm y preferentemente de 70 ppm como máximo, por ejemplo, de 50 ppm como máximo. La cantidad de agente quelante puede variar entre 1,5 y 70 ppm, preferentemente entre 1,5 y 30 ppm, preferentemente entre 2 y 30 ppm, más preferentemente entre 7,5 y 15 ppm (peso/volumen), en función del volumen del papel de desecho (incluida la fase acuosa). La cantidad del agente quelante se calcula respecto al peso del agente activo. La consistencia del papel de desecho antes del espesador del papel de desecho está comprendida normalmente entre alrededor del 1 y el 3 % en peso.

25 De acuerdo con la invención, se puede usar una combinación del agente quelante, definido anteriormente, y el agente dispersante, definido a continuación.

Los agentes dispersantes hidrosolubles, útiles para la presente invención, incluyen:

Lignosulfonatos tales como el lignosulfonato sódico.

30 Productos de la condensación de ácidos sulfónicos aromáticos con formalina, tales como los sulfonatos de naftaleno condensados.

35 Polímeros aniónicos dispersantes y copolímeros polimerizados a partir de monómeros aniónicos, o cargados para dar una forma aniónica después de la polimerización. Dichos polímeros comprenden unidades repetidas con cargas aniónicas tales como ácidos carboxílicos, sales de ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos, sales de ácidos sulfónicos y/o mezclas de estos. Los copolímeros aniónicos pueden ser producidos mediante la copolimerización de un monómero aniónico con otro comonómero aniónico, un comonómero no cargado y/o un comonómero catiónico. Los monómeros aniónicos pueden incluir normalmente el ácido acrílico, ácido metacrílico, acrilato de hidroxietilo, sulfonato de vinilo, ácido 2-acrilamido-2-metilpropanosulfónico, ácido estirenosulfónico o sus sales y otros monómeros correspondientes. Los polímeros cargados para dar una forma aniónica únicamente después de la polimerización incluyen poli(acrilamidas hidrolizadas) y polímeros producidos a partir del anhídrido maleico.

40 Los polímeros aniónicos también pueden contener diferentes tipos de unidades repetidas cargadas tales como fosfatos, como el fosfato del metacrilato de etilenglicol, o ácidos fosfónicos o sus sales, como el ácido vinilfosfónico.

Como ejemplos de los polímeros aniónicos descritos anteriormente se pueden mencionar los polimetacrilatos, polímeros de acrilato y maleato, polimaleato, ácido poli- α -hidroxiacrílico, sulfonato de polivinilo, sulfonato de poliestireno, sulfonato de 2-acrilamido-2-metilpropano y fosfonato de polivinilo;

45 polifosfatos como el hexametáfosfato;

polímeros no cargados como el alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polialcoxisilanos y alcoholes polietoxilados;

polímeros dispersantes cargados catiónicamente como polímeros de dicianidamida y formaldehído, y poliaminas.

Otros agentes dispersantes útiles incluyen polisacáridos tales como el almidón natural o modificado, o la celulosa modificada como la carboximetilcelulosa, y derivados de estos.

Otro grupo más de agentes dispersantes útiles consta de compuestos tensioactivos que pueden ser:

- 5 • aniónicos, tales como los ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos, ésteres del ácido sulfúrico, ácidos fosfóricos y ésteres de ácidos polifosfóricos y sales de estos,
- no iónicos, tales como los alcoholes etoxilados, alquilfenoles etoxilados, ésteres de ácidos carboxílicos etoxilados y amidas de ácidos carboxílicos etoxilados,
- catiónicos, tales como las aminas sin oxígeno, aminas con oxígeno, aminas con un enlace amida y sales de amonio cuaternario.

- 10 Cabe también señalar que, además de la propiedad quelante, algunos de los agentes quelantes de la invención tienen ellos mismos propiedades dispersantes.

La relación en peso entre el agente quelante y el agente dispersante está comprendida preferentemente entre 5:1 y 50:1, más preferentemente entre 10:1 y 30:1.

- 15 La cantidad del agente quelante y el agente dispersante combinados es preferentemente de al menos 1,5 ppm y preferentemente de 70 ppm como máximo, por ejemplo, de 50 ppm como máximo. La cantidad del agente quelante y el agente dispersante combinados puede variar entre 1,5 y 70 ppm, preferentemente entre 1,5 y 30 ppm, por ejemplo, entre 2 y 70 ppm, preferentemente entre 2 y 30 ppm, más preferentemente entre 7,5 y 15 ppm (peso/volumen) en función del volumen del papel de desecho (incluida la fase acuosa). La cantidad del agente quelante y del agente dispersante se calcula en función de los pesos de los agentes activos.

- 20 El agente quelante, o el agente quelante y el agente dispersante combinados, se dosifica hasta un punto adecuado al principio del sistema del papel de desecho, por ejemplo, antes del primer tanque del papel de desecho/torre del papel de desecho o en el primer tanque del papel de desecho/torre del papel de desecho (torre para el papel de desecho diluido en la fig. 1, número 2). Si la dosificación se lleva a cabo antes del tanque del papel de desecho/torre del papel de desecho, el punto de dosificación adecuado es una de las trituradoras, las tuberías que salen de las trituradoras o una tubería común que sale de las trituradoras, o una tubería para recircular el agua usada para transformar el papel de desecho en pulpa (número 1 en la fig. 1). En algunos casos especiales la máquina no incluye una torre para el papel de desecho diluido o el tiempo de retención del papel de desecho en el primer tanque del papel de desecho es tan corto que todavía es posible afectar la esporulación llevando a cabo la dosificación, p. ej., en el espesador del papel de desecho (número 3 en la fig. 1) o en la torre de almacenamiento del papel espesado (número 4 en la fig. 1).

- 30 Aunque el agente quelante y el agente dispersante se pueden dosificar por separado, es preferible dosificarlos como una mezcla.

Es particularmente preferible llevar a cabo la dosificación del agente quelante, o del agente quelante y el agente dispersante combinados, en función de los resultados de las medidas en línea de los metales de transición.

- 35 De acuerdo con la invención, también es posible añadir un biocida oxidante además del agente quelante, o del agente quelante y el agente dispersante combinados. Dicho biocida oxidante puede ser un compuesto perácido tal como el ácido peracético, ácido peracético, ácido peracético, hipoclorito, dióxido de cloro, dimetilhidantoína halogenada, bromuro de amonio, cloramina o ácido hipobromico. El biocida se dosifica preferentemente en una de las etapas iniciales del sistema del papel de desecho. En esta realización, la adición del quelato también puede tener otros efectos favorables. Si se usan biocidas oxidantes en la máquina de producción de cartón, la disminución en el rendimiento de la máquina debido a la oxidación de metales es menor si la concentración de manganeso bivalente y otros metales de transición se hace disminuir, y por tanto mejora la eficacia antimicrobiana.

En esta invención, el metal de transición puede comprender un metal de transición bivalente, preferentemente manganeso bivalente o hierro bivalente, o manganeso bivalente y hierro bivalente.

- 45 De acuerdo con la invención, las células bacterianas vegetativas son erradicadas de la máquina de producción de cartón o papel con altas temperaturas, preferentemente en la sección de secado de la máquina.

Se describe ahora la invención haciendo referencia a los dibujos anexados, donde:

figura 1: muestra un esquema simplificado de las diferentes etapas típicas de los sistemas del papel de desecho de las máquinas de producción de cartón o papel,

- figura 2: muestra la formación de esporas aeróbicas en el papel de desecho de una máquina de producción de cartón en función del tiempo y, además, el efecto del manganeso bivalente, hierro bivalente y DTPA sobre ella,
- figura 3: muestra el efecto de las adiciones del producto de ensayo C sobre la cantidad de bacterias aeróbicas en el papel de desecho de una máquina de producción de cartón en función del tiempo,
- 5 figura 4: muestra la formación de esporas aeróbicas en el papel de desecho de una máquina de producción de cartón en función del tiempo y, además, la eficacia del producto de ensayo C,
- figura 5: muestra el efecto de las adiciones de metales, DTPA y el producto de ensayo C sobre la cantidad de bacterias aeróbicas en el papel de desecho de una máquina de producción de cartón en función del tiempo,
- 10 figura 6: muestra la formación de esporas aeróbicas en el papel de desecho de una máquina de producción de cartón en función del tiempo y, además, la eficacia de metales, DTPA y el producto de ensayo C,
- figura 7: muestra la formación de esporas aeróbicas en el papel de desecho de una máquina de producción de cartón en función del tiempo y, además, la eficacia de los metales y el producto de ensayo C,
- figura 8: muestra la formación de esporas aeróbicas en el papel de desecho de una máquina de producción de cartón en función del tiempo, y además, la eficacia de los productos de ensayo A y D, y
- 15 figura 9: muestra el efecto de la adición de los productos de ensayo A y D sobre la cantidad de bacterias aeróbicas en el papel de desecho de una máquina de producción de cartón en función del tiempo.

En la figura 1, el número de referencia 1 muestra líneas que salen de varias trituradoras. La pulpa originada en varias trituradoras se hace llegar hasta la primera torre del papel de desecho 2 y a continuación hasta el espesador del papel de desecho 3. El papel de desecho espesado entra en la torre 4 para dicho papel de desecho espesado y el filtrado del espesador de papel de desecho se hace llegar al tanque 5 para recircularlo al sistema del papel de desecho o en otro punto adecuado. El papel de desecho espesado se hace pasar a través de un filtro 6 hasta una refinadora 7, y a continuación hasta la cámara de dosificación 8 de la máquina de producción de cartón.

Debido a que el sistema del papel de desecho (figura 1) desempeña una función esencial en la formación de esporas en la máquina de producción de cartón, el mejor punto de dosificación está antes de la primera torre del papel de desecho 2, ya sea en la línea común procedente de diferentes trituradoras o en varias líneas 1. La dosificación es preferentemente continua, pero, si es posible, es preferible conectar el control de los valores establecidos de las bombas de dosificación a los flujos procedentes de las diferentes trituradoras. Las cantidades de la dosificación pueden variar entre 2 y 70 ppm, preferentemente entre 2 y 30 ppm, y más preferentemente entre 7,5 y 15 ppm (peso/volumen) del quelato, o entre 2 y 70 ppm, preferentemente entre 2 y 30 ppm, y más preferentemente entre 7,5 y 15 ppm (peso/volumen) del quelato y el agente dispersante combinados.

La dosificación también se puede llevar a cabo, por ejemplo, de forma inmediata en la trituradora o directamente en la primera torre 2 de la recirculación del papel de desecho. La dosificación también se puede llevar a cabo en otra etapa de la recirculación del papel de desecho tal como en el espesador del papel de desecho 3, el agua 5 filtrada del papel de desecho o en la torre de papel de desecho espesado, tal dosificación, sin embargo, no necesariamente previene la esporulación de una manera tan eficaz como una dosificación en una etapa lo más inicial posible de la recirculación del papel de desecho.

La invención se describe a continuación con más detalle por medio de ejemplos.

Ejemplo 1

En este experimento de laboratorio se estudió, en las condiciones del sistema del papel de desecho, el efecto del manganeso bivalente y el hierro bivalente así como el de un agente quelante (DTPA, ácido dietilentriaminopentaacético) sobre la esporulación de bacilos aislados de una máquina de producción de cartón. Para el experimento, se preparó un inóculo sin esporas a partir de la cepa 217 de *Bacillus licheniformis*, llevando a cabo tres cultivos consecutivos en un medio líquido durante 24 horas (Medio extracto de levadura – triptona, + 50 °C, agitación a 100 rpm) y utilizando una baja cantidad de inóculo (0,1 % en volumen/volumen). El papel de desecho sin esporas se preparó mediante la esterilización del papel de desecho diluido de la máquina de producción de cartón. Se añadió al papel de desecho una pequeña cantidad de almidón pulverizado utilizado en la máquina de producción de cartón para reponer la cantidad de almidón consumida por la actividad bacteriana durante el transporte de la muestra de papel de desecho al laboratorio. El papel de desecho se dividió en alícuotas de 25 mL cada una que se colocaron en tubos, a continuación se adicionaron los agentes de ensayo en diferentes concentraciones. Se esterilizaron por filtración soluciones patrón al 0,2 % de manganeso ($Mn(II)Cl_2 \times 4 H_2O$) y hierro ($Fe(II)SO_4 \times 7 H_2O$) en agua desionizada usando filtros de pulverización

de 0,2 μm . Se añadieron a cada tubo 25 μL de cultivo sin esporas de *Bacillus* y a continuación se mantuvieron los tubos a 45 $^{\circ}\text{C}$ (agitación a 100 rpm). Se determinaron las cantidades de bacterias aeróbicas y esporas aeróbicas en cada tubo después de diferentes tiempos de exposición. Se determinó la cantidad de bacterias aeróbicas mediante un método de filtrado, mientras que las esporas aeróbicas se determinaron en muestras pasteurizadas (20 min, 80 $^{\circ}\text{C}$) usando el método de vertido en placa (Agar para el recuento en placa en ambos casos, 44 $^{\circ}\text{C}$, 3 d).

Los resultados se presentan en la figura 2. En la muestra de control, sin ninguna adición excepto de la del almidón pulverizado, no se formaron esporas tras 24 horas, mientras que se detectaron 190 esporas/mL tras 29 horas. En ese mismo momento, la cantidad de bacterias aeróbicas (no se muestra) fue de 110 000 CFU/mL, es decir, la frecuencia de esporulación tuvo un valor de tan solo el 0,17 %. Basándose en estos resultados, las condiciones en el papel de desecho no fueron particularmente favorables para la esporulación. La adición de metales fomentó la esporulación. Por ejemplo, la adición de 0,4 ppm de Mn(II) y 1,5 ppm de Fe (II) al papel de desecho dio como resultado la formación de esporas maduras en 24 horas. Al final del ensayo (29 h), el recuento de esporas fue de 9000 CFU/mL, con un incremento, por tanto, del 98 % en comparación con el control, mientras que la frecuencia de esporulación fue del 10 %. La adición de 12,5 ppm de un agente quelante (DTPA) (como agente activo) redujo la esporulación en un 79 %, mientras que una adición de 17,5 ppm dio como resultado una inhibición total.

Ejemplo 2

En este experimento de laboratorio se estudió, en las condiciones del sistema del papel de desecho, el efecto de un producto de ensayo C, que contenía un agente dispersante y DTPA, sobre la esporulación de bacilos aislados de una máquina de producción de cartón. La composición del producto de ensayo C era la siguiente: 40 % (peso/volumen) de la sal pentasódica del ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), 2 % (peso/volumen) de gluconato sódico y 2 % (peso/volumen) de sulfonato de naftaleno (polímero condensado del ácido naftalenosulfónico y el formaldehído). El estudio se llevó a cabo como el estudio del ejemplo 1, excepto por el hecho de que el inóculo se cultivó a 45 $^{\circ}\text{C}$, sin la adición del almidón pulverizado al papel de desecho.

En las figuras 3 y 4 se presentan los resultados de los ensayos. En este experimento, se formaron 32 000 esporas/mL en la muestra de control (papel de desecho sin ningún aditivo), la frecuencia de esporulación fue, por tanto, del 3,2 %. Esto sugiere que las condiciones en este papel de desecho fueron más favorables para la esporulación de bacilos que en la muestra de papel de desecho usada en el experimento del ejemplo 1. Como puede verse en la figura 3, el producto de ensayo C no fue tóxico para los bacilos pero, sin embargo, redujo claramente la esporulación (figura 4). Por ejemplo, en el caso de la adición del producto de ensayo en una cantidad de 10 ppm (4,4 ppm del agente activo) al papel de desecho, el resultado fue una esporulación de tan solo 30 CFU/mL. Basándose en estos resultados, la esporulación se redujo alrededor de un 99,9 % con la adición de 10 ppm del producto de ensayo, mientras que 20 ppm dieron como resultado una inhibición total de la esporulación (<10 CFU/mL). Las frecuencias de esporulación fueron del 0,3 %, 0,17 % y <0,0024 % respectivamente para adiciones del producto de ensayo de 10, 15 y 20 ppm.

Ejemplo 3

En este experimento de laboratorio se estudió el efecto del manganeso bivalente y hierro bivalente, DTPA y el producto de ensayo C, que contenía un agente dispersante y DTPA, sobre la esporulación de bacilos en el papel de desecho de una máquina de producción de cartón aislados de este. El estudio se llevó a cabo como en el ejemplo 2.

Los resultados del ensayo se muestran en las figuras 5 y 6. En este experimento, la cantidad de esporas tras 24 horas fue de 25 000 esporas/mL para la muestra de control (papel de desecho sin ninguna adición), con una frecuencia de esporulación del 2,3 %. Esto sugiere que las condiciones en el papel de desecho fueron bastante favorables para la esporulación de bacilos sin adiciones extra. La adición de metales de transición bivalentes al papel de desecho dio como resultado la duplicación del número de esporas generadas, con una frecuencia de esporulación del 4,2 %. La figura 5 muestra que ni el DTPA ni el producto de ensayo C fueron tóxicos para los bacilos. La figura 6 muestra que 12 ppm de DTPA (como agente activo) disminuyeron tanto la esporulación un 99,4 % como la frecuencia de esporulación (hasta el 0,11 %). El producto de ensayo C fue aún más eficaz, 8 ppm de este (como producto) redujeron la esporulación un 98,4 % (frecuencia de esporulación del 0,06 %), mientras que 12 ppm de dicho producto redujeron la esporulación un 99,7 % (frecuencia de esporulación de tan solo el 0,016 %). Los resultados sugieren que el agente dispersante y DTPA combinados (producto de ensayo C) inhibieron la esporulación de una manera más eficaz que el DTPA solo.

Ejemplo 4

En este experimento de laboratorio se estudió el efecto del hierro y manganeso bivalentes, y el producto de ensayo C, que contenía un agente dispersante y DTPA, sobre la esporulación de bacilos en el papel de desecho de una máquina de producción de papel aislados de este. El estudio se llevó a cabo como el estudio del ejemplo 2.

Los resultados del ensayo se muestran en la figura 7. En este experimento, las primeras esporas maduras aparecieron en la muestra de control (papel de desecho sin ninguna adición) 11 horas después de comenzar el ensayo. En 24 horas, se detectaron en la muestra de control 101 000 esporas/mL, con una frecuencia de esporulación del 45 %. Esto sugiere que las condiciones en dicha muestra de papel de desecho fueron muy favorables para la esporulación. En estas condiciones, la frecuencia de esporulación dejó de verse aumentada por la adición de Mn(II) + Fe (II) pero, sin embargo, la maduración de las esporas se vio acelerada por la adición de los metales. La adición de 5 ppm del producto de ensayo C (2,2 ppm como agentes activos) dio como resultado un retraso en la esporulación: tras 11 horas, no había esporas maduras presentes en la muestra y, tras 25 horas, la esporulación se redujo un 99 % en comparación con el control (figura 7). La esporulación se inhibió totalmente con la adición de 10 ppm del producto de ensayo C (frecuencia de esporulación < 0,06 %).

Ejemplo 5

En este ensayo *in situ* se tomó una muestra de la torre del papel de desecho diluido de una máquina de producción de cartón, se fraccionó la muestra y se introdujo en 10 tubos respectivamente, y se añadieron en ellos diferentes cantidades del producto de ensayo C. Los tubos se incubaron a 45 °C, seguido por la determinación de las cantidades de esporas y bacterias aeróbicas después de ser sometidas a diferentes tiempos de exposición. Durante el ensayo, la esporulación en el papel de desecho diluido fue lenta, tal como indican las cantidades de esporas de alrededor de 50 CFU/mL de todas las muestras, es decir, el nivel inicial. A la mañana siguiente (43 h), se midieron grandes cantidades de esporas maduras en las muestras no tratadas. Los resultados se muestran en la tabla 1. Basándose en los resultados, el producto de ensayo C no tuvo efecto sobre las cantidades de bacterias aeróbicas (producto no biocida). Sin embargo, una dosis de 15 mg/L redujo considerablemente la esporulación y dosis ≥ 20 ppm la inhibieron. Después de esta medida, se añadieron 0,3 ppm de Mn(II) y 0,9 ppm de Fe (II) a todas las muestras. Esta adición incrementó considerablemente la esporulación, lo que sugiere que el manganeso y el hierro son factores limitantes para la esporulación.

Tabla 1

Conc. del producto de ensayo C (mg/L)	CFU/mL tras 43 h		CFU/mL tras la adición de Mn+Fe	
	Bacterias aeróbicas	Esporas aeróbicas	Bacterias aeróbicas	Esporas aeróbicas
0	8 800 000	6600	6 100 000	16 800
5	5 600 000	6000	4 200 000	17 000
10	5 800 000	6200	6 000 000	11 000
15	8 900 000	300	4 600 000	3900
20	6 000 000	77	4 400 000	2600

Ejemplo 6

Este estudio se llevó a cabo para comparar diferentes agentes quelantes. Se tomó una muestra de la torre del papel de desecho de una máquina de producción de cartón para embalaje de alimentos. La muestra del papel de desecho se dividió en 6 tubos. A uno de ellos no se le añadió ninguna dosis de productos químicos, a dos se les añadieron dosis del producto de ensayo A y a tres se les añadieron dosis del producto de ensayo D, y se incubaron las muestras 1 d a 45 °C (la temperatura de la torre del papel de desecho de esa máquina). El producto A incluía ácido dietilentríaminopentacismetilenfosfónico (DTPMPA; 45 %) y el producto D ácido *N*-bis-(1,2-dicarboxietiloxi)etilaspártico (AES; 25 %) como agente quelante. Los cultivos se llevaron a cabo en agar para recuento en placa estándar: total de bacterias aeróbicas a 45 °C y esporas aeróbicas a 37 °C. Los resultados se muestran en las figuras 8 y 9.

Al comienzo del ensayo (0 h) el papel de desecho contenía 140 CFU/mL de esporas bacterianas aeróbicas (fig. 8). En la muestra sin tratar, en un día de incubación a 45 °C la cantidad de esporas se incrementó hasta 1085 CFU/mL. La fig. 8 muestra que 35 ppm de producto A impidieron la esporulación bacteriana totalmente (no se formaron nuevas esporas) y 25 ppm redujeron la formación de esporas notablemente en comparación con la muestra no tratada. El producto D también redujo la cantidad de esporas, pero la concentración más alta ensayada no bloqueó completamente la formación de esporas.

Los resultados muestran claramente que otros agentes quelantes diferentes del DTPA también pueden prevenir la formación de esporas. De nuevo, ninguno de los agentes ensayados redujo la cantidad de bacterias aeróbicas vegetativas y, por tanto, el mecanismo de acción que impide la formación de esporas no es biocida (fig. 9).

Ejemplo 7

Se llevó a cabo un ensayo a gran escala en una máquina de producción de cartón de tres capas que produce cartón para embalaje de alimentos. El objetivo era disminuir la cantidad de esporas bacterianas aeróbicas en el cartón final. Las dosis del producto de ensayo C se añadieron de manera continua en el foso que está debajo de la cinta transportadora que reduce el espesor y seca la pasta del papel (al principio del sistema del papel de desecho) a una velocidad de 6 L/h. Las esporas bacterianas aeróbicas se cuantificaron en todo el sistema de papel de desecho (siguiendo el paso desde el foso que está debajo de la cinta transportadora que reduce el espesor y seca la pasta del papel hasta la torre del papel de desecho y, en último lugar, hasta la cámara de dosificación del papel de desecho) y en el producto de cartón final antes, durante y después de la realización de la prueba. En los días anteriores a la prueba, el contenido de esporas del papel de desecho se incrementó entre 2,5 y 4,5 veces durante el paso del papel de desecho a través del sistema, lo que resultó en un aumento en la cantidad de esporas de hasta 210 – 460 esporas por mL de papel de desecho en la cámara de dosificación. Durante la prueba el contenido de esporas disminuyó gradualmente. Por ejemplo, el tercer día de la prueba, las cantidades de esporas permanecieron invariables a lo largo de todo el sistema del papel de desecho. Por consiguiente, no se formaron más esporas nuevas durante el tiempo que el papel de desecho permaneció en el sistema del papel de desecho. Cuando se detuvo la prueba, con un retraso de un día, esto dio como resultado unas cantidades de esporas en la cámara de dosificación del papel de desecho 3,5 veces mayores y, lógicamente, también un recuento mayor de esporas en el cartón final. En resumen, la prueba mostró un descenso del 70 % en las cantidades de esporas bacterianas aeróbicas en el cartón de embalaje apto para el uso alimenticio final.

Referencias

Charney, J., Fisher, W.P. y C.P. Hegarty. 1951. Manganese is an essential element for sporulation in the genus *Bacillus*. *Journal of Bacteriology* 62: 145-148.

Fortnagel, P. y E. Freese. 1968. Inhibition of aconitase by chelating of transition metals causing inhibition of sporulation in *Bacillus subtilis*. *The Journal of Biological Chemistry* 243: 5289-5295.

Francis, C.A. y B.M. Tebo. 2002. Enzymatic manganese (II) oxidation by metabolically dormant spores of diverse *Bacillus* species. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 874-880.

Fujita, M., González-Pastor, J. y R. Losick. 2005. High- and low-threshold genes in the Spo0A regulon of *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology* 187: 1357-1368.

González-Pastor, J., Hobbs, E. y R. Losick. 2003. Cannibalism by sporulating bacteria. *Science* 301: 510-513.

Inaoka, T., Matsumura, Y. and T. Tsuchido. 1999. SodA and manganese are essential for resistance to oxidative stress in growing and sporulating cells of *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology* 181: 1939-1943.

Kujala, M., Sillanpää, M. ja J. Rämö. 2004. A Method to leach manganese and some other metal cations from pulp matrix to aqueous phase for the subsequent ICP-AES analysis: a potential tool for controlling the metal profile in a pulp bleaching process. *Journal of Cleaner Production* 12: 707-712.

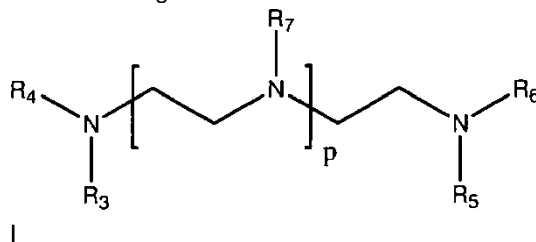
Que, Q. y J.D. Helmann. 2000. Manganese homeostasis in *Bacillus subtilis* is regulated by MntR, a bifunctional regulator related to the diphtheria toxin repressor family proteins. *Molecular Microbiology* 35: 1454-1468.

Turner, N.A., Harris, J., Russel, A.D. y D. Lloyd. 2000. Microbial differentiation and changes in susceptibility to antimicrobial agents. *Journal of Applied Microbiology* 89: 751-759.

Vasanth, N. y E. Freese. 1979. The role of manganese in growth and sporulation of *Bacillus subtilis*. *Journal of General Microbiology* 112: 329-336.

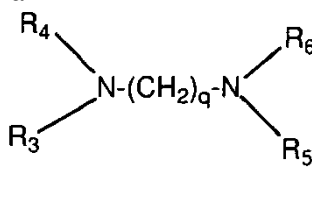
REIVINDICACIONES

1. Un método para prevenir o retrasar la esporulación bacteriana en el sistema del papel de desecho en una máquina de producción de cartón o papel, caracterizado por que el contenido de metales de transición en el papel de desecho se reduce mediante quelación hasta un nivel desfavorable para la esporulación.
- 5 2. Un método de acuerdo la reivindicación 1, caracterizado por que el procedimiento usado para reducir el contenido de los metales de transición no aniquila sustancialmente las células bacterianas presentes en el sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón o papel.
3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que dicha quelación se lleva a cabo con un agente quelante que tiene la siguiente fórmula general:



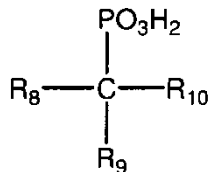
- 10 donde
 p es 0 o un número entero comprendido entre 1 y 10,
 R₃, R₄, R₅, R₆ y R₇ son independientemente un átomo de hidrógeno o una cadena alquilo con 1-6 átomos de
 15 carbono, que contiene un ligando quelante activo tal como un ácido carboxílico, un ácido fosfónico o un grupo hidroxilo, o una sal de estos.

4. Un método de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado por que dicha quelación se lleva a cabo con un agente quelante que tiene la siguiente fórmula general:



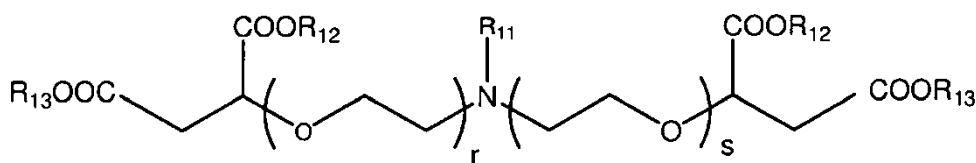
- 20 donde
 q es un número entero comprendido entre 3 y 10,
 R₃, R₄, R₅ y R₆ son independientemente un átomo de hidrógeno o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene un ligando quelante activo tal como un ácido carboxílico, un ácido fosfónico o un grupo hidroxilo, o una sal de estos.

5. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que dicha quelación se lleva a cabo con un agente quelante que tiene la siguiente fórmula general:



- 30 donde
 R₈ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo con 1-6 átomos de carbono o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene un ácido carboxílico, un ácido fosfónico o un grupo hidroxilo,
 R₉ representa un grupo hidroxilo, un grupo ácido fosfónico, un grupo ácido carboxílico o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene uno o dos grupos ácido carboxílico, y
 R₁₀ representa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, un grupo alquilo con 1-6 átomos de carbono o una cadena alquilo con 1-6 átomos de carbono, que contiene un grupo carboxilo o una sal de este.

6. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que dicha quelación se lleva a cabo con un agente quelante que tiene la siguiente fórmula general:



V

donde R₁₁ representa:

un átomo de hidrógeno,

una cadena alquilo con 1-30 átomos de carbono,

5 una cadena alquilo con 1-30 átomos de carbono y con 1-10 grupos ácido carboxílico unidos a dicha cadena, o una sal de un metal alcalino o un metal alcalinotérreo de estos,

una cadena alquilo con 1-30 átomos de carbono y con 1-10 grupos éster de ácido carboxílico unidos a dicha cadena,

10 una cadena hidrocarbonada (poli)etoxilada con 1-20 grupos etoxilo, o

una amida de un ácido carboxílico con 1-30 átomos de carbono, donde el enlace N-R₁₁ es un enlace amida,

R₁₂ y R₁₃ son: hidrógeno, un ión de un metal alcalino o un ión de un metal alcalinotérreo o un grupo alquilo que tiene 1-30 átomos de carbono,

r es 0 o 1, y

s es 0 o 1,

15 o una sal de este.

7. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, caracterizado por que la cantidad del agente quelante está comprendida preferentemente entre 2 y 70 ppm, preferentemente entre 2 y 30 ppm, y más preferentemente entre 7,5 y 15 ppm (peso/volumen), en función del volumen del papel de desecho acuoso.
8. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que se usan para la quelación el agente quelante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3-6 y un agente dispersante combinados.
9. Un método de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado por que la relación en peso entre el agente quelante y el agente dispersante varía entre 5:1 y 50:1, preferentemente entre 10:1 y 30:1.
10. Un método de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, caracterizado por que la cantidad del combinado está comprendida entre 2 y 70 ppm, preferentemente entre 2 y 30 ppm, y más preferentemente entre 7,5 y 15 ppm (peso/volumen) en función del volumen del papel de desecho acuoso.
11. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, caracterizado por que el agente quelante, o el agente dispersante y quelante combinados, se dosifican antes del tanque del papel de desecho.
12. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que dicho metal de transición comprende un metal de transición bivalente, preferentemente manganeso bivalente o hierro bivalente, o manganeso bivalente y hierro bivalente.
13. Un método para producir cartón de embalaje o papel de embalaje con un bajo contenido en esporas bacterianas, donde el papel de desecho usado para producir el cartón de embalaje o el papel de embalaje se caracteriza por que el contenido de los metales de transición en el papel de desecho se reduce mediante quelación hasta un nivel desfavorable para la esporulación.
14. Un método de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizado por que el procedimiento usado para reducir el contenido de los metales de transición no aniquila sustancialmente las células bacterianas presentes en el sistema del papel de desecho de una máquina de producción de cartón o papel.
15. Un método de acuerdo con la reivindicación 13 o 14, caracterizado por que el contenido de los metales de transición se reduce mediante quelación con un agente quelante o un agente quelante y un agente dispersante combinados.
16. Un método de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizado por que la dosificación del agente quelante, o el agente quelante y el agente dispersante combinados, se lleva a cabo basándose en los resultados de las medidas en línea del metal de transición.

ES 2 405 360 T3

17. Un método de acuerdo con la reivindicación 15 o 16, caracterizado por que el agente quelante, o el agente quelante y el agente dispersante combinados, se dosifican antes del tanque de papel de desecho.
18. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13-17, caracterizado por que el cartón de embalaje es un cartón de embalaje para alimentos, preferentemente un cartón de embalaje para líquidos.

5

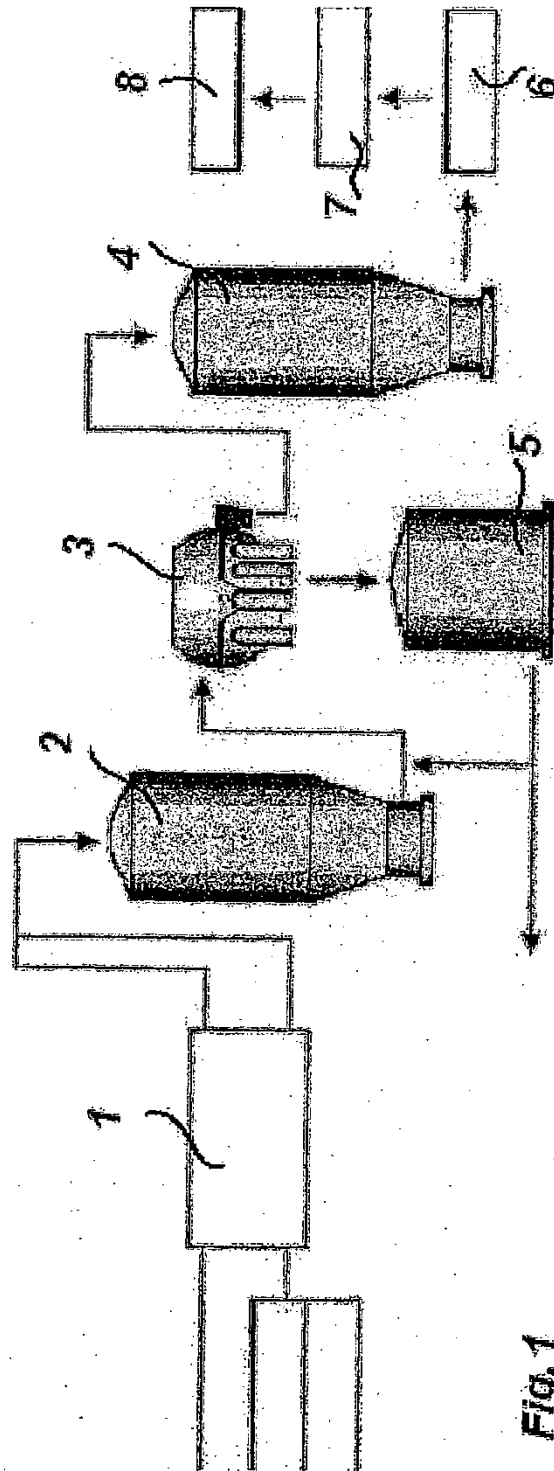


Fig. 1

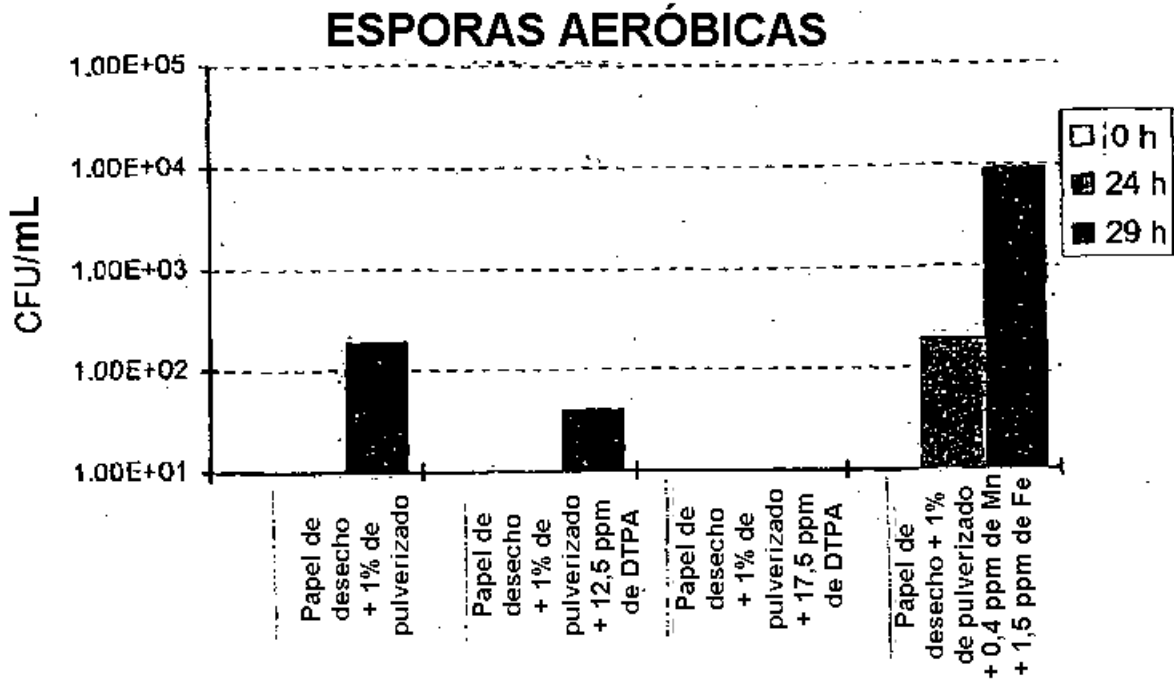


Fig. 2

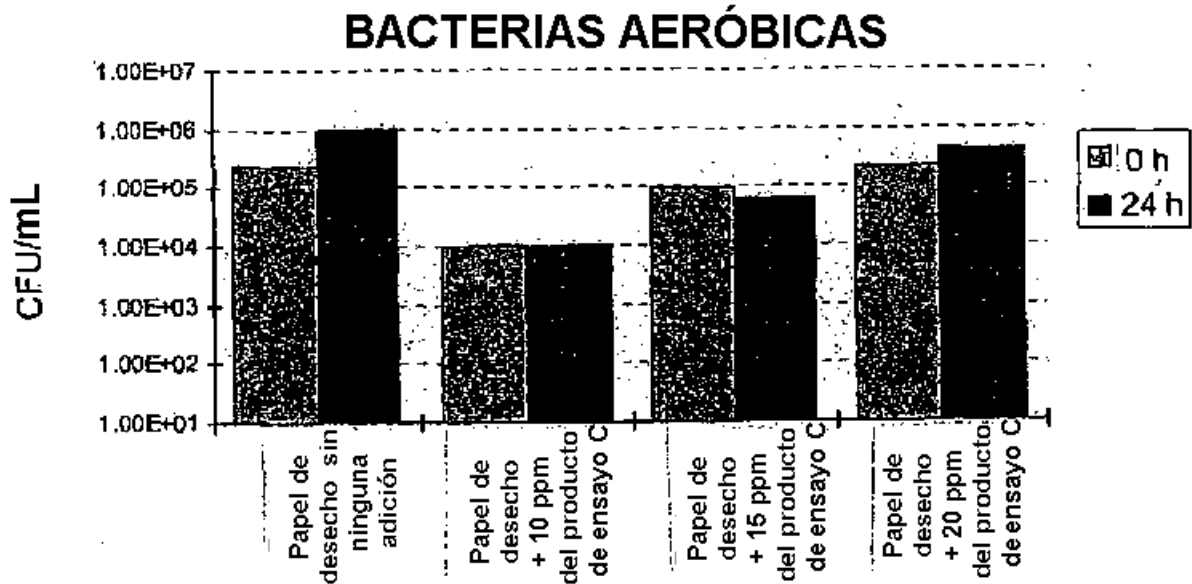


Fig. 3

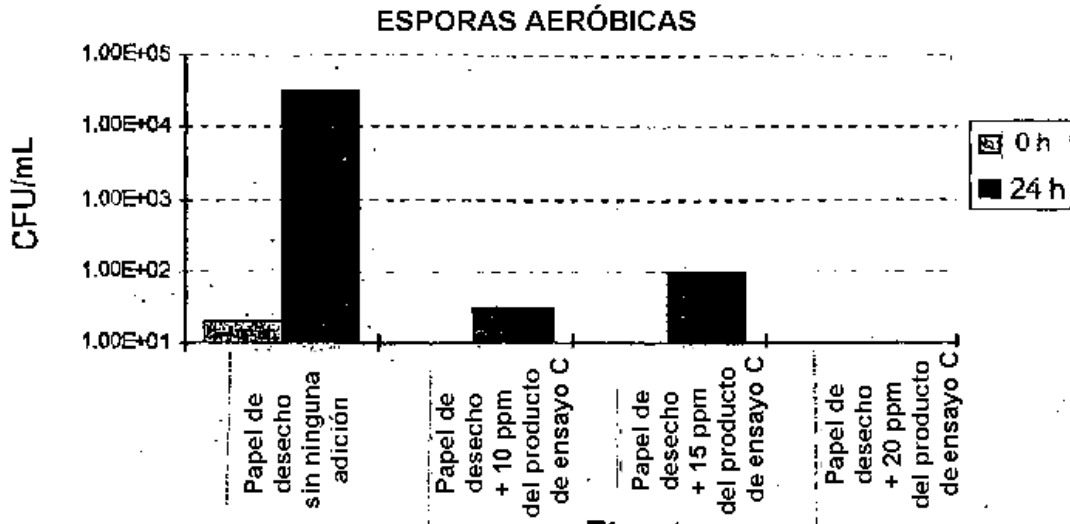


Fig. 4

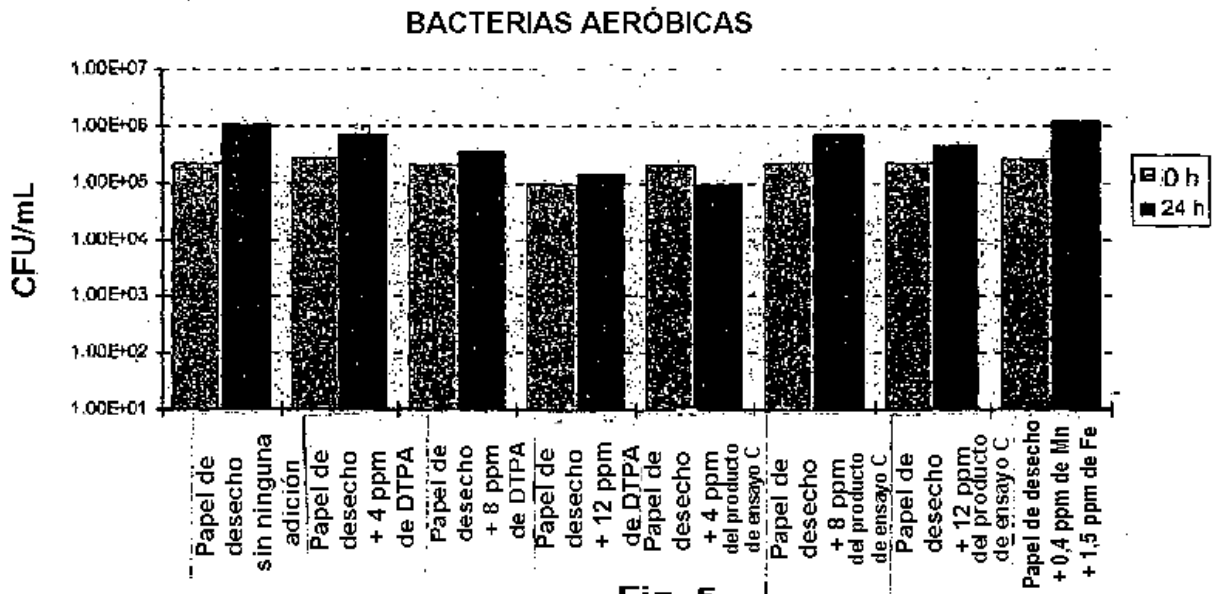


Fig. 5



Fig. 6

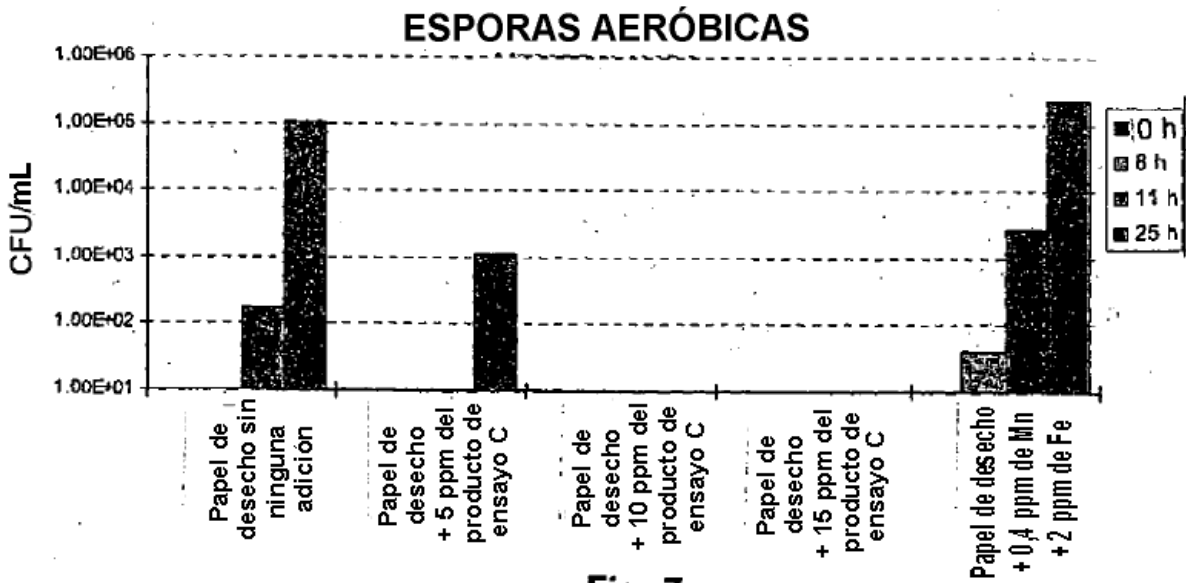


Fig. 7

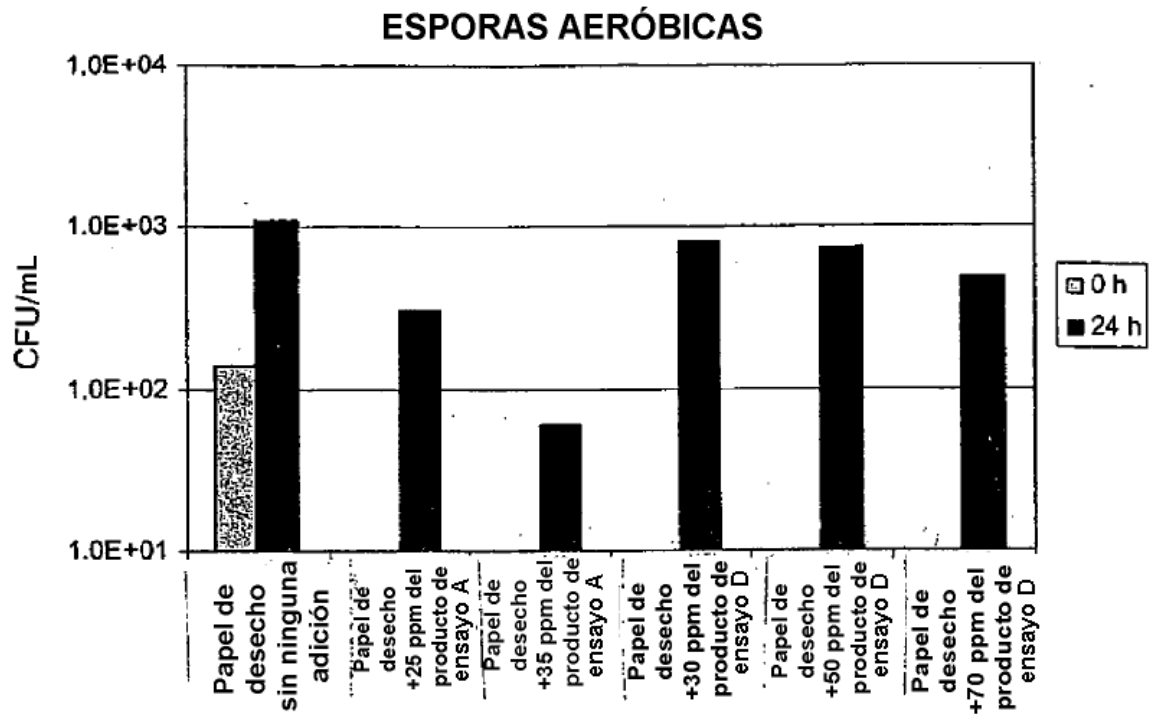


Fig. 8

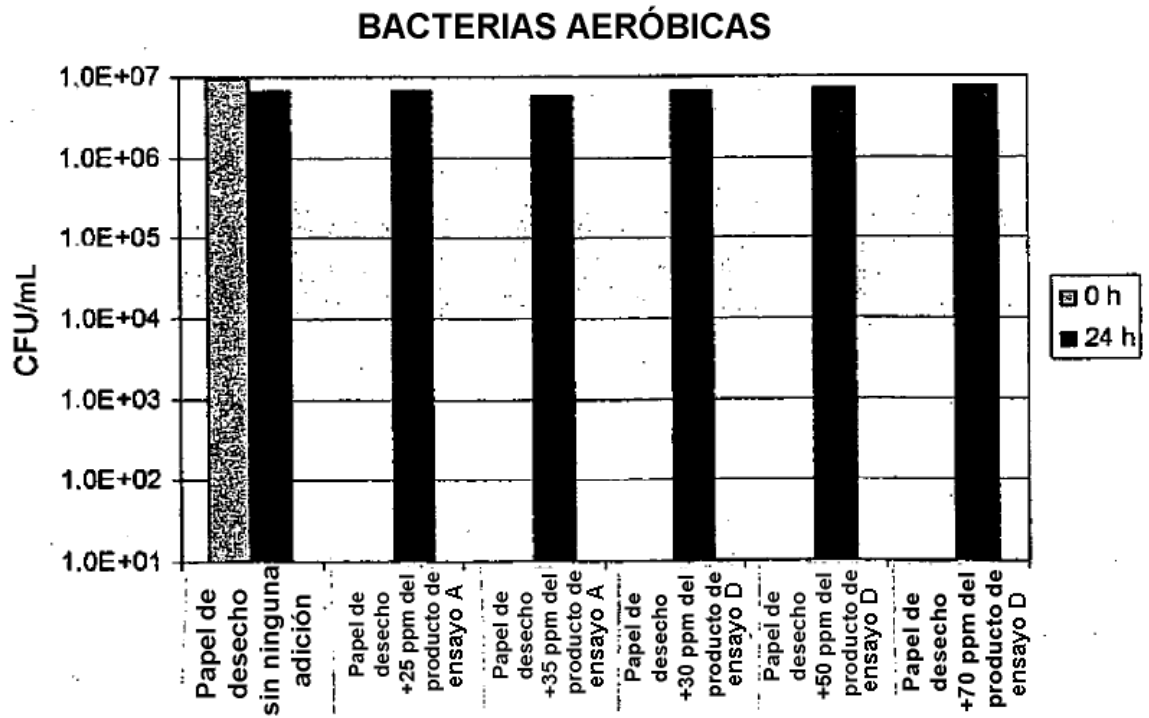


Fig. 9