

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 433 016**

51 Int. Cl.:

C02F 1/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2003 E 03814564 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2013 EP 1578695**

54 Título: **Procedimiento para eliminación de biopelícula**

30 Prioridad:

20.12.2002 US 435680 P

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

09.12.2013

73 Titular/es:

**LONZA INC. (100.0%)
90 Boroline Road
Allendale, NJ 07401-1629, US**

72 Inventor/es:

**LUDENSKY, MICHAEL y
SWEENEY, PHILIP, GERDON**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 433 016 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

Procedimiento para eliminación de biopelícula

5 **Antecedente de la invención**

La biopelícula se puede definir como una acumulación de microorganismos no deseada sobre la superficie y en masas floculentas. Se estima que más del 99 % de las bacterias del planeta viven en comunidades de biopelículas. La biopelícula está compuesta de células inmovilizadas en un sustrato, incluido con frecuencia en una matriz orgánica polimérica de origen microbiano, que puede restringir la difusión de sustancias y unirse a antibióticos. En ambientes acuáticos fluidos, la biopelícula está compuesta de una matriz de polisacárido adherente y absorbente que abarca microorganismos. Las bacterias de una biopelícula son morfológica y metabólicamente diferentes de las bacterias que flotan libremente. Su organización estructural es un rasgo característico y distingue los cultivos de biopelícula de los organismos planctónicos convencionales.

Las biopelículas crean problemas en la industria, desde corrosión en las conducciones de agua a funcionamientos incorrectos de los chips informáticos. Cualquier dispositivo artificial sumergido en un entorno acuático es susceptible a la colonización por una biopelícula de microorganismos. Por ejemplo, las biopelículas pueden aparecer sobre la superficie de los cascos de barcos, conducciones industriales, desagües domésticos, y articulaciones de cadera artificial. Para el fabricante industrial, las agrupaciones de biopelícula representan una fuente de inoculación de microorganismos, y pueden ocasionar problemas de oclusiones. En instalaciones de tratamiento de agua, la formación de biopelícula en suspensión produce un fango biológico voluminoso que sedimenta mal y es difícil de compactar durante el proceso de clarificación. Las formas voluminosas tanto no filamentosas como filamentosas son prevalentes, ya que muchas bacterias pueden permear el floculo. Además de su papel como agentes de ensuciamiento, las biopelículas tienen también efectos adversos sobre las personas, incluyendo alterar su resistencia a los antibióticos y afectar el sistema inmune. De esta manera, existe necesidad en la técnica de desarrollar procedimientos eficaces para eliminar biopelículas.

La naturaleza dinámica de las biopelículas hace que sea difícil medir y realizar un seguimiento de las biopelículas. Las biopelículas incluyen a menudo partículas inorgánicas incluidas tales como sedimentos, depósitos de carbonato de calcio, y depósitos de corrosión. Además, las biopelículas experimentan cambios continuos en su espesor, distribución superficial, poblaciones de microorganismos y composición química, y responden a los cambios en factores ambientales tales como la temperatura del agua, la composición química del agua y las condiciones de la superficie. De esta manera, la complejidad de las biopelículas ha reducido la eficacia de las estrategias de tratamiento y eliminación.

Incluso aunque la mayoría de microorganismos en sistemas industriales están asociados a la biopelícula; históricamente han recibido menos atención que los organismos planctónicos. Sin embargo, se ha demostrado que diferentes biocidas son menos eficaces contra la biopelícula que contra las células dispersas del mismo organismo. Los biocidas utilizados más habitualmente para el control de biopelículas son donantes puros de halógeno libre tales como NaOCl y NaOCl/NaOBr. Estos, sin embargo, se deben utilizar en grandes cantidades para que sean eficaces. Además, algunos estudios recientes que evaluaron la eficacia de halógenos sobre las biopelículas demostraron un aumento de la resistencia a la desinfección de las bacterias adheridas con respecto al cloro libre. El tratamiento con cloro libre a concentraciones habitualmente eficaces contra microorganismos planctónicos tiene poco efecto sobre el número de bacterias adheridas o sobre su actividad metabólica. Los datos indican que el transporte de cloro libre al interior de la biopelícula es un factor principal limitante de la velocidad, y el aumento de las concentraciones no aumenta la eficacia biocida. Griebe, T., Chen, C.I., Srinivasan, R., Stewart P., "Analysis of Biofilm Disinfection By Monochloramine and Free Chlorine," Biofouling and Biocorrosion In Industrial Water Systems (editado por Geesey, Z. Lewandowski, y H-C. Flemming), pp.151-161, Lewis Publishers (1994).

La excesiva reactividad de los donantes puros de halógeno libre se superó mediante el uso de bromoclorodimetilhidantoína (BCD-MH). El estudio publicado de Ludyansky y F. Himpler titulado "The Effect of Halogenated Hydantoin on Biofilms," NACE, Paper 405 (1997), demostró mayor eficacia sobre biopelículas comparado con los donantes puros de halógeno libre. Sin embargo, aunque eficaz, sigue sin ser una fuente de halógeno eficaz cuando se aplica a biopelículas.

Otros han intentado suprimir el crecimiento de biopelículas en medios acuáticos mediante el uso de un halógeno oxidante con adición de un adyuvante. La patente de los Estados Unidos con nº 4.976.874 de Gannon y col., incorporada al presente documento por referencia, divulga un procedimiento y formulación para el control del bioensuciamiento mediante un halógeno oxidante combinado con una haluro de amonio cuaternario no oxidante. Sin embargo, este procedimiento supone problemas ambientales.

De esta manera, el control de biopelículas en sistemas acuáticos ha implicado de forma típica la adición de biocidas oxidantes y no oxidantes al volumen de agua fluida. Sin embargo, se necesitan grandes cantidades de estas caras sustancias químicas debido a que su eficacia se ve rápidamente reducida como resultado de su exposición a las diferentes condiciones físicas y químicas en aplicaciones específicas, ya que la concentración de los biocidas se ve

considerablemente reducida en el momento en que los biocidas alcanzan la biopelícula.

Sumario de la invención

5 La presente invención se dirige a un procedimiento para desintegrar una biopelícula presente en un medio acuoso. El procedimiento comprende añadir una o más hidantoínas cloradas, específicamente, monoclorodimetilhidantoína (MCDMH) o diclorodimetilhidantoína (DCDMH), al medio acuoso. Es de particular importancia que la actividad de las hidantoínas cloradas contra la biopelícula no disminuya en presencia de la luz solar, ya que las soluciones de cloro activo estabilizadas mediante halógeno son poco fotoestables. La concentración de las hidantoínas cloradas
10 mantenidas en el medio acuoso está comprendida por lo general entre 20 y 100 ppm (expresado como Cl₂) para la desintegración de la biopelícula

En un concentrado, la concentración de las hidantoínas cloradas está comprendida por lo general entre aproximadamente 0,1 hasta el 100 % en peso en función del peso total.

15 La presente invención es de aplicación esencialmente a todos los sistemas acuosos que contienen, o con el potencial de contener, biopelículas. Puede tratarse de agua de refrigeración; sistemas de fabricación de pasta o de papel, tratamiento de aguas blancas, incluyendo las que contienen fangos activos voluminosos; y sistemas de lavadores de aire; así como sistemas de agua potable para la agricultura y sistemas de drenaje; sistemas de
20 preparación y limpieza de alimentos; fabricación de cerveza; sistemas de producción de productos lácteos y cárnicos; y sistemas de la industria del petróleo. Los sistemas acuosos incluyen también cualquier sistema de agua potable, incluyendo los sistemas de agua potables para consumo; así como los sistemas de agua para uso recreativo, tales como piscinas y balnearios urbanos; sistemas relacionados con el agua para uso doméstico, incluyendo aseos, desagües, alcantarillas, platos de ducha, bañeras, y sumideros; así como los sistemas
25 "relacionados con el agua" de uso institucional, sistemas hospitalarios, sistemas de agua dental y cualquier sistema en el que un dispositivo médico esté en contacto con un medio acuático; fuentes ornamentales, acuarios, pesquerías, en acuicultura, y cualquier otro sistema sometido al crecimiento de biopelículas. La biopelícula puede comprender diferentes formas y especies de microorganismos patógenos, por ejemplo, *Legionella pneumophila*, adherida o no adherida a superficies, tales como alfombras, flóculos y fango.

30

Breve descripción de las Figuras

La Figura 1 ilustra el efecto de NaOCl sobre la resistencia a la transferencia de calor (HTR) que está correlacionada con la formación y acumulación de biopelícula y el nivel de oxígeno disuelto (OD) en un sistema acuático.

35 La Figura 2 ilustra el efecto de NaOBr sobre la resistencia a la transferencia de calor (HTR) y el nivel de oxígeno disuelto (OD) en un sistema acuático.

La Figura 3 ilustra el efecto de BCDMH/MEH sobre la resistencia a la transferencia de calor (HTR) y el nivel de oxígeno disuelto (OD) en un sistema acuático.

40 La Figura 4 ilustra el efecto de MCDMH sobre la resistencia a la transferencia de calor (HTR) y el nivel de oxígeno disuelto (OD) en un sistema acuático.

La Figura 5 ilustra el efecto de DCDMH sobre la resistencia a la transferencia de calor (HTR) y el nivel de oxígeno disuelto (OD) en un sistema acuático.

45 Descripción detallada de la invención

La extensión y naturaleza de la eliminación y desintegración de biopelículas varían, por supuesto, con el contexto del problema. La naturaleza diversa de los problemas y los diferentes entornos en los que las biopelículas crecen demanda varias tácticas y estrategias para la eliminación de la biopelícula. Con respecto a una biopelícula establecida, frecuentemente es deseable retirarla en lugar de meramente estabilizarla y dejarla *en su sitio*. Además, es importante destruir las células que forman las biopelículas y evitar que se diseminen a otras ubicaciones. De esta manera, para los fines de la presente invención; el término "desintegración" de la biopelícula incluye la eliminación y el desmenuzamiento de la biopelícula existente y la prevención del recrecimiento de los microorganismos de la biopelícula en un sistema tratado. Esta es una tarea más difícil que el "control de biopelículas", que incluye tanto la
50 prevención del crecimiento de la biopelícula en un sistema limpio y la prevención del crecimiento continuado en un sistema tratado cuando la biopelícula ya se ha formado.

55

El término "hidantoína clorada" se refiere a una hidantoína que puede estar en la forma de un compuesto puro, tal como monoclorodimetilhidantoína o una premezcla de hidantoínas, es decir, mezclas de monoclorodimetilhidantoína y diclorodimetilhidantoína.

60

Las hidantoínas cloradas incluyen dicloro-5,5-dimetilhidantoína (DCDMH), monocloro-5,5-dimetilhidantoína (MCDMH), y cualquier combinación de los anteriores. La hidantoína clorada puede estar en forma de un sólido, líquido, suspensión, o gel. El término "sólido" incluye polvo, gránulos, comprimidos, briquetas y suspensiones.

65

Los concentrados de la hidantoína clorada tienen concentraciones de principios activos superiores a los concentrados típicos para el control de biopelícula. Por ejemplo, un concentrado de hidantoína clorada contiene de forma típica un 70 % en peso de principio activo (expresado como Cl_2) basado en un 100 % del peso total de concentrado. Por el contrario, los concentrados líquidos de hipoclorito de sodio comprenden de forma típica solo
5 aproximadamente un 12 % en peso de principio activo, basado en un 100 % del peso total de concentrado. Adicionalmente, las hidantoínas cloradas de la presente invención son estables, a diferencia de la mayoría de los blanqueantes que se comercializan en la actualidad.

Aunque la discusión anterior se refiere al tratamiento de un sistema acuoso que contiene biopelícula con la hidantoína clorada, también se contempla que el sistema acuoso se forme una vez que la biopelícula seca o biopelícula de un medio no acuoso se ponga en contacto con una hidantoína halogenada sólida o granular. En este caso, el sistema acuoso se puede formar por la adición de agua o vapor de agua a los dos sólidos o materiales exentos de agua.
10

La cantidad de hidantoína clorada añadida al medio acuoso es suficiente para desintegrar la biopelícula. Esto es por lo general de 20 a 100 ppm (expresado como Cl_2).
15

Además de añadir la hidantoína halogenada preformada al sistema acuoso, puede ser deseable formar la hidantoína halogenada *in situ*. Esto se puede hacer añadiendo una hidantoína y un agente halogenante al sistema acuoso que contiene biopelícula de forma independiente en la relación molar adecuada. Por ejemplo, se puede añadir un hipoclorito de metal alcalino (por ejemplo, NaOCl) o gas cloro o cualquier otra fuente activa de cloro y dimetilhidantoína en una relación molar suficiente para formar *in situ* la cantidad deseada de halohidantoína. En sentido amplio, la relación molar de cloro (procedente de la fuente de cloro) a la hidantoína alquilada es de 1:100 a 100:1, preferiblemente de 1:10 a 10:1.
20

En algunos sistemas, como en los sistemas de refrigeración de agua, siempre se han utilizado aditivos. En otros sistemas, tales como piscinas, es posible que no haya aditivos de rendimiento.
25

Los aditivos de rendimiento (es decir, composiciones que mejoran la calidad y el uso de las hidantoínas cloradas) incluyen, pero no se limitan a, agentes limpiadores, biodispersantes, modificadores de la solubilidad, adyuvantes de compactación, cargas, tensioactivos, colorantes, fragancias, dispersantes, lubricantes, liberadores de hongos, coadyuvantes de detergentes, inhibidores de la corrosión, quelantes, estabilizantes, fuentes de bromuro, y agentes de control de incrustaciones. Un requisito necesario es que el material sea compatible con la composición de clorohidantoína.
30

Los modificadores de la solubilidad que se pueden añadir a las hidantoínas cloradas descritas en el presente documento incluyen, por ejemplo, bicarbonato de sodio, hidróxido de aluminio, óxido de magnesio, hidróxido de bario, y carbonato de sodio. Véase la patente de los Estados Unidos con nº 4.537.697. Los modificadores de la solubilidad se pueden usar en las composiciones en una cantidad comprendida entre el 0,01 % y el 50 % en peso.
35

Los ejemplos de adyuvantes de compactación son sales inorgánicas que incluyen cationes de litio, sodio, potasio, magnesio, y calcio asociados con carbonato, bicarbonato, borato, silicato, fosfato, percarbonato, y perfosfato. Véase la patente de los Estados Unidos con nº 4.677.130. Los adyuvantes de compactación se pueden usar en las composiciones en una cantidad comprendida entre el 0,01 % y el 50 % en peso.
40

Las cargas que se pueden añadir a las clorohidantoínas incluyen, por ejemplo, sales inorgánicas, tales como cationes de litio, sodio, potasio, magnesio y calcio con sulfato, y aniones cloruro, así como otras sustancias inorgánicas tales como arcillas y zeolitas. Las cargas se usan en composiciones para reducir los costes de producto y se pueden añadir en una cantidad comprendida entre el 0,01 % y el 50 % en peso.
45

El biodispersante potencia la eficacia de la hidantoína clorada como agente de control de la biopelícula y ayuda a mantener limpias las superficies del recipiente en el que se contiene el medio acuoso. Se trata de forma típica de tensioactivos y preferiblemente tensioactivos con un efecto no biocida sobre microorganismos y biopelículas. Los ejemplos de biodispersantes incluyen Aerosol OTB (diocilsulfosuccinato de sodio), laurilsulfosuccinato de disodio, laurilsulfoacetato de sodio, así como otros sulfonatos. Los tensioactivos se usan en las composiciones para potenciar la capacidad limpiadora del producto y se pueden añadir en una cantidad comprendida entre el 0,01 % y el 20 % en peso. En general, dicha mezcla contiene de aproximadamente el 80 % a aproximadamente el 99,99 % en peso de hidantoína clorada y de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 20 % en peso de biodispersante, basado hasta el 100 % del peso total de la mezcla; preferiblemente, de aproximadamente el 90 % a aproximadamente el 99,99 % en peso de hidantoína clorada y de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 10 % en peso de biodispersante.
50
55
60

Una solución acuosa de la hidantoína o hidantoínas no cloradas deseadas con las relaciones molares deseadas se puede preparar de acuerdo con los procedimientos descritos en la patente de los Estados Unidos con nº 4.560.766, y en Petterson, R. C., y Grzeskowiak, V., J. Org. Chem., 24,1414 (1959) y en Corral, R. A., y Orazi, O. O., J. Org. Chem., 28, 1100 (1963).
65

EJEMPLO 1 (Ejemplo de referencia)

Eficacia de control de la inhibición de biopelículas

5 La eficacia de los biocidas y de los biocidas con dispersantes se estimó por una reducción del peso seco de la biopelícula en ensayos realizados en matraces, comparados con los controles no tratados. El desarrollo de la biopelícula se determinó gravimétricamente mediante los procedimientos descritos en Ludyansky, M., Colby, S., A Laboratory Method for Evaluating Biocidal Efficacy on Biofilms, Cooling Tower Institute, Paper TP96-07 (1996).

10 El *Sphaerotilus natans* envainado (ATCC 15291), que se sabe que es muy resistente a cualquier control químico y se ha encontrado en varias aplicaciones (sistemas de agua de refrigeración, aguas de proceso en industria papelera, y procedimientos de tratamiento de aguas residuales), se utilizó en los ensayos.

15 Las bacterias se cultivaron a 25-30 °C en un medio CGY al 5 % que contenía: 5 g de casitona (Difco), 10 g de glicerol, y 1 g de autolisado de levadura (Difco) por litro de agua DI. El inóculo contenía aproximadamente 10⁶ células por mililitro. Matraces de 8 oz. (250 ml) se llenaron con 150 ml de medio CGY al 5 % y 1 ml de inóculo de *Sphaerotilus natans*. Los matraces se llenaron con los biocidas de ensayo, concretamente, NaOCl, NaOBr, MCDMH. Otros matraces, que no contenían biocida, sirvieron como controles. Los matraces se colocaron en un agitador y se mantuvieron a 22-30 °C rotando a 100-200 rpm durante 48-72 horas. El contenido se secó durante 5 horas a 105 °C y se enfrió durante la noche. La diferencia de peso entre los matraces que contenían la biomasa seca y el peso tara de los matraces representó la masa de biopelícula seca.

25 La eficacia de prevención de la biopelícula se calculó como el cambio porcentual en el crecimiento basado en la diferencia entre el peso promedio seco de biopelícula en los controles no tratados y en los matraces tratados, de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\%E = \left(\frac{B_{\text{prom. control}} - B_{\text{prom.}}}{B_{\text{prom. control}}} \right) \times 100$$

30 B prom. control * 100, donde E% = porcentaje de reducción en el crecimiento de biopelícula, B = peso de biopelícula, y B control = peso de biopelícula en el matraz de control.

Los resultados de estos experimentos, incluyendo la concentración de los biocidas, se indican en la Tabla 1:

35

TABLA 1

Biocida	Concentración, ppm	B prom., g	B prom. control, g	E, %
NaOCl	10	0,0028	0,0185	84,86
NaOBr	10	0,0013	0,0185	92,97
MBDMH	10	0,0008	0,0185	95,7
MCDMH	10	0,0005	0,0185	97,3
DCDMH	10	0,0005	0,0173	97,1
NaOCl	5	0,009	0,0144	37,5
NaOBr	5	0,0021	0,0144	85,4
MBDMH	5	0,0081	0,0152	46,7
MCDMH	5	0,0007	0,0144	95,1
DCDMH	5	0,0009	0,0173	94,8

Los resultados muestran que la hidantoína clorada (MCDMH) fue un agente inhibidor de biopelículas superior comparado con los donantes de halógeno libre (NaOCl o NaOBr).

40 EJEMPLO 2

Eficacia de control de la eliminación de biopelículas

45 El *Sphaerotilus natans* (ATCC 15291), como en el Ejemplo 1, fue usado en los ensayos descritos a continuación.

Sistema de ensayo para biopelículas

Un sistema de ensayo en línea para ensayo de la eficacia de biocidas clorados se usó para proporcionar un método de ensayo no destructivo en tiempo real para realizar el seguimiento y la medición de biopelículas. El sistema realiza un seguimiento de la resistencia a la transferencia de calor (HTR) que está correlacionada con la formación y acumulación de biopelículas, y del nivel de oxígeno disuelto (OD) en el agua de suministro que está correlacionado con cambios en la actividad de la biopelícula. El diseño del sistema, los parámetros y condiciones de crecimiento se han descrito en Ludensky, M., "An Automated System for Biocide Testing on Biofilm." *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20:109-115 (1998).

El sistema estaba compuesto por un bucle de intercambio de calor en flujo continuo, un reactor de crecimiento biológico (quimioestado) y subsistemas de soporte vital, medida de la biopelícula, y control ambiental. Todos los parámetros del sistema, incluyendo el flujo de agua, la temperatura, la tasa de dilución y la concentración de nutrientes, se optimizaron para obtener un crecimiento rápido, intenso y reproducible de la biopelícula. El agua de acondicionamiento del sistema se mantuvo a una saturación de oxígeno (mediante burbujeo de aire), la temperatura, y condiciones de pH constantes. De esta manera, cualquier cambio en las concentraciones de OD o en los niveles de pH en el agua de recirculación se consideró debida a la actividad de la biopelícula. Todos los parámetros de seguimiento y control se calcularon en el sistema de adquisición de datos, que estaba controlado mediante un programa informático personalizado. Los datos se recopilaban cada 15 segundos, con promedios calculados y registrados cada 3 a 60 minutos en una hoja de cálculo para análisis gráfico posterior. El programa estaba diseñado de forma que el sistema pudiera funcionar de forma continua en condiciones constantes durante varias semanas. El ensayo de la capacidad biocida se llevó a cabo mediante análisis y comparación de la forma y valores de las correspondientes curvas de HTR y DO. El análisis incluyó la consideración de patrones de curva correspondientes a tratamiento biocida, así como de recuperación de biopelícula (recrecimiento).

Condiciones de crecimiento

El *Sphaerotilus natans* envainado (ATCC 15291), conocido por formar una biopelícula tenaz en las superficies del intercambiador de calor en sistemas de agua de refrigeración y equipamiento para la fabricación de papel, se seleccionó para el crecimiento de la biopelícula. El inóculo se bombeó al interior del reactor de crecimiento microbiano y se dejó sedimentar a temperatura ambiente durante la noche. El día siguiente, se añadieron agua de acondicionamiento y nutrientes (medio CGY). La selección de las condiciones y parámetros de crecimiento iniciales estuvo basada en la experiencia anterior, limitaciones de laboratorio, tamaño geométrico de los componentes del sistema, y el deseo de suscitar un crecimiento de la biopelícula. El cambio en las condiciones de crecimiento de crecimiento planctónico a crecimiento filamentosos con adhesión se obtuvo disminuyendo las concentraciones del medio a menos del 5 % y manteniendo las tasas de dilución más altas que la tasa máxima específica. Las condiciones de ensayo se muestran en la Tabla 2.

TABLA 2

Condiciones de ensayo en línea del sistema de biopelícula	
Parámetro	Condiciones
pH	7,2-8,5
Temp., agua circulante	23,3-24,4 °C (74-76 °F)
Temp., pared	29,4 °C (85 °F)
Agua de acondicionamiento	Agua del grifo de Clinton
Concentración de sustrato	CGY; 30-70 ppm
Inóculo	<i>S. natans</i>
Flujo de agua	0,91 m/s (3 fps)
Tasa de dilución	0,9
Agua de acondicionamiento	170 ml/min
Adición de nutrientes	1 ml/min
Volumen del sistema	10 litros

La eficacia biocida de las soluciones de ensayo se determinó por análisis de la forma de las curvas HTR y OD que indican las respuestas de la biopelícula a los tratamientos biocidas.

Programas de tratamiento

5 Durante los programas de tratamiento, el sistema se alimentó de forma continua con nutrientes y agua de acondicionamiento (de composición química, contenido en oxígeno y temperatura constantes) Se ensayaron tres modos de tratamiento, concretamente, fango, fango y continuo y continuo.

10 El tratamiento de fango se llevó a cabo mediante la adición de una solución madre preparada con una dosis precalculada (por volumen de agua circulante en el sistema) al quimioestado. En el modo de fango más continuo, el tratamiento biocida se llevó a cabo a una dosis inicial de fango inyectada para superar la demanda de halógeno, seguido por un tratamiento continuo de 3 h de duración a una concentración constante basada en la tasa de agua de acondicionamiento.

Preparación y seguimiento de los biocidas

15 Los cinco biocidas, NaOCl, NaOBr, MCDMH, BCDMH/MEH, y DCDMH, se prepararon como soluciones maestras recientes con 1000 ppm de Cl₂. Las condiciones de tratamiento para todos los biocidas se calcularon a partir de la medida de halógeno residual libre y total, medido mediante el ensayo de DPD del Cl₂, realizada inmediatamente antes del tratamiento.

20 Los ensayos que incorporaban el uso repetido del fango más tratamientos continuos a concentraciones iniciales (10, 15 y 20 ppm) se realizaron durante tres días consecutivos en NaOCl, NaOBr, MCDMH, BCDMH/MEH, y DCDMH. Se realizó un seguimiento automatizado de la tasa de transferencia de calor y los niveles de oxígeno disuelto y se analizó su comportamiento dinámico. Basándose en los parámetros obtenidos, se obtuvieron las siguientes conclusiones:

25 NaOCl, NaOBr, y BCDMH/MEH no fueron capaces de eliminar la biopelícula a ninguna de las concentraciones analizadas. La recuperación de biopelícula se observó a las 24 h desde el inicio de cada tratamiento, y los valores de HTR fueron mayores que los observados al inicio de cada tratamiento, como se muestra en las Figs. 1, 2 y 3.

30 La respuesta del oxígeno disuelto al tratamiento biocida fue más fuerte en el caso del DCDMH, y más débil en el caso del NaOCl. Mediante el análisis de los modelos de curva (Fig. 1 -Fig. 5), se concluyó que el control del recrecimiento de la biopelícula se podía alcanzar mediante un tratamiento de fango más continuado de 15 ppm BCDMH/MEH o 20 ppm de NaOBr como se muestra en Fig. 2 and Fig. 3. Sin embargo, ninguno de estos biocidas fue capaz de iniciar la eliminación de biopelícula.

35 El análisis de hidantoínas cloradas MCDMH y DCDMH demostró un efecto único: el cambio de la biopelícula se produjo poco después de la adición de 20 ppm de cualquiera de MCDMH o DCDMH. Los resultados de los ensayos se muestran en la Fig. 4 y Fig. 5. Este efecto no es común con el resto de biocidas oxidantes.

40 Las observaciones definidas anteriormente se resumen en la siguiente tabla:

TABLA 3

<u>Tratamiento de fango más continuo</u>			
	Control de biopelícula		Eliminación de biopelícula
	<u>HTR</u>	<u>OD</u>	<u>HTR</u>
NaOCl	No eficaz	El más débil	No
NaOBr	Eficaz a 20 ppm	Moderado	No
BCDMH/MEH	Eficaz a 15 ppm	Moderado	No
MCDMH	Eficaz a 15 ppm	Moderado	Sí a 20 ppm
DCDMH	Eficaz a 15 ppm	El más fuerte	Sí a 20 ppm

EJEMPLO 3

45 Este ejemplo demuestra la fotoestabilidad mejorada de MCDMH en comparación con el NaOCl cuando soluciones de ensayo de las mismas se expusieron a luz solar simulada.

50 Se prepararon soluciones de ensayo agregando agua del grifo con una temperatura de 22 °C y un pH de 7,8 de NaOCl y MCDMH a las concentraciones indicadas en la Tabla 4 siguiente. Estas soluciones se iluminaron mediante luces fluorescentes UVA-340 que estimulan la radiancia espectral del sol en la superficie de la tierra. Las muestras de ensayo se cubrieron con placas de cuarzo, transparente a la luz ultravioleta, para evitar la evaporación. Las concentraciones de halógeno total se midieron en función del tiempo. Las curvas generadas de desactivación de

halógeno activo se analizaron con algoritmos cinéticos de primer orden y se calcularon las correspondientes semividas de halógeno activo. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

5 Como se muestra en la Tabla 4, MCDMH proporciona una fotoestabilidad muy importante comparada con NaOCl. La semivida de halógeno activo observada para MCDMH fue de 108 horas comparada con 1,1 para NaOCl.

TABLA 4

Fotólisis de soluciones de MCDMH y NaOCl		
Incremento de tiempo (h)	Halógeno total (ppm como Cl ₂)	
	NaOCl	MCDMH
0	4,0	5,9
1,5	1,1	5,6
6,5	0,07	5,3
29,5	-	4,1
52,5	-	3,1
100	-	2,3
187	-	1,5
267	-	1,0
Semivida de primer orden	108	1,14

10 Estos datos muestran claramente que la actividad de MCDMH disminuyó de forma despreciables durante las primeras 6,5 horas y que permaneció una actividad significativa para la totalidad de la duración del ensayo mientras que la actividad de NaOCl disminuyó abruptamente en presencia de la luz solar simulada. Las semividas comparativas mostraron adicionalmente la fotoestabilidad notable de la hidantoína clorada.

EJEMPLO 4

15 Las soluciones de cloro activo estabilizadas mediante hidantoínas también se pueden generar de manera análoga combinando hidantoínas con NaOCl. Como se muestra en la Tabla 2, las combinaciones de DMH y NaOCl producen una fotoestabilidad mayor que incluso las combinaciones con ácido cianúrico, un fotoestabilizante bien conocido para el mercado del uso recreativo del agua. Las condiciones de los ensayos fueron las mismas que para el Ejemplo 3.

TABLA 5

Fotoestabilidad de soluciones de hipoclorito estabilizadas con hidantoína y ácido cianúrico		
Incremento de tiempo (h)	Halógeno total (ppm como Cl ₂)	
	NaOCl + 30 ppm DMH	NaOCl + 30 ppm ácido cianúrico
0	4,6	4,3
1,5	4,3	4,1
6,5	4,05	3,6
29,5	3,6	2,0
52,5	3,0	0,78
100	2,2	0,07
187	1,68	-
267	1,19	-
Semivida de primer orden	141	17

Los datos de la Tabla 5 muestran que el DMH potencia de manera importante la fotoestabilización del NaOCl y la combinación se comporta mejor que el NaOCl y el ácido cianúrico. La semivida de halógeno activo observada para la solución estabilizada con NaOCl + DMH fue de 141 horas, comparado con las 17 horas para la solución de NaOCl estabilizada con ácido cianúrico.

5

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento para desintegrar biopelículas en un medio acuoso, que comprende añadir o formar en dicho medio acuoso que contiene biopelícula una o más hidantoínas cloradas seleccionadas entre monoclorodimetilhidantoína, diclorodimetilhidantoína y mezclas de las mismas, en una cantidad suficiente para formar una concentración de 20 a 100 ppm (expresado como Cl₂) de dichas hidantoínas cloradas en dicho medio acuoso.
- 10 2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la hidantoína clorada se añade al medio acuoso como solución o suspensión acuosa.
3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la hidantoína clorada se añade al medio acuoso como un sólido.
- 15 4. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el medio acuoso tratado se expone a la luz solar.
5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la hidantoína clorada se forma *in situ* añadiendo al medio acuoso cloro procedente de una fuente de cloro y una hidantoína alquilada en una relación molar entre el cloro y la hidantoína alquilada de 1:100 a 100:1.
- 20 6. El procedimiento de la reivindicación 5, en el que la relación molar entre el cloro y la hidantoína alquilada de 1:10 a 10:1.
7. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el medio acuoso contiene biopelícula que se adhiere a un sustrato.
- 25 8. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que las hidantoínas cloradas se añaden con aditivos de rendimiento.
9. El procedimiento de la reivindicación 8, en el que los aditivos de rendimiento son dispersantes, biodispersantes, agentes de control de incrustaciones, inhibidores de la corrosión, tensioactivos, biocidas, agentes limpiadores y mezclas de los mismos.
- 30 10. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el medio acuoso es un sistema de agua de refrigeración, un sistema de fabricación de pasta o de papel, un sistema de lavadores de aire, un sistema de agua potable para la agricultura y sistemas de drenaje, un sistema de preparación y limpieza de alimentos, un sistema de la industria del petróleo, un sistema de agua potable, un sistema relacionado con el agua para uso doméstico o un sistema relacionado con el agua de uso institucional.
- 35 11. Un procedimiento para eliminar biopelícula de un sustrato en un medio acuoso que comprende: añadir o formar en dicho medio acuoso monoclorodimetilhidantoína, diclorodimetilhidantoína, o una mezcla de la misma en una cantidad de 20 a 25 ppm (expresado como Cl₂) de dichas hidantoínas cloradas.
- 40 12. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que la dimetilhidantoína clorada se forma *in situ* añadiendo al medio acuoso cloro procedente de una fuente de cloro y una dimetilhidantoína en una relación molar entre el cloro y dimetilhidantoína de 1:10 a 10:1.
- 45 13. El procedimiento de reivindicación 12, donde la fuente de cloro es hipoclorito de sodio o cloro gaseoso.

Figura 1. Ensayo de la eficacia biocida de NaOCl

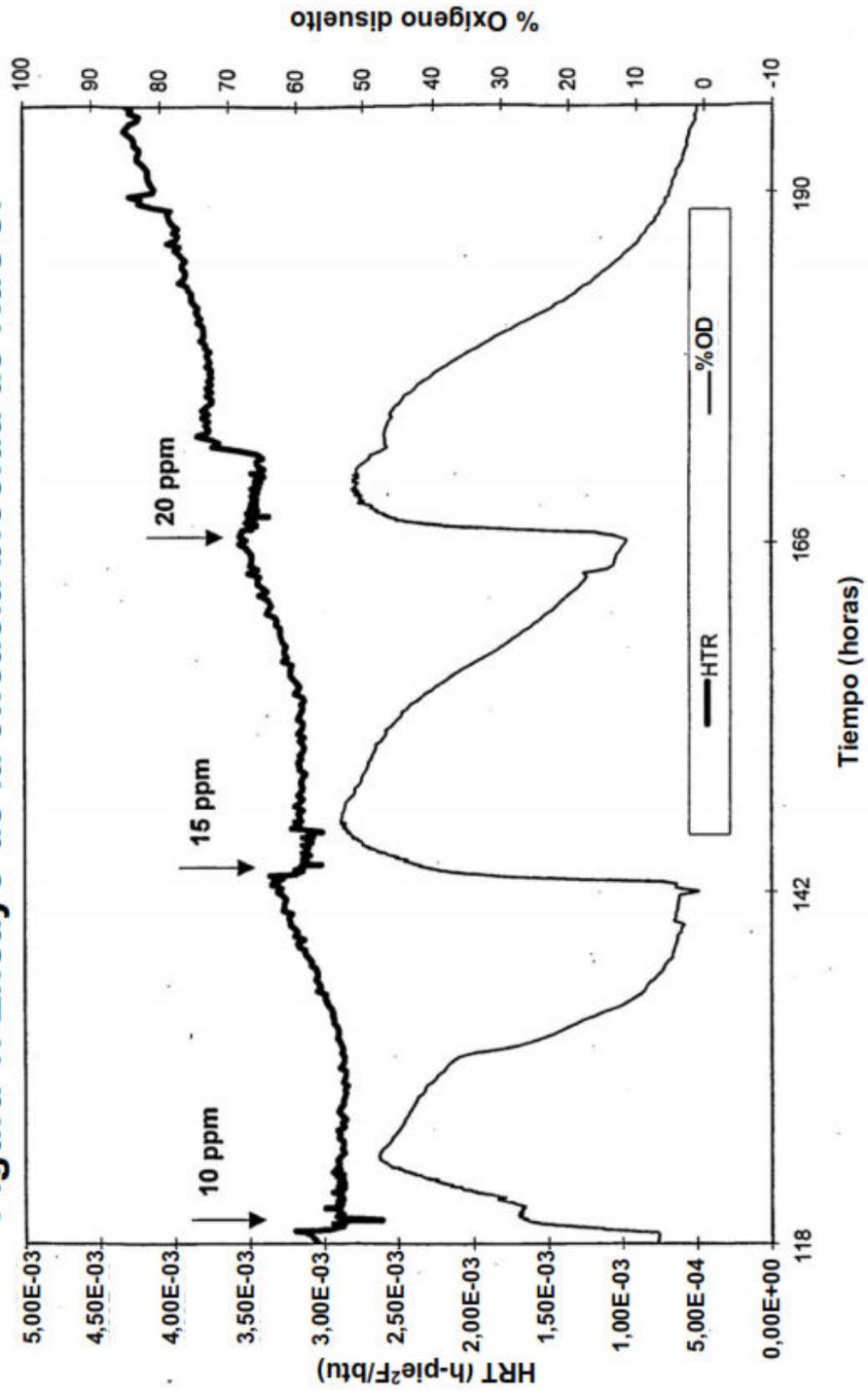
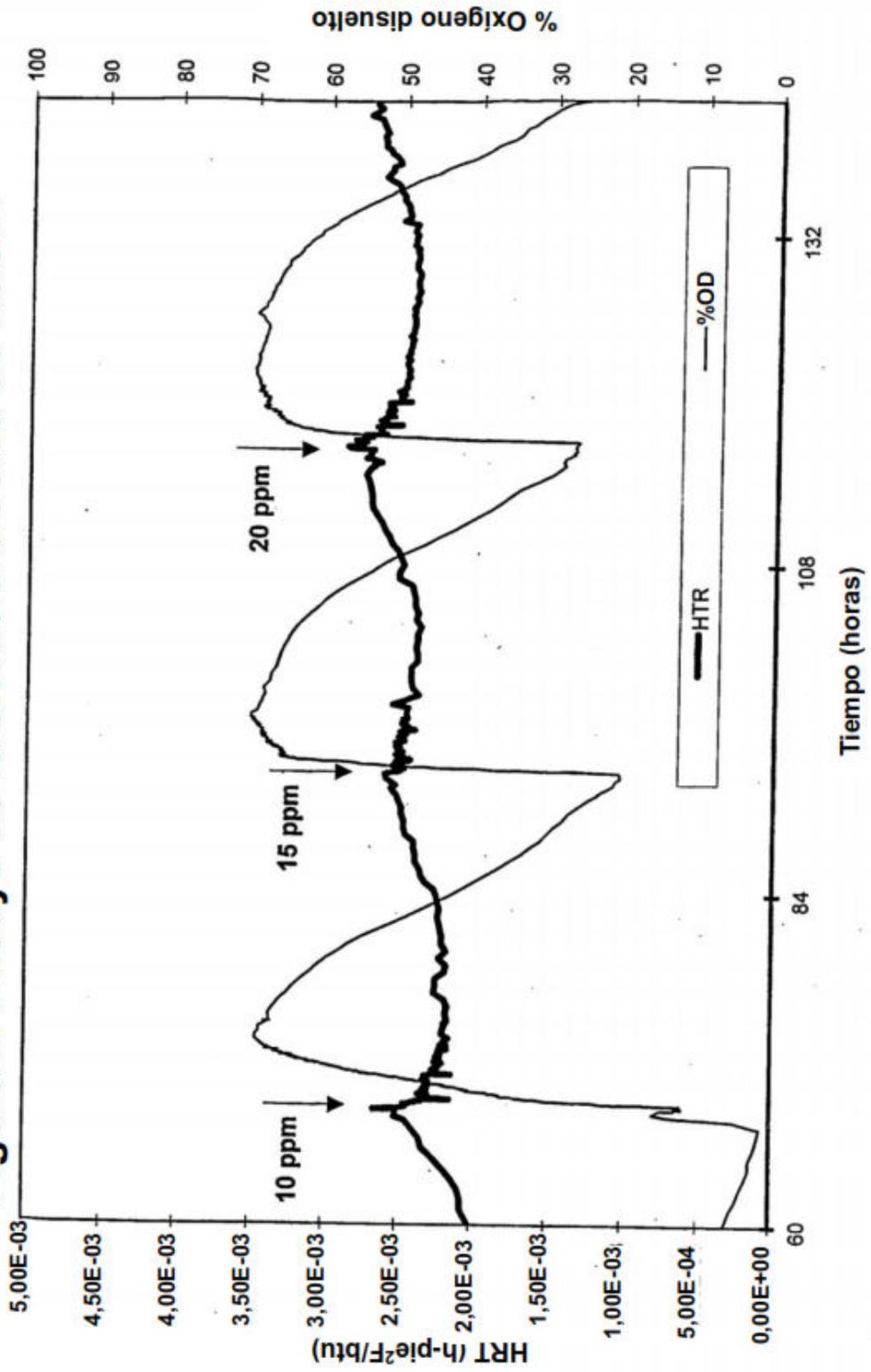


Figura 2. Ensayo de la eficacia biocida de NaOBr



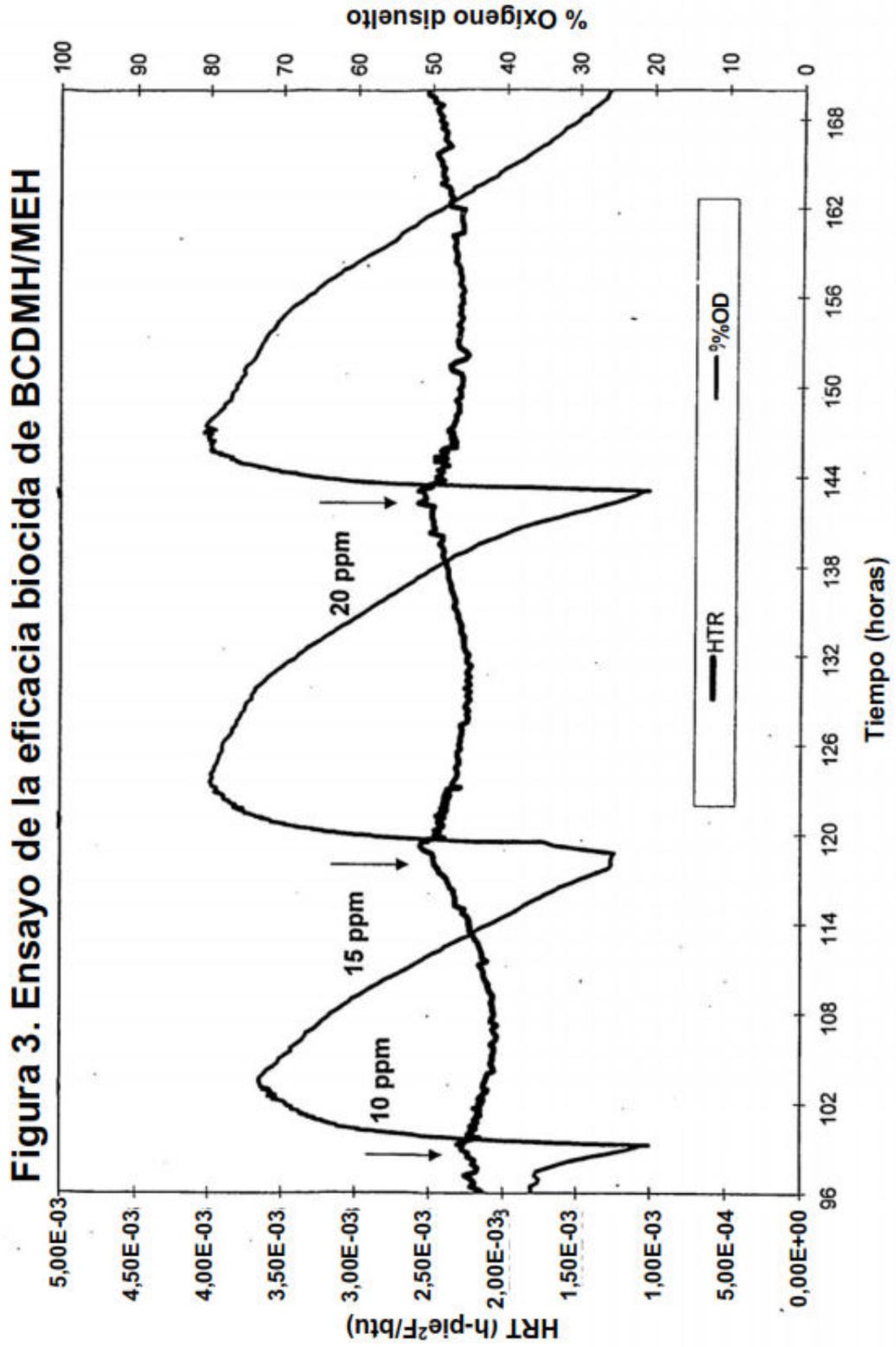


Figura 4. Ensayo de la eficacia biocida de MCDMH

