

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 758 833**

51 Int. Cl.:

**C02F 1/50** (2006.01)

**C02F 1/68** (2006.01)

**C02F 1/76** (2006.01)

**C02F 1/72** (2006.01)

**D21C 9/16** (2006.01)

**C02F 103/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.08.2002 E 10156113 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 2202206**

54 Título: **Control del desarrollo de biopelículas en agua de procesos industriales**

30 Prioridad:

**06.08.2001 US 310623 P**

**02.08.2002 US 211965**

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

**06.05.2020**

73 Titular/es:

**A.Y. LABORATORIES LTD. (100.0%)**

**P.O. BOX 20686**

**TEL AVIV 61206, IL**

72 Inventor/es:

**BARAK, AYALA**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 758 833 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Control del desarrollo de biopelículas en agua de procesos industriales

### Campo de la invención

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

### Antecedentes

10 A menudo se observa que los recipientes industriales que portan agua, tales como arquetas de procesos, tuberías, tanques de almacenamiento de agua de procesos, tanques de aditivos, filtros, tuberías de suministro de agua o tuberías de aguas residuales, etc., presentan un florecimiento que reviste una o más superficies del recipiente que porta agua en los lugares en que las superficies se ponen en contacto con el agua. En realidad, este florecimiento es una biopelícula, una colección de microorganismos inmersos en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares y diversos compuestos orgánicos e inorgánicos. En los últimos años, la naturaleza de estas biopelículas ha sido el foco de atención de investigadores académicos e industriales.

15 Aunque las biopelículas pueden contener una única especie de microorganismo, generalmente las biopelículas comprenden no solo diferentes especies de microorganismos, sino también diferentes tipos de microorganismos, por ejemplo, algas, protozoos, bacterias y otros. Se ha descubierto que una de las características de las biopelículas es que los microorganismos en su interior actúan de modo cooperativo o sinérgico. Así, por ejemplo, se observa que la actividad de ciertas enzimas producidas por bacterias que están unidas a una superficie es mucho mayor que la correspondiente actividad de las mismas enzimas producidas por estas bacterias en forma planctónica, es decir, cuando están flotando libremente (David G. Davies, en "Microbial Extracellular Polymeric Substances", Springer-Verlag, 1999, editores: J. Wingender, T. R. New, H. C. Flemming, en lo sucesivo "Wingender *et al.*"). Estudios comparativos de actividades de enzimas en bacterias planctónicas y bacterias unidas a superficies sólidas que están en contacto con agua han demostrado que la actividad enzimática en las bacterias unidas es mayor que en las bacterias planctónicas (M. Hoffman y Alan W. Decho en Wingender *et al.*). La comunicación dentro de las biopelículas microbianas es responsable de la inducción y la regulación de las actividades de la biopelícula, incluyendo, por ejemplo, la biosíntesis de enzimas extracelulares, el desarrollo de la biopelícula, la biosíntesis de antibióticos, la producción de biotensioactivos, la síntesis de exopolisacáridos y más, todas las cuales implican una actividad bioquímica compleja (Alan W. Decho en Wingender *et al.*). También se ha observado el intercambio de material genético entre los microorganismos en las biopelículas. Se ha descubierto empíricamente que, en un entorno concreto de aguas industriales, los microorganismos que viven en una biopelícula están mejor protegidos frente a los biocidas que los microorganismos que viven fuera de una biopelícula. Por tanto, de forma colectiva, los microorganismos inmersos en una biopelícula muestran características que son diferentes de las características que muestran un número parecido de microorganismos planctónicos.

35 Actuando de modo cooperativo, una colección de microorganismos actúa como una comunidad microbiana: es capaz de construir una matriz formada por material inorgánico y orgánico y, por tanto, pueden formar y mantener una biopelícula. Puesto que los microorganismos son organismos unicelulares que crecen y se multiplican, los microorganismos en una película deben reabastecer continuamente la matriz que los rodea, expandir la matriz y mantener la matriz. Este proceso se parece a un grupo de personas que actúan juntas para construir un conjunto contiguo de unidades de alojamiento para sí mismas, y que después no solo mantienen los hogares existentes, sino que añaden hogares adicionales para alojar el crecimiento de la población, mediante la construcción horizontal contigua o añadiendo nuevos hogares verticalmente sobre los hogares existentes.

40 Tal como los entienden los científicos en la actualidad, el comportamiento cooperativo entre los microorganismos en las biopelículas es inducido por la comunicación entre los microorganismos. Por ejemplo, las lactonas de homoserina desempeñan un papel importante en la comunicación entre bacterias. La matriz polimérica extracelular de una biopelícula parece presentar un medio eficaz para la comunicación química y, así, para estimular una comunicación más eficaz entre microorganismos individuales inmersos en la biopelícula.

45 Debido a que los microorganismos en las biopelículas son más eficaces que los microorganismos planctónicos para producir enzimas, se ha producido mucho interés en desarrollar biopelículas para realizar reacciones químicas. Sin embargo, en el contexto de los recipientes que portan agua de procesos e industriales, tales como conductos, tanques de agua y similares, esta propensión a producir enzimas y, de modo más importante, la tendencia de las biopelículas a formar grandes biomasas sobre la superficie del recipiente, puede ser extremadamente perjudicial. A medida que la biopelícula crece puede reducir el diámetro eficaz de una tubería u otro conducto en un punto concreto a lo largo del paso del agua o aumentar la fricción a lo largo del paso del flujo en el conducto, aumentando así la resistencia al flujo del agua a través del conducto, reduciendo el flujo de agua en su interior, aumentando el consumo de energía en las bombas que empujan o sacan el agua a través del conducto, y disminuyendo la eficacia de operaciones industriales.

55 Las biopelículas también deterioran la calidad de diversos productos químicos y aditivos de procesos. Por ejemplo, en la industria papelera, las biopelículas provocan el deterioro de productos químicos, tales como suspensiones de

almidón y carbonato de calcio que se añaden a las suspensiones de pulpa en los procesos de acabado en húmedo (K. Jokinen, en "Papermaking Chemistry", parte 4, 1999, ed. Fapet Oy). Los microorganismos también son responsables de la degradación del peróxido de hidrógeno en sistemas blanqueantes y de destintado (J. F. Kramer, MP Chemical Treatment, agosto de 1997, pp. 42-50). Por tanto, la presencia de enzimas que degradan el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en los molinos de destintado y blanqueado necesita la introducción de cantidades mayores de peróxido de hidrógeno que las que, de otro modo, serían necesarias para cumplir con los criterios de blanqueado fijados, aumentando con ello los costes de producción.

Las biopelículas también pueden provocar una corrosión grave de tuberías y arquetas, pueden provocar daños graves en las máquinas de papel y cartón y, entre otras cuestiones, pueden provocar la degradación de la calidad del papel terminado, producir malos olores y problemas de funcionamiento graves.

En la técnica anterior se han descrito diversos métodos para controlar las biopelículas en la industria. Una estrategia ha consistido en destruir físicamente la biopelícula por medios mecánicos, por ejemplo, mediante raspado o mediante sonicación. Por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 4.419.248 de Costerson describe un método para retirar una biopelícula de una superficie sumergida en agua. El método incluye enfriar la superficie por debajo del punto de congelación del agua para generar con ello cristales de hielo grandes con bordes cortantes en la biopelícula. La biopelícula congelada después se descongela y se retira de la superficie, por ejemplo, haciendo fluir un líquido por la superficie. Sin embargo, esta estrategia a menudo es inaplicable, puesto que el lugar en que crece la biopelícula puede ser inaccesible y/o puede ser necesaria la detención de las operaciones industriales para llegar a la biopelícula.

Otra estrategia ha consistido en destruir físicamente la biopelícula por medios químicos, por ejemplo, mediante el uso de agentes tensioactivos y detergentes que provocan la disgregación de la matriz de la biopelícula. Por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 5.753.180 de Burger describe un método no biocida para inhibir la corrosión influida por microbios de superficies metálicas susceptibles que presentan una biopelícula anaerobia que contiene bacterias reductoras de sulfato, que comprende poner en contacto la biopelícula con una dispersión líquida de un compuesto de antraquinona. La patente de EE. UU. n.º 6.149.822 de Fabri describe un proceso para retirar y controlar biopelículas presentes en aguas de procesos y de enfriamiento industriales. El proceso proporciona una composición que incluye los productos de reacción de una base de amino, formaldehído, una alquilenpoliamina, y la sal de amonio de un ácido inorgánico u orgánico. La composición puede usarse para retirar biopelículas existentes de un equipo de agua de un proceso. Pueden usarse posteriores dosificaciones de mantenimiento más bajas para mantener el equipo en una condición sustancialmente sin biopelícula. La patente de EE. UU. n.º 5.670.055 de Yu *et al.* describe un método para dispersar biopelículas en aguas de procesos industriales, que comprende añadir una cantidad eficaz para dispersar biopelículas de un sulfonato de alquilbenceno lineal a las aguas de procesos industriales que contienen bacterias formadoras de limo y otros microorganismos. Una realización alternativa de la invención de Yu *et al.* comprende añadir un compuesto seleccionado del grupo de los biocidas citados en ese documento, combinado con un agente dispersor de biopelícula de una lista citada también en el documento. La patente de EE. UU. n.º 5.882.916 de Wiersma describe un proceso de descontaminación para reducir la tensión superficial de una biopelícula, que permite la retirada de la biopelícula y el control de las bacterias subyacentes. Según la invención de Wiersma, una disolución que consiste en saponina y un ácido suave, tal como lactato de sodio de calidad alimentaria, se pone en contacto con la biopelícula. La saponina actúa como un agente espumante, que proporciona una reducción en la tensión superficial capaz de soltar la biopelícula.

En la técnica se conocen estrategias en las cuales la matriz de la biopelícula es degradada por enzimas que se introducen de modo externo. Por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 6.100.080 de Johansen describe un método para limpiar y desinfectar una superficie al menos parcialmente cubierta por una capa de biopelícula, que comprende las etapas de poner en contacto la biopelícula con una composición de limpieza que comprende una o más hidrolasas, para retirar o desprender total o parcialmente la capa de biopelícula de la superficie; y poner en contacto la biopelícula con una composición desinfectante bactericida que comprende una oxidorreductasa en una cantidad eficaz para matar las células bacterianas vivas presentes en la biopelícula. El ataque con enzimas externas conduce a la pérdida de actividad y a cambios en las propiedades de la biopelícula. Estas estrategias imposibilitan la capacidad de los microorganismos para mantener o expandir la matriz. Sin embargo, estas estrategias tienen diversas desventajas, por ejemplo, el tratamiento puede ser demasiado específico y los resultados pueden variar en diferentes sitios, o el tratamiento puede no ser barato.

Otra dificultad que aparece en el control de las biopelículas según la técnica anterior es que, a medida que la matriz de la biopelícula se descompone, las células viables habitualmente son liberadas hacia el agua. Estas células viables pueden comenzar una nueva biopelícula. De modo similar, la descomposición de la matriz de la biopelícula puede conducir a la liberación de enzimas hacia el agua, lo cual puede afectar a los procesos industriales que se están llevando a cabo.

A este respecto, los biocidas pueden ser útiles. El uso de biocidas para tratar bacterias planctónicas en aguas de procesos industriales es conocido en la técnica. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. de los inventores n.ºs 5.976.386 y 6.132.628, o la patente de EE. UU. n.º 5.882.526 de Brown *et al.*, que describe un método para tratar aguas reguladas usando una combinación de un oxidante que contiene halógeno, un agente de control de la erosión, peróxido de hidrógeno, y un estabilizante de peróxido de hidrógeno. En fechas más recientes, se han usado

biocidas para intentar controlar biopelículas. Este objetivo a veces se ha logrado combinando una técnica de degradación de biopelículas, tal como la introducción de enzimas que degradan biopelículas o la retirada física de biopelículas, con la aplicación de un biocida que permite el mantenimiento de un recuento bajo de microorganismos planctónicos en el agua del proceso. Por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 5.789.239 de Evers *et al.* describe el uso de (a) al menos una enzima de un grupo definido para degradar la biopelícula, y (b) un glicol de cadena corta como biocida para evitar y/o retirar biopelículas sobre superficies. La patente de EE. UU. n.º 4.966.716 de Favstritsky *et al.* describe un método para controlar el crecimiento de microorganismos que reducen la eficacia de sistemas de recirculación de agua, que comprende introducir en dichos sistemas una cantidad biocida eficaz de un perhaluro soluble en agua. El perhaluro se introduce primero en cantidades suficientes para matar a los microorganismos en superficies formadoras de película del sistema. Después, la concentración del perhaluro de amonio orgánico se mantiene a un nivel suficiente para reducir sustancialmente el recrecimiento de dichos microorganismos.

Como alternativa, se han usado biocidas para controlar microorganismos inmersos en biopelículas, concretamente, para erradicar a los propios microorganismos dentro de la matriz de la biopelícula. De modo específico, se ha afirmado que las monocloroaminas (MCA) y el cloro libre ("free chlorine", FC) muestran una eficacia similar para desinfectar bacterias de biopelículas (M. W. LeChevallier *et al.*, *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 2492-2499, 1988; T. S. Rao *et al.*, *Biofouling*, 12(4), pp. 321-332, 1998). La dificultad de esta estrategia, tal como se mencionó anteriormente, es que se ha descubierto empíricamente que la erradicación de los microorganismos en las biopelículas requiere unas concentraciones de biocidas que son varias veces mayores que las concentraciones de biocidas requeridas para erradicar los microorganismos planctónicos, que se requieren unos tiempos de contacto largos entre los microorganismos de la biopelícula y el biocida, o que es necesaria la aplicación continua de los biocidas. Esto aumenta el coste del tratamiento y puede exponer a los trabajadores a un riesgo mayor debido a los biocidas de lo que sería deseable o se puede permitir. También supone un riesgo mayor para el entorno.

En la técnica también se conocen estrategias para el control de biopelículas que utilizan combinaciones de los anteriores métodos. Estas estrategias de combinación, que están diseñadas para intentar resolver los problemas que surgen durante la aplicación de cada estrategia por separado, también pueden presentar algunas de las desventajas descritas anteriormente. Por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 6.106.854 de Belfer describe una composición desinfectante aséptica en forma líquida que tiene propiedades de limpieza de biopelículas y germicidas, que comprende un antiinfeccioso, un agente antiséptico y un agente antibiopelícula para matar organismos, un agente purificador de agua que actúa como detergente, un higienizante y un bactericida, un agente de limpieza que actúa como astringente y un abrasivo para la eliminación de biopelículas de superficies contaminadas y como bactericida y fungicida, un agente antioxidante y estabilizante, un agente de fregado que actúa como abrasivo y un limpiador para la eliminación de biopelículas de superficies contaminadas, al menos un ajustador de pH para acidificar la composición desinfectante, y un diluyente en el intervalo del 35,0% al 50,0% en peso de la composición desinfectante. Barbeau *et al.*, en la publicación de patente PCT n.º WO 00/27438, describe una composición para eliminar biopelículas. Esta composición comprende, como mínimo, un detergente, una sal o un ácido formador de sal y un bactericida.

El documento WO 01/53216 describe un agente de desactivación de biopelículas, que consiste fundamentalmente en una o más alquilaminas, y el uso de dicho agente para tratar un sistema acuoso, por sí solo o en presencia de un agente oxidante. El documento US 5607544 describe un proceso y un agente para el blanqueado oxidativo de pulpa de madera y para destintar residuos de papel.

En la patente de EE. UU. n.º 5.885.412 de Paart *et al.* se describe un método y una composición para suprimir o inhibir la acción de descomposición de ciertas enzimas sobre el peróxido de hidrógeno durante el blanqueado de las fibras de células con peróxido de hidrógeno de forma que los microorganismos no se ven muy afectados. La composición contiene hidroxilamina, sales tiocianato, ácido fórmico, ácido ascórbico o nitritos. Se sugiere que el uso de una o más de estas sustancias suprime o inhibe enzimas, tales como peroxidadas y catalasas, para que no descompongan el peróxido de hidrógeno, pero no afecta a los microorganismos.

Un método más reciente para prevenir el crecimiento de biopelículas ha consistido en interferir y prevenir la comunicación química entre las células en la biopelícula, por ejemplo, usando antagonistas de lactonas de homoserina. Al igual que en la historia bíblica de la torre de Babel, estas estrategias directamente alteran la comunicación entre los microorganismos contenidos en la biopelícula, dificultando así la capacidad de los microorganismos para coordinar sus acciones para el reabastecimiento, la expansión y el mantenimiento de la matriz y que conducen, en último término, a la descomposición de la matriz. Por ejemplo, Rycroft *et al.*, en la publicación de patente PCT n.º WO 99/27786 describe compuestos que pueden usarse en el tratamiento o la prevención de una infección bacteriana en seres humanos o en animales controlando la colonización de bacterias. Los compuestos pueden emplearse para retirar biopelículas de superficies. Davies *et al.*, en la publicación de patente PCT n.º WO 98/58075 describe un método para controlar la formación, la persistencia y la dispersión de biopelículas microbianas aprovechando el proceso natural de comunicación entre células en bacterias. Al igual que con el tratamiento mediante enzimas extracelulares, el tratamiento de biopelículas en aguas industriales usando antagonistas de lactonas de homoserina puede ser demasiado específico y los resultados pueden variar en diferentes sitios, o el tratamiento puede no ser barato.

La presente invención busca proporcionar un método para inhibir la producción de catalasa, según se define en la

reivindicación 1. La presente invención se basa en la sorprendente observación de que los biocidas de las patentes de EE. UU. n.ºs 5.976.386 y 6.132.628 del inventor controlan, de forma inesperada, el desarrollo de biopelículas, a una tasa de alimentación y según un régimen de alimentación que son insuficientes para provocar una muerte significativa de los microorganismos inmersos en las biopelículas. La tasa de alimentación y el régimen de alimentación, inesperadamente bajos, pueden usarse para mantener superficies libres de biopelículas, para retirar biopelículas existentes y para limitar la producción de enzimas, incluyendo enzimas que degradan peróxidos, tales como catalasas, peroxidases y deshidrogenasas, y enzimas que degradan el almidón, tales como amilasas, que de otro modo serían formadas por los microorganismos inmersos en las biopelículas. Además, la presente invención permite que ciertas operaciones industriales que implican a aguas de procesos, tales como plantas de destintado o blanqueado de papel, funcionen con más eficacia, por ejemplo, reduciendo la cantidad de peróxido requerida durante el blanqueado o el destintado, reduciendo la frecuencia del hervido, es decir, la limpieza de la maquinaria de fabricación de papel con agua caustica caliente, y reduciendo los periodos de cierre debido a operaciones de hervido y otras operaciones de limpieza. La presente invención también permite la optimización de procesos industriales que utilizan agua, que incluyen la química de acabado en húmedo de procesos de fabricación de papel industriales, mediante el control del desarrollo de biopelículas sobre la superficie de fibras, partículas suspendidas y aditivos. El presente inventor ha reconocido que el crecimiento de biopelículas sobre la superficie de fibras y partículas suspendidas puede interferir en la unión de dichas fibras o partículas, provocando defectos o una mejor calidad en el papel resultante.

### Sumario de la invención

Por tanto, se proporciona, según la reivindicación 1, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de biopelícula a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.

En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente incluye la administración intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente comprende: administrar una primera cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos; esperar durante un periodo de tiempo especificado; y después administrar una segunda cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente comprende administrar una primera cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos, con lo cual se obtiene una primera concentración de dicha sustancia inhibidora de biopelícula en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos; permitir que la concentración de la sustancia inhibidora de biopelícula en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos disminuya por debajo de dicha primera concentración; y después administrar una segunda cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

En una realización preferida de la invención, la sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a la colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:2. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo entre aproximadamente 1:5 y 1:10. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:10. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:25. En una realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:50.

En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente comprende administrar de modo intermitente dicha sustancia inhibidora de biopelícula durante un periodo de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 4 horas en cada aplicación intermitente.

En una realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie duradera. En otra realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie fungible.

En una realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie duradera, y cada aplicación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula se realiza durante un periodo de aproximadamente 3 horas. En otra realización preferida de la invención, la colección de microorganismos está unida a una superficie fungible, y cada aplicación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula se realiza durante un periodo de aproximadamente 5 minutos.

En una realización preferida de la invención, la biopelícula cuyo desarrollo se inhibe se encuentra adyacente a una superficie duradera. En otra realización preferida de la invención, la biopelícula cuyo desarrollo se inhibe se

encuentra adyacente a una superficie fungible.

En una realización preferida de la invención, la colección de microorganismos está localizada en una interfase entre el agua y una superficie de un sólido en un entorno de agua industrial.

5 En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente de una sustancia inhibidora de biopelícula incluye generar de modo intermitente la sustancia inhibidora de biopelícula en tiempo real. En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente incluye además suministrar dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos a medida que dicha sustancia inhibidora de biopelícula se genera en tiempo real.

10 En una realización preferida de la invención, dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula en tiempo real incluye producir una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, producir una dilución predeterminada de una sal de amonio, dosificar de modo sincronizado las dos diluciones en un mezclador para mezclarlas continuamente en su interior según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en el mezclador.

15 En una realización preferida de la invención, dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula en tiempo real incluye producir una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, producir una dilución predeterminada de una sal de amonio, dosificar de modo sincronizado las dos diluciones en un mezclador para mezclarlas continuamente en su interior según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en el mezclador, y dicho suministro de dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos a medida que se genera dicha sustancia inhibidora de biopelícula en tiempo real comprende inyectar de modo continuo dicha sustancia inhibidora de biopelícula activa, a medida que se produce *in situ* en el mezclador, desde dicho mezclador hacia el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

25 En una realización preferida de la invención, dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de una sal de amonio en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada de la sal de amonio, e inyectar de modo continuo y sincronizado la primera y la segunda corriente en un mezclador según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula *in situ* en el mezclador.

30 En una realización preferida de la invención, dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de una sal de amonio en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada de la sal de amonio, e inyectar de modo continuo y sincronizado la primera y la segunda corriente en un mezclador según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula *in situ* en el mezclador, y dicho suministro de dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos a medida que dicha sustancia inhibidora de biopelícula se genera en tiempo real comprende inyectar de modo continuo la sustancia inhibidora de biopelícula, a medida que se produce *in situ* en el mezclador, desde el mezclador hacia el agua en comunicación con la colección de microorganismos.

En una realización preferida de la invención, dicha sal de amonio se selecciona del grupo que consiste en bromuro de amonio y cloruro de amonio.

45 En una realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye una cantidad eficaz de cloramina activada con bromuro.

También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método inhibir el potencial para el desarrollo de biopelículas de una colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.

50 En una realización preferida de la invención, dicha inhibición del potencial para el desarrollo de biopelículas de una colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos comprende aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de biopelícula a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.

En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente incluye la administración intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

55 En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente comprende: administrar una primera cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de

microorganismos; esperar durante un periodo de tiempo especificado; y después administrar una segunda cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

5 En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente comprende administrar una primera cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos, con lo cual se obtiene una primera concentración de dicha sustancia inhibidora de biopelícula en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos; permitir que la concentración de la sustancia inhibidora de biopelícula en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos disminuya por debajo de dicha primera concentración; y después administrar una segunda cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

10 En una realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:2. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo entre aproximadamente 1:5 y 1:10. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:10. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:25. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:50.

15 En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente comprende administrar de modo intermitente dicha sustancia inhibidora de biopelícula durante un periodo de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 4 horas en cada aplicación intermitente.

20 En una realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie duradera. En otra realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie fungible.

25 En una realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie duradera, y cada aplicación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula se realiza durante un periodo de aproximadamente 3 horas. En otra realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie fungible, y cada aplicación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula se realiza durante un periodo de aproximadamente 5 minutos.

30 En una realización preferida de la invención, la biopelícula cuyo desarrollo se inhibe se encuentra adyacente a una superficie duradera. En otra realización preferida de la invención, la biopelícula cuyo desarrollo se inhibe se encuentra adyacente a una superficie fungible.

35 En una realización preferida de la invención, la colección de microorganismos está localizada en una interfase entre el agua y una superficie de un sólido en un entorno de agua industrial.

40 En una realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente de una sustancia inhibidora de biopelícula incluye generar de modo intermitente la sustancia inhibidora de biopelícula en tiempo real. En otra realización preferida de la invención, dicha aplicación intermitente incluye además suministrar dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos a medida que dicha sustancia inhibidora de biopelícula se genera en tiempo real.

45 En una realización preferida de la invención, dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula en tiempo real incluye producir una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, producir una dilución predeterminada de una sal de amonio, dosificar de modo sincronizado las dos diluciones en un mezclador para mezclarlas continuamente en su interior según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en el mezclador.

50 En una realización preferida de la invención, dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula en tiempo real incluye producir una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, producir una dilución predeterminada de una sal de amonio, dosificar de modo sincronizado las dos diluciones en un mezclador para mezclarlas continuamente en su interior según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en el mezclador, y dicho suministro de dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos a medida que dicha sustancia inhibidora de biopelícula se genera en tiempo real comprende inyectar de modo continuo dicha sustancia inhibidora de biopelícula activa, a medida que se produce *in situ* en dicho mezclador, directamente desde dicho mezclador hacia el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

55 En una realización preferida de la invención, dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de

5 agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de una sal de amonio en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada de la sal de amonio, e inyectar de modo continuo y sincronizado la primera y la segunda corriente en un mezclador según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula *in situ* en el mezclador.

10 En una realización preferida de la invención, dicha generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de una sal de amonio en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada de la sal de amonio, e inyectar de modo continuo y sincronizado la primera y la segunda corriente en un mezclador según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula *in situ* en el mezclador, y dicho suministro de dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos a medida que dicha sustancia inhibidora de biopelícula se genera en tiempo real comprende inyectar de modo continuo la sustancia inhibidora de biopelícula, a medida que se produce *in situ* en el mezclador, directamente desde el mezclador hacia el agua en comunicación con la colección de microorganismos.

15 En una realización preferida de la invención, dicha sal de amonio se selecciona del grupo que consiste en bromuro de amonio y cloruro de amonio.

20 En una realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye una cantidad eficaz de cloramina activada con bromuro.

25 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método inhibir el potencial para el desarrollo de biopelículas de una colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos, mediante la aplicación intermitente de una sustancia inhibidora de biopelícula a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.

También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un sistema para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho sistema un aplicador intermitente para aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de biopelícula a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.

30 En una realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente incluye un administrador que administra dicha sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

35 En una realización preferida de la invención, dicho administrador administra una primera cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos y, después de un periodo de tiempo especificado, administra una segunda cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

40 En una realización preferida de la invención, dicho administrador administra una primera cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos, con lo cual se obtiene una primera concentración de dicha sustancia inhibidora de biopelícula en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos; y después de dejar que la concentración de la sustancia inhibidora de biopelícula en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos disminuya por debajo de dicha primera concentración, administra una segunda cantidad discreta de una sustancia inhibidora de biopelícula al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

45 En una realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:2. En otra realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente aplica dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo entre aproximadamente 1:5 y 1:10. En otra realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente aplica dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:10. En otra realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente aplica dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:25. En otra realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente aplica dicha sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:50.

50 En una realización preferida de la invención, dicho administrador administra dicha sustancia inhibidora de biopelícula durante un periodo de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 4 horas en cada aplicación intermitente.

55 En una realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie duradera. En otra realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una

superficie fungible.

5 En una realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie duradera, y cada aplicación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula se realiza durante un periodo de aproximadamente 3 horas. En otra realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está unida a una superficie fungible, y cada aplicación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula se realiza durante un periodo de aproximadamente 5 minutos.

En una realización preferida de la invención, la biopelícula cuyo desarrollo se inhibe se encuentra adyacente a una superficie duradera. En otra realización preferida de la invención, la biopelícula cuyo desarrollo se inhibe se encuentra adyacente a una superficie fungible.

10 En una realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está localizada en una interfase entre el agua y una superficie de un sólido en un entorno de agua industrial.

En una realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente genera de modo intermitente la sustancia inhibidora de biopelícula en tiempo real.

15 En una realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente suministra además dicha sustancia inhibidora de biopelícula a dicha colección de microorganismos a medida que dicha sustancia inhibidora de biopelícula se genera en tiempo real.

20 En una realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente comprende además un primer productor para producir una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, un segundo productor para producir una dilución predeterminada de una sal de amonio, y un controlador para dosificar de modo sincronizado las dos diluciones en un mezclador para mezclarlas continuamente en su interior según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en el conducto.

25 En una realización preferida de la invención, dicho aplicador comprende además un inyector para inyectar dicha sustancia inhibidora de biopelícula, a medida que es producida *in situ* en dicho conducto, directamente desde dicho mezclador hacia el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

30 En una realización preferida de la invención, en cada generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula, dicho sistema inyecta de modo continuo y sincronizado una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyecta de modo continuo y sincronizado una cantidad de una sal de amonio en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada de la sal de amonio, e inyecta de modo continuo y sincronizado la primera y la segunda corriente en un mezclador según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula *in situ* en el mezclador.

35 En una realización preferida de la invención, en cada generación intermitente de dicha sustancia inhibidora de biopelícula, dicho sistema inyecta de modo continuo y sincronizado una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyecta de modo continuo y sincronizado una cantidad de una sal de amonio en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada de la sal de amonio, e inyecta de modo continuo y sincronizado la primera y la segunda corriente en un mezclador según una proporción predeterminada para producir la sustancia inhibidora de biopelícula *in situ* en el mezclador, y en cada aplicación intermitente, dicho aplicador inyecta de modo continuo la sustancia inhibidora de biopelícula, a medida que se produce *in situ* en el mezclador, directamente desde el mezclador hacia el agua en comunicación con la colección de microorganismos.

45 En una realización preferida de la invención, dicha sal de amonio se selecciona del grupo que consiste en bromuro de amonio y cloruro de amonio.

En una realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye una cantidad eficaz de cloramina activada con bromuro.

50 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula que comprende aplicar a una colección de microorganismos unida a una superficie en un entorno de agua industrial en una interfase entre dicha superficie y el agua, una cantidad de cloramina activada con bromuro eficaz para inhibir el desarrollo de una biopelícula por dicha colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.

55 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente cloramina activada con bromuro a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de

biopelículas.

- 5 En una realización preferida de la invención, cada aplicación intermitente de dicha cloramina activada con bromuro incluye producir una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, producir una dilución predeterminada de bromuro de amonio, dosificar de modo sincronizado las dos diluciones en un mezclador para mezclarlas continuamente en su interior según una proporción predeterminada para producir la cloramina activada con bromuro que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en el mezclador, e inyectar de modo continuo la cloramina activada por bromuro, a medida que se produce *in situ* en el mezclador, directamente desde dicho mezclador hacia el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.
- 10 En una realización preferida de la invención, dicha dilución predeterminada de dicho oxidante se produce de modo continuo inmediatamente antes de ser dosificada de modo sincronizado en dicho mezclador con dicha dilución predeterminada de dicho bromuro de amonio.
- En una realización preferida de la invención, dicha dilución predeterminada de dicho bromuro de amonio se produce de modo continuo inmediatamente antes de ser dosificada de modo sincronizado en dicho mezclador con dicha dilución predeterminada de dicho oxidante.
- 15 En una realización preferida de la invención, dicha cloramina activada con bromuro, a medida que es producida *in situ* en dicho mezclador, tiene un pH de al menos 8,5 antes de ser introducida en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.
- En una realización preferida de la invención, dicha cloramina activada con bromuro, a medida que es producida *in situ* en dicho mezclador, tiene un pH mayor que 9,5 antes de ser introducida en dicha agua.
- 20 En una realización preferida de la invención, dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos tiene un pH de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10,5 antes de que dicha cloramina activada con bromuro sea inyectada en dicha agua.
- En una realización preferida de la invención, dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos tiene un pH de entre aproximadamente 7 y aproximadamente 9 antes de que dicha cloramina activada con bromuro sea inyectada en dicha agua.
- 25 En una realización preferida de la invención, dicha cloramina activada con bromuro, a medida que es producida *in situ* en el conducto, se inyecta en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos hasta una concentración de 0,5-300 ppm expresada como cloro.
- 30 En una realización preferida de la invención, dicha cloramina activada con bromuro, a medida que es producida *in situ* en el conducto, se inyecta en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos hasta una concentración de 3-10 ppm expresada como cloro.
- En una realización preferida de la invención, el bromuro de amonio tiene una concentración de aproximadamente 0,1% en peso a aproximadamente 50% en peso.
- 35 En una realización preferida de la invención, el bromuro de amonio tiene una concentración de aproximadamente 2,5% en peso a aproximadamente 38% en peso.
- En una realización preferida de la invención, dicha dilución predeterminada de bromuro de amonio tiene una concentración del 0,1% en peso al 6,0% en peso, y es equimolar con dicha disolución de oxidante diluido.
- En una realización preferida de la invención, dicho oxidante se selecciona del grupo que consiste en hipoclorito de sodio e hipoclorito de calcio.
- 40 En una realización preferida de la invención, dicho oxidante es una disolución de hipoclorito, y dicho bromuro de amonio es una disolución que contiene un exceso de base que se corresponde con al menos NaOH al 10%.
- En una realización preferida de la invención, una base se añade de modo sincronizado a dicho bromuro de amonio para estabilizar la cloramina activada con bromuro.
- 45 En una realización preferida de la invención, dicho oxidante tiene una concentración de entre 0,1% en peso y 15% en peso expresada como Cl<sub>2</sub>.
- En una realización preferida de la invención, dicho oxidante tiene una concentración de entre 5% en peso y 15% en peso expresada como Cl<sub>2</sub>.
- En una realización preferida de la invención, después de la adición de agua, dicha dilución de oxidante tiene una concentración del 0,1% en peso y 2,0% en peso expresada como Cl<sub>2</sub>.
- 50 En una realización preferida de la invención, dicha aplicación de una cantidad eficaz de cloramina activada con

- bromuro incluye inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de bromuro de amonio en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del bromuro de amonio, inyectar de modo continuo y sincronizado dicha primera y segunda corriente en un mezclador según una proporción predeterminada para producir dicha cloramina activada con bromuro *in situ* en dicho mezclador, e inyectar de modo continuo dicha cloramina activada con bromuro, a medida que se produce *in situ* en dicho mezclador, directamente desde dicho mezclador hacia el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.
- 5
- 10 En una realización preferida de la invención, el hipoclorito se inyecta de modo continuo en dicha primera corriente de agua mediante una primera bomba de dosificación conectada a un depósito de dicho oxidante.
- En una realización preferida de la invención, dicho bromuro de amonio se inyecta de modo continuo en dicha segunda corriente de agua mediante una segunda bomba de dosificación conectada a un depósito de dicho bromuro de amonio, y se hace funcionar de modo sincronizado con dicha primera bomba de dosificación.
- 15 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método inhibir de modo intermitente el potencial para el desarrollo de biopelículas de una colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.
- 20 En una realización preferida de la invención, dicha inhibición del potencial para el desarrollo de biopelículas de una colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos comprende aplicar cloramina activada con bromuro a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.
- En una realización preferida de la invención, cada aplicación intermitente de dicha cloramina activada con bromuro incluye producir una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, producir una dilución predeterminada de bromuro de amonio, dosificar de modo sincronizado las dos diluciones en un mezclador para mezclarlas continuamente en su interior según una proporción predeterminada para producir la cloramina activada con bromuro que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en el mezclador, e inyectar de modo continuo la cloramina activada por bromuro a medida que se produce *in situ* en el mezclador, directamente desde dicho mezclador hacia el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.
- 25
- 30 En una realización preferida de la invención, dicha dilución predeterminada de dicho oxidante se produce de modo continuo inmediatamente antes de ser dosificada de modo sincronizado en dicho mezclador con dicha dilución predeterminada de dicho bromuro de amonio.
- En una realización preferida de la invención, dicha dilución predeterminada de dicho bromuro de amonio se produce de modo continuo inmediatamente antes de ser dosificada de modo sincronizado en dicho mezclador con dicha dilución predeterminada de dicho oxidante.
- 35
- En una realización preferida de la invención, dicha cloramina activada con bromuro, a medida que es producida *in situ* en dicho mezclador, tiene un pH de al menos 8,5 antes de ser introducida en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.
- 40 En una realización preferida de la invención, dicha cloramina activada con bromuro, a medida que es producida *in situ* en dicho mezclador, tiene un pH mayor que 9,5 antes de ser introducida en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.
- En una realización preferida de la invención, dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos tiene un pH de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10,5 antes de que dicha cloramina activada con bromuro sea inyectada en dicha agua.
- 45 En una realización preferida de la invención, dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos tiene un pH de entre aproximadamente 7 y aproximadamente 9 antes de que dicha cloramina activada con bromuro sea inyectada en dicha agua.
- En una realización preferida de la invención, dicha cloramina activada con bromuro, a medida que es producida *in situ* en el mezclador, se inyecta en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos hasta una concentración de 0,5-300 ppm expresada como cloro.
- 50 En una realización preferida de la invención, dicha cloramina activada con bromuro, a medida que es producida *in situ* en el mezclador, se inyecta en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos hasta una concentración de 3-10 ppm expresada como cloro.
- En una realización preferida de la invención, el bromuro de amonio tiene una concentración de aproximadamente

0,1% en peso a aproximadamente 50% en peso.

En una realización preferida de la invención, el bromuro de amonio tiene una concentración de aproximadamente 2,5% en peso a aproximadamente 38% en peso.

5 En una realización preferida de la invención, dicha dilución predeterminada de bromuro de amonio tiene una concentración del 0,1% en peso al 6,0% en peso, y es equimolar con dicha disolución de oxidante diluido.

En una realización preferida de la invención, dicho oxidante se selecciona del grupo que consiste en hipoclorito de sodio e hipoclorito de calcio.

En una realización preferida de la invención, dicho oxidante es una disolución de hipoclorito, y dicho bromuro de amonio es una disolución que contiene un exceso de base que se corresponde con al menos NaOH al 10%.

10 En una realización preferida de la invención, una base se añade de modo sincronizado a dicho bromuro de amonio para estabilizar la cloramina activada con bromuro.

En una realización preferida de la invención, dicho oxidante tiene una concentración de entre 0,1% en peso y 15% en peso expresada como Cl<sub>2</sub>.

15 En una realización preferida de la invención, dicho oxidante tiene una concentración de entre 5% en peso y 15% en peso expresada como Cl<sub>2</sub>.

En una realización preferida de la invención, después de la adición de agua, dicha dilución de oxidante tiene una concentración del 0,1% en peso y 2,0% en peso expresada como Cl<sub>2</sub>.

20 En una realización preferida de la invención, la aplicación de una cantidad eficaz de cloramina activada con bromuro incluye inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de hipoclorito en una primera corriente de agua que pasa a través de un primer conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del hipoclorito, inyectar de modo continuo y sincronizado una cantidad de bromuro de amonio en una segunda corriente de agua que pasa a través de un segundo conducto para producir en su interior una dilución predeterminada del bromuro de amonio, inyectar de modo continuo y sincronizado dicha primera y segunda corriente en un mezclador según una proporción predeterminada para producir dicha cloramina activada con bromuro *in situ* en dicho mezclador, e inyectar de modo continuo dicha cloramina activada con bromuro, a medida que se produce *in situ* en dicho mezclador, directamente desde dicho mezclador hacia el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

En una realización preferida de la invención, el hipoclorito se inyecta de modo continuo en dicha primera corriente de agua mediante una primera bomba de dosificación conectada a un depósito de dicho hipoclorito.

30 En una realización preferida de la invención, dicho bromuro de amonio se inyecta de modo continuo en dicha segunda corriente de agua mediante una segunda bomba de dosificación conectada a un depósito de dicho bromuro de amonio, y se hace funcionar de modo sincronizado con dicha primera bomba de dosificación.

### Sumario de la invención

También se proporciona, según la invención, un método para inhibir la producción de una enzima por una colección de microorganismos, tal como se define en la reivindicación 1.

35 En una realización preferida de la invención, dicha superficie es una superficie duradera. En otra realización preferida de la invención, dicha superficie es una superficie fungible.

En una realización preferida de la invención, dicha sustancia no erradica completamente dicha colección de microorganismos.

40 En una realización preferida de la invención, dicha sustancia no inactiva dicha enzima. En la invención, dicha enzima es una catalasa, una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno ("hydrogen peroxide-degrading enzyme", HPDE).

En una realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está presente en una interfase entre el agua y una superficie de un sólido en un entorno industrial.

En la invención, dicha sustancia es cloramina activada con bromuro.

45 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir la producción de una enzima por una colección de microorganismos unida a una superficie en un entorno de agua industrial, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente a una colección de microorganismos unida a una superficie en un entorno de agua industrial, una sustancia que inhibe la producción de una enzima por dicha colección de microorganismos.

50 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir la producción de

una enzima por una colección de microorganismos adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de la producción de enzimas a una colección de microorganismos adyacente a una superficie que presenta un potencial para la producción de enzimas.

5 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir la producción de una enzima por una colección de microorganismos adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método inhibir el potencial para la producción de enzimas de la colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.

10 En una realización preferida de la invención, dicha inhibición del potencial para la producción de enzimas de la colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos comprende aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de la producción de enzimas a una colección de microorganismos adyacente a una superficie que presenta un potencial para la producción de enzimas.

15 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un sistema para reducir la producción de una enzima por una colección de microorganismos unida a una superficie, comprendiendo dicho sistema un aplicador intermitente para aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de la producción de enzimas a una colección de microorganismos que presenta un potencial para la producción de enzimas que está unida a una superficie.

En una realización preferida de la invención, el aplicador intermitente incluye un administrador que administra dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

20 En una realización preferida de la invención, dicho administrador administra una primera cantidad discreta de una sustancia inhibidora de la producción de enzimas al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos y, después de un periodo de tiempo especificado, administra una segunda cantidad discreta de una sustancia inhibidora de la producción de enzimas a dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

25 En una realización preferida de la invención, dicho administrador administra una primera cantidad discreta de una sustancia inhibidora de la producción de enzimas al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos, con lo cual se obtiene una primera concentración de dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos; y después de dejar que la concentración de dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas en dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos disminuya por debajo de dicha primera concentración, administra una segunda cantidad discreta de una sustancia inhibidora de la producción de enzimas al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

30 En una realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas no erradica completamente dicha colección de microorganismos.

35 En una realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas no inactiva la enzima. En una realización preferida de la invención, dicha enzima es una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno, preferiblemente una catalasa, una deshidrogenasa o una peroxidasa. En otra realización preferida de la invención, dicha enzima es una enzima que degrada el almidón, preferiblemente una amilasa.

En una realización preferida de la invención, dicha colección de microorganismos está presente en una interfase entre el agua y una superficie de un sólido en un entorno industrial.

En la invención, dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas es cloramina activada con bromuro.

40 En la invención, dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas se presenta a dicha colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:2. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de la producción de enzima se presenta a la colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo entre aproximadamente 1:5 y 1:10. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de la producción de enzima se presenta a la colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:10. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de la producción de enzima se presenta a la colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:25. En otra realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de la producción de enzima se presenta a la colección de microorganismos periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:50.

45 En una realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente genera dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas en tiempo real.

50 En una realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente suministra además dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas a dicha colección de microorganismos a medida que dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas se genera en tiempo real.

En una realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente incluye un primer productor para producir

una dilución predeterminada de hipoclorito, un segundo productor para producir una dilución predeterminada de una sal de amonio, y un controlador para mezclar de modo continuo y sincronizado las dos diluciones en un mezclador según una proporción predeterminada para producir dicha sustancia inhibidora de la producción de enzimas *in situ* en el mezclador.

- 5 En una realización preferida de la invención, dicho aplicador intermitente incluye un inyector para inyectar de modo continuo la sustancia inhibidora de la producción de enzimas, a medida que es producida *in situ* en dicho mezclador, directamente desde dicho mezclador hacia el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

En una realización preferida de la invención, dicha sal de amonio se selecciona del grupo que consiste en cloruro de amonio y bromuro de amonio.

- 10 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir la producción de una enzima por una colección de microorganismos, comprendiendo dicho método administrar a una colección de microorganismos en una interfase entre el agua y una superficie de un sólido en un entorno de agua industrial, una cantidad de cloramina activada con bromuro eficaz para inhibir la producción de una enzima por dicha colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.

- 15 En la invención, dicha cloramina activada por bromuro no inactiva dicha enzima.

En la invención, dicha enzima es una enzima que destruye el peróxido de hidrógeno, una catalasa.

- 20 En la invención, dicha administración de cloramina activada con bromuro incluye producir una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, producir una dilución predeterminada de bromuro de amonio, dosificar de modo sincronizado las dos diluciones en un mezclador para mezclarlas continuamente en su interior según una proporción predeterminada para producir dicha cloramina activada con bromuro que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en dicho mezclador, e inyectar de modo continuo dicha cloramina activada por bromuro a medida que se produce *in situ* en el mezclador, directamente desde dicho mezclador hacia el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos.

- 25 En una realización preferida de la invención, dicha dilución predeterminada de dicho oxidante se produce de modo continuo inmediatamente antes de ser dosificada de modo sincronizado en dicho mezclador con dicha dilución predeterminada de dicha fuente de amina.

- 30 En una realización preferida de la invención, dicha cloramina activada con bromuro, a medida que es producida *in situ* en dicho mezclador, tiene un pH de al menos 8,5, preferiblemente más de 9,5, antes de ser introducida en el agua en comunicación con dicha colección de microorganismos. En una realización preferida de la invención, dicha agua en comunicación con dicha colección de microorganismos tiene un pH de 5-10,5, preferiblemente de 7-9, antes de que dicha cloramina activada con bromuro sea inyectada en ella.

- 35 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para aumentar la persistencia del peróxido de hidrógeno en el agua de un proceso de destintado o blanqueado, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente a una colección de microorganismos en una interfase entre una superficie de un sólido y dicha agua del proceso de destintado o blanqueado, una sustancia que inhibe la producción de una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno.

- 40 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para aumentar la persistencia del peróxido de hidrógeno en el agua de un proceso de destintado o blanqueado, comprendiendo dicho método inhibir el potencial de producción de una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno de una colección de microorganismos en una interfase entre una superficie de un sólido y dicha agua del proceso de destintado o blanqueado, mediante la aplicación a dicha colección de microorganismos de una sustancia que inhibe el potencial de producción de una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno de dicha colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.

- 45 En una realización preferida de la invención, dicha sustancia inhibidora de biopelícula incluye cloramina activada con bromuro, y dicha agua del proceso contiene peróxido.

En una realización preferida de la invención, la sustancia inhibidora de biopelícula no degrada el peróxido.

- 50 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para controlar una biopelícula, que comprende aplicar a un sitio de biopelícula que debe controlarse una cantidad de una cloramina activada con bromuro eficaz para alterar el funcionamiento de la biopelícula sin erradicar la colección de microorganismos contenida en la biopelícula.

También se proporciona, según una realización preferida de la invención, una disolución acuosa que comprende una cloramina activada con bromuro y un peróxido.

En una realización preferida de la invención, la concentración de cloramina activada con bromuro está entre aproximadamente 1 parte por millón (ppm) y aproximadamente 10 ppm, expresada como cloro total.

En una realización preferida de la invención, la concentración de peróxido está entre aproximadamente 100 ppm y aproximadamente 40.000 ppm.

5 En una realización preferida de la invención, el disolvente de dicha disolución acuosa es agua que tiene una alta demanda de cloro. En una realización preferida de la invención, el disolvente de dicha disolución acuosa es agua que tiene una baja demanda de cloro.

También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de biopelícula de modo intencionado a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.

10 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método inhibir de modo intencionado el potencial para el desarrollo de biopelículas de una colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.

15 En una realización preferida de la invención, dicha inhibición intencionada del potencial para el desarrollo de biopelículas de una colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos comprende aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de biopelícula a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.

20 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un sistema para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho sistema un aplicador intermitente para aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de biopelícula de modo intencionado a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.

25 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula que comprende aplicar de modo intencionado a una colección de microorganismos unida a una superficie en un entorno de agua industrial en una interfase entre dicha superficie y el agua, una cantidad de cloramina activada con bromuro eficaz para inhibir el desarrollo de una biopelícula por dicha colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.

30 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente cloramina activada con bromuro de modo intencionado a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.

También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el crecimiento de una biopelícula en un entorno de agua industrial, que incluye generar cloramina activada con bromuro en tiempo real, y aplicar dicha cloramina activada con bromuro en tiempo real de modo intencionado a una interfase entre el agua y una superficie de un sólido en un entorno de agua industrial.

35 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para reducir la producción de una enzima por una colección de microorganismos, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente e intencionado a una colección de microorganismos unida a una superficie, una sustancia que inhibe la producción de una enzima por dicha colección de microorganismos.

40 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un sistema para reducir la producción de una enzima por una colección de microorganismos unida a una superficie, comprendiendo dicho sistema un aplicador intermitente para aplicar de modo intermitente una sustancia inhibidora de la producción de enzimas a una colección de microorganismos que presenta un potencial para la producción de enzimas que está unida a una superficie.

45 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir la producción de una enzima por una colección de microorganismos, comprendiendo dicho método administrar de modo intencionado a una colección de microorganismos en una interfase entre el agua y una superficie de un sólido en un entorno de agua industrial, una cantidad de cloramina activada con bromuro eficaz para realizar la inhibición de la producción de una enzima por dicha colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.

50 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método aplicar un inhibidor de biopelícula que comprende cloramina activada con bromuro y un peróxido de modo intencionado a una colección de microorganismos que presenta un potencial para el desarrollo de biopelículas.

55 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para inhibir el desarrollo de una biopelícula adyacente a una superficie, comprendiendo dicho método inhibir el potencial para el desarrollo de

biopelículas de una colección de microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos, mediante la aplicación intermitente e intencionada a dicha colección de microorganismos de una sustancia inhibidora de biopelícula que comprende cloramina activada por bromuro y un peróxido.

5 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para aumentar la persistencia del peróxido de hidrógeno en el agua de un proceso de destintado o blanqueado, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente e intencionado a una colección de microorganismos en una interfase entre una superficie de un sólido y dicha agua del proceso de destintado o blanqueado, una sustancia que inhibe la producción de una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno.

10 También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para aumentar la persistencia del peróxido de hidrógeno en el agua de un proceso de destintado o blanqueado, comprendiendo dicho método inhibir el potencial de producción de una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno de una colección de microorganismos en una interfase entre una superficie de un sólido y dicha agua del proceso de destintado o blanqueado, mediante la aplicación intencionada a dicha colección de microorganismos de una sustancia que inhibe el potencial de producción de una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno de dicha colección de  
15 microorganismos sin erradicar completamente dicha colección de microorganismos.

También se proporciona, según una realización preferida de la invención, un método para controlar una biopelícula, que comprende aplicar de modo intencionado a un sitio de biopelícula que debe controlarse una cantidad de una cloramina activada con bromuro eficaz para alterar el funcionamiento de la biopelícula sin erradicar la colección de microorganismos contenida en la biopelícula.

## 20 **Descripción detallada de las realizaciones preferidas**

La invención se describirá más concretamente con respecto a una serie de ejemplos mostrados a continuación, y también con respecto a los dibujos adjuntos, en los que:

la figura 1 es un diagrama de bloques que ilustra una forma del aparato construido y funcional para permitir la práctica de la presente invención;

25 la figura 2 es un diagrama de bloques similar que ilustra otro aparato construido y funcional para permitir la práctica de la presente invención;

la figura 3 es una gráfica de la diferencia entre el coeficiente de Hazen-Williams en una tubería tratada con una sustancia inhibidora de biopelícula y una tubería control no tratada;

30 la figura 4 es una gráfica que compara las diferencias entre tuberías tratadas con una sustancia inhibidora de biopelícula, la cloramina, y una tubería control no tratada;

la figura 5 es una gráfica que muestra la aparición de agujeros y manchas en un papel tras la aplicación intermitente de una sustancia inhibidora de biopelícula a una biopelícula que estaba en crecimiento en una máquina de fabricación de papel, en la que la máquina no fue limpiada antes del tratamiento;

35 la figura 6 es una gráfica que muestra la aparición de agujeros y manchas en un papel tras la limpieza de la máquina de fabricación de papel, y la posterior continuación de la aplicación intermitente de una sustancia inhibidora de biopelícula;

la figura 7 es una gráfica que muestra los recuentos de diferentes tipos de células viables en una máquina de fabricación de papel en respuesta a la aplicación intermitente de una sustancia inhibidora de biopelícula; y

40 la figura 8 es una gráfica que muestra el efecto de la adición de una sustancia inhibidora de biopelícula sobre la retención de fibras en una máquina de fabricación de papel.

La expresión "ciclo de trabajo" significa la proporción entre (a) la cantidad de tiempo que se administra la sustancia inhibidora de biopelícula o la sustancia inhibidora de la producción de enzimas a una colección de microorganismos que tiene un potencial para el desarrollo de biopelículas, y (b) la cantidad de tiempo que dicha sustancia no se administra a una colección de microorganismos que tiene un potencial para el desarrollo de biopelículas o un  
45 potencial para el desarrollo de enzimas. En una realización preferida de la presente invención, la sustancia inhibidora biopelícula o la sustancia inhibidora de la producción de enzimas se inyecta de modo continuo, a medida que se produce, en el agua en comunicación con una colección de microorganismos que tiene un potencial para el desarrollo de biopelículas. En conexión con esta realización preferida de la invención, la expresión "ciclo de trabajo" significa la proporción entre (a) la cantidad de tiempo que la sustancia inhibidora de biopelícula o la sustancia  
50 inhibidora de la producción de enzimas se inyecta de modo continuo, a medida que se produce, hacia el agua en comunicación con una colección de microorganismos que tiene un potencial para el desarrollo de biopelículas o un potencial para el desarrollo de enzimas, y (b) la cantidad de tiempo que dicha sustancia no se inyecta hacia el agua en comunicación con una colección de microorganismos que tiene un potencial para el desarrollo de biopelículas o un potencial para el desarrollo de enzimas. Por tanto, si una sustancia inhibidora de biopelícula se inyecta en el agua

del proceso durante tres horas una vez en tres días para inhibir el desarrollo de una película, el ciclo de trabajo es de 1:23.

5 En el contexto de esta solicitud de patente, la expresión “exceso de base que se corresponde con al menos NaOH al 10%” significa una disolución que contiene el equivalente de más de 2 moles de NaOH por mol de  $\text{Cl}_2$ , calculado basándose en la formación de NaOCl a partir de  $\text{Cl}_2$  y NaOH según la ecuación:



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

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

15 En el contexto de la presente solicitud de patente, se entenderá que la expresión “una colección de microorganismos unida a una superficie” no implica que todos y cada uno de los microorganismos que son parte de la colección estén necesariamente unidos directamente a la superficie. Por ejemplo, una colección de microorganismos que tenga un espesor de varias células puede presentar una primera capa de células que están unidas directamente a la superficie, y varias capas adicionales de células apiladas sobre la capa más inferior. De modo similar, los microorganismos en una biopelícula no tocan necesariamente la superficie a la cual está unida la biopelícula, sino que están inmersos en la matriz de la biopelícula. Para los objetivos de la presente solicitud de patente, dicha colección de microorganismos se considera también una colección de microorganismos unida a una superficie.

20 Se entenderá que la expresión “desarrollo de una biopelícula” incluye la creación de una biopelícula desde el inicio por una colección de microorganismos, así como el mantenimiento o la expansión de una biopelícula existente por una colección de microorganismos.

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

30 Dependiendo del tipo de proceso industrial, las superficies fungibles pueden estar presentes en el aparato durante un tiempo significativamente menor que las superficies duraderas, en cuyo caso la frecuencia del tratamiento o el ciclo de trabajo puede estar determinado por la frecuencia o el ciclo de trabajo requerido para tratar las superficies duraderas.

A la inversa, en algunos procesos:

35 (a) las superficies fungibles pueden estar presentes en el aparato del proceso durante periodos de tiempo relativamente largos, por ejemplo, en casos en los que una parte del agua del proceso se vuelve a reciclar hacia la corriente del proceso,

(b) las superficies fungibles pueden ser revestidas por los productos químicos de acabado en húmedo, de los cuales se pueden alimentar los microorganismos,

40 (c) el agua del proceso puede contener una concentración relativamente alta de superficies fungibles (partículas y/o fibras), o

(d) es probable que las partículas o las fibras que portan las superficies fungibles puedan precipitar.

En estos casos, la frecuencia o el ciclo de trabajo estará determinado por la frecuencia o el ciclo de trabajo requerido para tratar las superficies duraderas.

45 Con respecto a las situaciones (c) y (d) en particular, se advierte que, en la fabricación de papel, las fibras se conforman en papel mediante el revestimiento de una malla de plástico o alambre con una lámina de suspensión que contiene una mezcla de fibras, pigmentos y productos químicos, tal como se conoce en la técnica de la fabricación de papel, y después, a través de una serie de etapas, la lámina se seca hasta alcanzar un contenido en agua de aproximadamente 8%. La “retención” es definida por Smook en la p. 191 como la cantidad de cualquier material para la fabricación de papel que es retenido en el proceso de formación del papel, y habitualmente se expresa como un porcentaje con respecto a lo que se añadió inicialmente. Así, cuanto mayor sea el porcentaje de fibras que son retenidas por la malla, mayor será la “retención” del proceso de fabricación de papel. Una retención del 90% se considera excelente; una retención del 50% se considera mala. Las fibras que no acaban formando parte de la lámina de papel se reciclan para su uso posterior.

En las máquinas de fabricación de papel que tienen una retención baja o mala, la concentración de fibras en ciertas partes de la maquinaria puede ser mayor que en las máquinas que tienen una buena retención. Además, debido a que las fibras tienen una proporción muy alta de superficie específica a masa, y debido a que las fibras usadas en la fabricación de papel son porosas, lo cual aumenta aún más la proporción de superficie específica a masa, la superficie total presentada por las fibras (que, en el contexto de la presente solicitud, constituyen las superficies fungibles) puede ser mucho mayor que la superficie total presentada por la propia maquinaria. Además, debido al reciclado de las fibras, el tiempo eficaz que algunas de estas fibras están presentes en la máquina de fabricación de papel puede ser del orden de horas o incluso días.

Por consiguiente, aunque no se pretenda limitación alguna por la teoría, el inventor cree que existe la oportunidad de que las biopelículas se formen sobre las superficies de fibras a partir de las cuales se fabrica el papel, y que la presencia de dichas biopelículas puede tener un efecto perjudicial sobre la producción del papel, puesto que la capacidad de las fibras para adherirse entre sí es fundamental para la formación de un papel de calidad aceptable, y la presencia de una biopelícula sobre las fibras interfiere con dicha adherencia. Una mala adherencia entre las fibras también aumenta la probabilidad de que dichas fibras precipiten. Además, se cree que el problema de la formación de una biopelícula sobre las fibras puede verse exacerbado por el uso de ciertos productos químicos, tales como almidón o azúcar en la química de acabado en húmedo del proceso de fabricación de papel, puesto que estos productos químicos pueden estimular el crecimiento de biopelículas sobre las fibras.

El aparato ilustrado en la figura 1 proporciona una sustancia inhibidora de biopelícula a una colección de microorganismos 1 unida a una superficie localizada en un emplazamiento indicado esquemáticamente como 2 en el dibujo. El emplazamiento puede ser, por ejemplo, un conducto que transporta agua o parte de una máquina para fabricar papel, y la superficie puede ser una superficie duradera o una superficie fungible, tal como se definió anteriormente en la presente. La sustancia inhibidora de biopelícula se aplica a la colección de microorganismos 1 introduciendo la sustancia inhibidora de biopelícula en un líquido 3, tal como agua, que está en comunicación con la colección de microorganismos 1. La sustancia inhibidora de biopelícula se forma mezclando *in situ* dos disoluciones, concretamente una disolución de oxidante, preferiblemente una disolución de hipoclorito, dentro de un depósito 4, y una disolución de fuente de amina, preferiblemente una disolución de sal de amonio, dentro de un depósito 6.

Tal como se muestra en la figura 1, se introduce agua, por ejemplo, agua del grifo, desde una fuente 8 por medio de un tubería de agua 10 a través de un par de líneas de ramificación 12, 14, conectadas en paralelo entre sí, hacia un mezclador 21 que alimenta una tubería de salida común 16 que llega hasta el líquido 3 en el emplazamiento 2. Cada una de las dos líneas de ramificación paralelas 12, 14 incluye un tubo de Venturi 18, 20 que presenta un puerto de entrada 18a, 20a, conectado a la respectiva línea de ramificación 12, 14, y un puerto de salida 18b, 20b, conectado al mezclador 21 que conecta con la línea de salida común 16 que conduce al líquido en comunicación con la colección de microorganismos. Cada uno de los tubos de Venturi 18, 20 incluye un tercer puerto 18c, 20c, que conduce al depósito 4, 6, de la respectiva disolución que se va a añadir al agua que fluye a través de la línea de salida 16.

Por tanto, los dos tubos de Venturi 18, 20, constituyen bombas de dosificación que inyectan de modo continuo y sincronizado la disolución de oxidante desde el depósito 4 y la disolución de fuente de amina desde el depósito 6, hacia el agua procedente de la fuente 8 en proporciones que están predeterminadas para la formación óptima de la sustancia inhibidora de biopelícula. Estos dos productos químicos se mezclan en el mezclador 21 y reaccionan entre sí en el mezclador 21 que alimenta la tubería de salida 16, de modo que el producto de la reacción, concretamente, la sustancia inhibidora de biopelícula producida por la reacción de estos dos productos químicos, se introduce en el líquido 3 a medida que es producida *in situ*.

Las dos líneas de ramificación 12, 14 para los dos tubos de Venturi 18, 20 incluyen válvulas de control 22, 24, que permiten controlar el caudal del agua a través de los dos tubos de Venturi 18, 20. Las líneas 26, 28 que conectan los dos depósitos 4, 6 con sus respectivos tubos de Venturi 18, 20 también incluyen válvulas, mostradas en 30, 32, para controlar la dosificación de los productos químicos hacia el agua que pasa a través de los tubos de Venturi. Estas últimas válvulas también permiten detener el suministro de productos al final de la introducción de la sustancia inhibidora de biopelícula, de modo que el flujo continuo de agua a través de las líneas de ramificación 12, 14, el mezclador 21 y la línea de salida 16 lavará cualquier residuo de estos productos químicos, o los productos de su descomposición, y así se evita la acumulación de los productos de la descomposición que pueden formarse al final de cada ciclo de producción de sustancia inhibidora de biopelícula en la línea de salida 16 o en el mezclador 21.

El control de las anteriores válvulas se realiza mediante un sistema de control, que se ilustra esquemática mediante el bloque 40. El pH de la sustancia inhibidora de biopelícula disminuye a medida que la sustancia inhibidora de biopelícula se descompone. Por tanto, la línea de salida 16 también incluye, y preferiblemente lo hace, un detector de pH 47 para detectar el pH de la sustancia inhibidora de biopelícula, y controlar el sistema de control 40 en respuesta a ello.

El sistema de control 40 también controla el suministro de agua desde la fuente 8 a través de una válvula eléctrica 48. El sistema de control 40 también puede controlar una alarma 50 u otro dispositivo de señalización. El sistema ilustrado también puede incluir un cronómetro 52 que puede preajustarse para fijar la cantidad de tiempo durante la cual la sustancia inhibidora de biopelícula se introduce a través de la línea de salida 16 hacia el agua en

comunicación con la colección de microorganismos, así como los intervalos de tiempo entre dichas introducciones de la sustancia inhibidora de biopelícula.

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

Preferiblemente, los dos tubos de Venturi 18, 20, y sus controles se diseñan para introducir de modo sincronizado los mismos volúmenes de disoluciones procedentes de las dos fuentes 4, 6, aunque las viscosidades de las dos disoluciones puedan ser diferentes. El sistema ilustrado funciona a una presión de agua predeterminada constante y a una proporción constante de dilución predeterminada de las dos disoluciones al agua que pasa a través de las líneas de ramificación 12, 14, a través de los dos tubos de Venturi 18, 20. Cada uno de estos parámetros puede controlarse como se describió anteriormente, de modo que las disoluciones procedentes de las dos fuentes 4, 6, se inyectan de modo simultáneo y sincronizado en las proporciones predeterminadas deseadas entre sí, y también con respecto al agua que fluye a través de los tubos de Venturi 18, 20 desde la fuente 8.

Tal como se indicó anteriormente, la disolución en el depósito 4 es una disolución oxidante, y la disolución dentro del depósito 6 es una disolución de fuente de amina. Preferiblemente, esta última es una disolución de una sal de amonio, preferiblemente bromuro de amonio o cloruro de amonio, o una mezcla de estos, lo más preferiblemente bromuro de amonio. La disolución oxidante es preferiblemente una disolución de hipoclorito de calcio o hipoclorito de sodio, lo más preferiblemente hipoclorito de sodio. Preferiblemente, la sustancia inhibidora de biopelícula es cloramina activada con bromuro.

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

La figura 2 ilustra otro aparato, construido y funcional para proporcionar una sustancia inhibidora de biopelícula según una realización preferida de la invención. El aparato mostrado en la figura 2 es similar al de la figura 1, y los números que indican elementos del sistema de la figura 2 son los mismos que en el sistema de la figura 1 y funcionan del mismo modo. La principal diferente entre los dos sistemas es que en el sistema de la figura 2, los tubos de Venturi 18, 20 son reemplazados por bombas pulsátiles  $P_1$ ,  $P_2$ . Las dos bombas pulsátiles  $P_1$ ,  $P_2$  también son controladas por el sistema de control 40 para dosificar de modo sincronizado los líquidos procedentes de los dos depósitos 4, 6, a través de las líneas de alimentación 26, 28, de una manera similar a la de los tubos de Venturi 18, 20, en el sistema descrito anteriormente con respecto a la figura 1, excepto que el líquido bombeado hacia fuera de las bombas  $P_1$  y  $P_2$  se mezcla con el agua en las líneas de ramificación 12, 14 en los mezcladores  $M_1$ ,  $M_2$  a medida que el agua en las líneas de ramificación 12, 14 fluye hacia el mezclador 21 y después hacia la línea de salida 16. Las bombas pulsátiles  $P_1$  y  $P_2$  pueden ser reemplazadas por otros tipos de bombas, tales como bombas peristálticas y similares.

La presente invención se entenderá mejor por medio de los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Formación de una biopelícula en un sistema modelo

Se evaluó en el laboratorio la formación de una biopelícula sobre láminas de acero inoxidable en presencia o en ausencia de un biocida oxidante o una sustancia inhibidora de biopelícula. El sistema de ensayo consistió en (a) tres matraces cerrados que contienen cada uno 20 l de medio rico en nutrientes (diluido en tres veces con respecto a su concentración de uso recomendada), (b) tres células cerradas que contienen láminas de acero inoxidable que cuelgan libremente, y (c) tres bombas de circulación idénticas, y cada bomba está conectada a través de tuberías de plástico a uno de los matraces y a una de las células. El sistema se colocó en una sala termostática a 35 °C.

Se añadió a cada uno de los matraces un inóculo que contenía un cultivo mixto de bacterias formadoras de limo que habían sido aisladas a partir de una máquina de papel. Se añadió un oxidante que contenía una mezcla de 5 ppm (expresados como  $Cl_2$  total) de bromoclorodimetilhidantoína (un biocida oxidante que es una fuente de HOBr y HOCl) (en lo sucesivo "halógenos mixtos") al primer matraz una vez diaria durante la duración del ensayo (4 días). Se añadió una sustancia inhibidora de biopelícula, concretamente cloramina activada con bromuro (en lo sucesivo "Fuzzicide BAC"), que también puede actuar como biocida cuando se aplica a microorganismos planctónicos, recién prepara como se describe en conexión con la figura 1 y según la patente de EE. UU. n.º 5.976.386 (2,5 ppm expresados como  $Cl_2$  total) al segundo matraz una vez diaria durante la duración del ensayo. El tercer matraz sirve como control para los dos matraces tratados con el biocida oxidante o la sustancia inhibidora de biopelícula. El biocida "Fuzzicide BAC" se produjo en un sistema de alimentación específico que consistía en dos bombas de alimentación pulsátiles de laboratorio capaces de introducir volúmenes pequeños (menores que 100  $\mu$ l) por minuto con una alta frecuencia de pulso. Se introdujo una disolución diluida de hipoclorito de sodio en agua desionizada (DI)

(aproximadamente 8000 ppm como cloro total) con una bomba, y se introdujo una disolución diluida de bromuro de amonio (12500 ppm) con la segunda bomba. Las dos disoluciones diluidas se mezclaron de modo sincronizado en una tubería de vidrio corta para formar una disolución de preinyección de sustancia inhibidora de biopelícula, usando un medidor de pH para controlar y comprobar la estabilidad de la sustancia inhibidora de biopelícula formada. La sustancia inhibidora de biopelícula se introdujo en el sistema de ensayo inmediatamente a medida que era producida. La disolución de preinyección de la sustancia inhibidora de biopelícula contenía 3500-4000 ppm como cloro total; el pH era de aproximadamente 9,5.

En los días 2 y 4, cada célula cerrada se abrió y se retiraron de forma aséptica 2 láminas de cada célula. Al mismo tiempo, también se tomaron muestras del medio en circulación. La toma de muestras se realizó después de introducir la dosis masiva diaria de biocida.

Cada muestra de medio se diluyó en 10 veces en serie en disolución salina estéril y se cultivó en placa sobre agar fundido. Cada lámina se enjuagó a fondo para retirar cualquier partícula adherida, se raspó de modo aséptico, y el material retirado por el raspado se dispersó cuantitativamente en disolución salina, se agitó en vórtice, se diluyó en serie en 10 veces y se cultivó en placa sobre agar fundido. Se realizaron los recuentos viables de microorganismos después de 48 h de incubación a 35 °C. Los recuentos viables de células en el medio se presentan como unidades formadoras de colonias ("colony forming units", cfu) por ml; los recuentos viables sobre la superficie de las láminas se presentan como cfu/cm<sup>2</sup>. Los resultados se tabulan en la tabla 1.

Después de dos días, los recuentos viables en las muestras de medio (es decir, microorganismos planctónicos) fueron similares en ambas muestras que habían sido expuestas al biocida oxidante o a la sustancia inhibidora de biopelícula, y los recuentos viables fueron solo ligeramente mayores en la muestra control. Se descubrió que una biopelícula significativa estaba empezando a crecer sobre la lámina control después de 2 días, y que una población más pequeña, pero significativa, estaba creciendo sobre las láminas tratadas con halógenos mixtos, mientras que las láminas tratadas con Fuzzicide BAC permanecían limpias. Después de cuatro días, la muestra de control de medio mostró un recuento constante de microorganismos planctónicos similar al recuento en el día 2, la muestra de medio tratado con los halógenos mixtos mostraba cierto control de los microorganismos planctónicos (una reducción en aproximadamente 10 veces en el recuento viable), y la muestra de medio tratado con Fuzzicide BAC mostró un control completo de los microorganismos planctónicos (dentro de los límites de detección). Con respecto al crecimiento sobre las láminas, después de 4 días, las láminas del ensayo control mostraron un pequeño aumento en el recuento viable de bacterias de biopelículas, comparado con los resultados en el día 2, y las láminas tratadas con halógenos mixtos mostraron un aumento en 3 veces en el recuento viable de bacterias de biopelículas, comparado con el día 2. Las láminas del sistema tratado con Fuzzicide BAC permanecieron limpias.

Tabla 1

Tipo de tratamiento	Recuentos viables después de 2 días		Recuentos viables después de 4 días	
	cfu/ml	cfu/cm <sup>2</sup>	cfu/ml	cfu/cm <sup>2</sup>
Halógenos mixtos (5 ppm expresados como Cl <sub>2</sub> )	9 × 10 <sup>6</sup>	27	1 × 10 <sup>6</sup>	95
Fuzzicide BAC (2,5 ppm expresados como Cl <sub>2</sub> )	1 × 10 <sup>6</sup>	<27*	<100*	<27*
Control	1,5 × 10 <sup>7</sup>	3645	1,3 × 10 <sup>7</sup>	4050
* Estos valores representan el límite de detección más bajo del equipo usado y, por tanto, se expresan como desigualdades (es posibles que los recuentos viable realmente fueran más bajos que los números indicados en la presente).				

Ejemplo 2: Control de la contaminación del agua residual

El agua residual tratada es trasladada mediante una tubería desde la planta de tratamiento de aguas residuales hasta un emplazamiento a 7 kilómetros. A lo largo de los años, se advirtió que las tuberías se atascaban y que el caudal de agua que atraviesa las tuberías disminuye. Se descubrió que el uso de una concentración muy alta de Cl<sub>2</sub> (introducción de hasta 50 ppm, es decir, la adición de NaOCl a un nivel de hasta 50 mg/l (calculado como Cl<sub>2</sub>)) no resultaba eficaz para mejorar la conductividad del agua en las tuberías. La limpieza mecánica (con raspadores, "pigging") de las tuberías producía una mejora significativa en la conductividad del agua inmediatamente después de la limpieza, pero esta mejora duraba solo unos pocos días, tras los cuales las tuberías volvían a alcanzar el nivel de atasco observado antes del raspado de las tuberías.

El uso de una sustancia inhibidora de película resultó eficaz para controlar la biopelícula. Antes de comenzar un tratamiento usando la presente invención, se determinó que el coeficiente de Hazen-Williams (HW) en la tubería era de aproximadamente 90 (el coeficiente de Hazen-Williams se emplea para expresar el flujo de agua a través de tuberías industriales). Se calcula usando la fórmula:

$$P = \frac{2340 \times B^{1,852} \times s}{C^{1,852} \times d^{4,870}}$$

en la que P es la disminución de la presión de fricción expresada en libras por pulgada cuadrada por 1000 pies de longitud de tubería, B es el caudal en barriles por hora, s es la gravedad específica del líquido, C = un factor de fricción (el coeficiente de Hazen-Williams), y d es el diámetro interno de la tubería en pulgadas. P y B se miden para una tubería concreta, s y d se tratan como constantes, y C se calcula. Los resultados se presentan como el coeficiente de Hazen-Williams. Cuanto más alto sea el número, mejor es el flujo a través de la tubería. La aplicación de 10 ppm de sustancia inhibidora de biopelícula frente a la cloramina activada con bromuro producida según la patente de EE. UU. n.º 5.976.386 ("Fuzzicide BAC"), expresados como cloro total, una vez diaria durante tres horas durante 6 días consecutivos aumentó el valor de HW de aproximadamente 90 a aproximadamente 104. Una combinación de "pigging" y dosificación de 10 ppm de Fuzzicide BAC (expresados como Cl<sub>2</sub> total) producido según la patente de EE. UU. n.º 5.976.386 introducidos una vez diaria durante tres horas aumentó el valor de HW de aproximadamente 104 a aproximadamente 116. Tras haber limpiado la tubería de esta manera, se descubrió que la introducción de 10 ppm (expresados como cloro total) de Fuzzicide BAC producido según la patente de EE. UU. n.º 5.976.386 durante tres horas una vez semanal, era eficaz a lo largo de un periodo de meses para mantener el coeficiente de HW a un valor constante, es decir, se inhibió la formación posterior de una biopelícula a pesar de los elevados recuentos viables de microorganismos en el agua residual. El coeficiente de HW se mantiene constante con la condición de que la sustancia inhibidora de biopelícula se forme de manera adecuada y se introduzca en la tubería. Se advirtió una disminución en el coeficiente de HW cuando la tubería no se trató de modo adecuado. Esto se corrigió aumentando la frecuencia de tratamiento durante unos cuantos días.

La sustancia inhibidora de biopelícula en este ejemplo se produjo como sigue: se construyó un sistema de alimentación que contenía una primera bomba de dosificación pulsátil, que se empleó para introducir hasta 300 litros/hora de disolución de hipoclorito de sodio (al 10-15% en p/v), y una segunda bomba de dosificación pulsátil, que se empleó para introducir hasta 150 litros/hora de bromuro de amonio (disolución al 38% en p/v). Se usó agua residual (hasta 10 m<sup>3</sup>/h) para diluir de forma apropiada ambos productos químicos. Un medidor de pH en línea controla el proceso de producción y la tasa de alimentación de hipoclorito para asegurar la producción de una sustancia inhibidora de biopelícula estable. La sustancia inhibidora de biopelícula se inyectó en la tubería de agua residual tratada a medida que era producida. La concentración de la disolución madre de sustancia inhibidora de biopelícula era de 3000-4000 ppm; el pH se mantuvo a 9,5-10.

### Ejemplo 3

El agua residual tratada se bombeó a través de varias tuberías de 10 m de longitud y 10,16 cm (4 pulgadas) de diámetro interno en una planta piloto. Una biopelícula había estado creciendo de modo natural sobre la superficie de las tuberías durante varios meses antes del inicio del tratamiento. La disminución de la presión a lo largo de cada tubería se controló en línea y se calcularon los coeficientes de HW promedio. Durante el ensayo, las tuberías control se dejaron sin tratar, y el resto de las tuberías se trataron con (a) la sustancia inhibidora de biopelícula Fuzzicide BAC, producida *in situ* según la invención de la patente de EE. UU. n.º 5.976.386, a 10 ppm expresados como cloro total, durante tres horas tres veces semanales, o (b) una cloramina producida a partir de cloruro de amonio, que es parte de la técnica anterior a la patente de EE. UU. n.º 5.976.386 y la patente de EE. UU. n.º 6.132.628, preformada como se describe en los ejemplos comparativos de la patente de EE. UU. n.º 6.132.628, aplicada a 10 ppm (expresados como cloro total), durante tres horas tres veces semanales.

La sustancia inhibidora de biopelícula en este ejemplo se produjo como sigue, usando un pequeño sistema de alimentación que se construyó específicamente para este ensayo. Se introdujeron hasta 4 l/h de hipoclorito de sodio y hasta 2 l/h de Fuzzicide BAC en hasta 56 l/h en las tuberías tratadas. La concentración de la disolución de preinyección de sustancia inhibidora de biopelícula era de aproximadamente 3600 ppm y el pH era de 9,2-9,6. Una gran parte de esta disolución madre se rechazó y solo se introdujo una pequeña porción, debido al elevado exceso de biocida que se formó con este sistema y la baja tasa de alimentación. Tal como se muestra en los resultados presentados en la tabla 2 y la figura 3, la formación adecuada de sustancia inhibidora de biopelícula resulta crucial para la estabilidad y la eficacia de la sustancia inhibidora de biopelícula; una preparación no adecuada conduce a la formación de un producto que es significativamente menos eficaz que Fuzzicide BAC. La sustancia inhibidora de biopelícula derivada del cloruro de amonio se produjo en un sistema de dosificación que se copió del sistema de alimentación de Fuzzicide BAC.

La tabla 2 y la figura 3 muestran la diferencia en HW entre las tuberías control (no tratadas) y las tuberías tratadas con Fuzzicide BAC.

Tabla 2

Diferencia en el valor de HW entre una tubería tratada con Fuzzicide BAC y una tubería control			
Día del ensayo	Diferencia de HW, Fuzzicide BAC-Control	Día del ensayo	Diferencia de HW, Fuzzicide BAC-Control
1*	10,12	29*	8,75

Diferencia en el valor de HW entre una tubería tratada con Fuzzicide BAC y una tubería control			
Día del ensayo	Diferencia de HW, Fuzzicide BAC-Control	Día del ensayo	Diferencia de HW, Fuzzicide BAC-Control
2	11,25	30	8,93
3	11,62	31	8,93
4	13,04	32	9,02
5*	12,35	33*	8,89
6	13,76	34	8,93
7	15,13	35	9,12
26##	6,11	36*	10,31
27*	6,67	37	9,96
28	7,13	38	13,97

\* = día en el que el agua en la tubería fue tratada con Fuzzicide BAC.  
## = Entre los días 7 y 26, el biocida no fue preparado de manera apropiada, lo cual provocó que no fuera eficaz y que se produjese una disminución significativa en la diferencia entre los valores de HW en las tuberías "tratadas" y no tratadas.

Tal como puede observarse en la tabla 2, el efecto de Fuzzicide BAC sobre las biopelículas no es necesariamente evidente en el día del tratamiento, pero puede observarse durante varios días en adelante (en forma de un aumento en el valor de HW en la tubería tratada frente a la no tratada). Las características del coeficiente de HW medido demuestran que el control de las células de la biopelícula no se mantiene mediante la destrucción de las células inmersas. Esto fue confirmado por la enumeración directa de las células de la biopelícula.

5

La tabla 3 muestra los resultados de una comparación de los efectos a largo plazo del tratamiento de una biopelícula con Fuzzicide BAC frente al tratamiento con cloramina. En el día 1 de esta parte del ensayo, las tuberías fueron tratadas durante 3 horas como Fuzzicide BAC o cloramina (cada uno a una concentración de 10 ppm, expresada como cloro total). La diferencia en el valor de HW entre las tuberías a las que se les introdujo la sustancia inhibidora de biopelícula y las tuberías control se controló en línea durante los siguientes 13 días. Se espera que después de cesar la introducción de la sustancia inhibidora de biopelícula, se reanude el crecimiento de la biopelícula en las tuberías tratadas, lo cual conduciría a una disminución en el coeficiente de HW en estas tuberías, mientras que se espera que el coeficiente de HW permanezca constante en la tubería control (no tratada). Se controlaron las diferencias entre los coeficientes de HW de las tuberías tratadas y la tubería control, y los resultados se presentan en la tabla 3 y la figura 4.

10

15

Tabla 3

Día del ensayo	Dif. HW: Fuzzicide BAC-Control	Dif. HW: Cloramina-Control
1	14,3	13,0
2	13,7	10,8
3	12,8	10,7
4	16,5	15,0
5	16,0	15,2
6	16,55	15,15
7	15,8	14,6
8	14,3	12,9
9	16,9	13,0
10	15,3	11,5
11	16,0	9,5
12	18,1	8,6
13	17,2	7,0
14	15,0	6,2
15	11,9	4,4
16	9,1	2,4

Día del ensayo	Dif. HW: Fuzzicide BAC-Control	Dif. HW: Cloramina-Control
17	7,3	0,8
18	7,2	0,7

Ejemplo 4: Tratamiento de una máquina de papel muy sucia según la presente invención

La patente de EE. UU. n.º 5.789.239 describe una composición y un proceso para evitar el limo y/o la eliminación de biopelículas en sistemas que portan agua. Según la patente, este objetivo se logra cuando se añade al agua al menos un componente de glicol y al menos un componente de enzima del grupo que consiste en carbohidratos, proteasas, lipasas y glicol proteasas. La patente presenta los resultados de ensayos de campo para demostrar cómo la invención descrita en ese documento puede aplicarse y la eficacia de los métodos descritos en ese documento. Uno de los parámetros usados en ese documento para controlar la eliminación de la biopelícula es la calidad del papel, que se mide en línea durante la producción de papel. Los resultados presentados en la patente de EE. UU. n.º 5.789.239 demuestran que la distribución estadística de manchas negras, manchas de color claro y agujeros controlados en el producto acabado no se diferencia de los resultados de calidad del papel en línea previos logrados con un tratamiento biocida convencional.

En el presente ejemplo, una máquina de papel muy sucia se trató con la sustancia inhibidora de biopelícula Fuzzicide BAC del inventor, producida *in situ* usando el aparato descrito en la patente de EE. UU. n.º 5.976.386 del inventor. La sustancia inhibidora de biopelícula se añadió a la máquina de papel de modo semicontinuo. La máquina de papel no recibió un tratamiento de hervido con cáusticos antes de comenzar el ensayo. Por el contrario, la suciedad en gran cantidad se mantuvo presente sobre las superficies de la máquina al inicio del ensayo.

Se construyó un sistema de alimentación específicamente diseñado para este ensayo. Una primera bomba pulsátil introdujo hasta 30 l/h de hipoclorito de sodio; una segunda bomba pulsátil introdujo hasta 13 l/h de bromuro de amonio. Se usó agua ablandada para diluir los productos químicos para evitar la formación de costras. Se usó el sistema de alimentación de Fuzzicide BAC para la dosificación en tres puntos de alimentación diferentes a lo largo de la máquina de papel. El proceso de producción de la sustancia inhibidora de biopelícula se controló mediante el control del pH de la sustancia inhibidora de biopelícula producida y ajustando el mezclado de los ingredientes si fue necesario. La disolución de preinyección de sustancia inhibidora de biopelícula contenía 3500-4000 ppm, expresados como cloro total, y el pH del producto fue de 9,6-9,8. La disolución de preinyección de sustancia inhibidora de biopelícula fue reproducible y estable durante la duración de este ensayo y durante meses de uso constante en esta máquina de papel.

Las manchas oscuras, las manchas de color claro y los agujeros en el papel acabado se registraron en línea y se presentan en la tabla 4 y la figura 5 (esta última muestra los agujeros y las manchas en un rollo de papel promedio, que pesa 20 toneladas). Los resultados se promedian para cada tipo de papel producido (algunos de los cuales se produjeron a lo largo de un periodo de más de 24 horas).

Tabla 4

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

MC = manchas de color claro; MO = manchas oscuras; A = agujeros; los tamaños se indican en micrómetros.  
\* Los resultados en el día 4 incluyen los datos del día 3. Los resultados en el día 11 incluyen los datos del día 10.

El aumento constante en agujeros y manchas a lo largo del tiempo desde el día del tratamiento es debido a las partículas de la biopelícula, de diferentes formas y colores, que se desprenden de la superficie de la máquina con frecuencia cada vez mayor como resultado del tratamiento con Fuzzicide BAC.

En el 12º día del ensayo, la máquina de papel se detuvo para su limpieza. Esta reveló superficies cubiertas por una

masa de partículas pequeñas de biopelícula que se habían desprendido del área principal de crecimiento de la biopelícula y que se habían dispersado en el agua de la máquina mientras las superficies de la máquina se estaban limpiando.

5 Después de la limpieza de la máquina de papel se reanudó la producción de papel, con la adición de la sustancia inhibidora de biopelícula Fuzzicide BAC al agua del proceso. La figura 6 muestra los registros de manchas oscuras, manchas de color claro y agujeros durante la producción de papel en este periodo. En comparación con la figura 5, la cantidad total de manchas y agujeros registrada siguió siendo relativamente pequeña a lo largo de este periodo, lo cual indica que la aplicación de la sustancia inhibidora de biopelícula evita la reformación de una biopelícula sobre las superficies de la máquina de papel.

#### 10 Ejemplo 5: Inactivación de catalasa

Se realizaron ensayos de laboratorio en matraces que contenían 100 ml de agua desionizada (DI) y usando catalasa (Merck, la enzima se diluyó en disolución salina hasta una concentración final de 26 unidades por ml) y sustancia inhibidora de biopelícula (Fuzzicide BAC o monoclóroamina (MCA)). Se añadió la sustancia inhibidora de biopelícula recién preparada a los matraces apropiados que contenían catalasa diluida a una tasa de alimentación predefinida. El contenido de los recipientes se mezcló durante 60 minutos a temperatura ambiente antes de la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hasta una concentración final de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 3,5 g/l). Después de la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, la mezcla se dejó en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente, tras lo cual se midieron los residuos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en cada matraz según el ensayo de la cubeta del Dr. Lange LCW 058, midiéndose con LASA 20 (basado en Jander/Blasius, Lehrbuch der Analytischen und Preparative Anorganischen Chemie, según se describe en the Handbook of Photometrical Operation Analysis (octubre de 1997)). Los resultados, que se expresan y se presenta como Cl<sub>2</sub> total, se resumen en la tabla 5. Los residuos de Fuzzicide BAC y MCA se midieron con un colorímetro de bolsillo Hach.

Tabla 5

Sustancia inhibidora de biopelícula (SIB)	Concentración de SIB (ppm, como cloro total)	Catalasa, unidades/ml	Concentración de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> inicial, % g/l	Concentración de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual, % de 3,5% g/l
NH <sub>4</sub> Br + NaOCl	8,1	26	3,5	21,4
NH <sub>4</sub> Br + NaOCl	60	26	3,5	100
NH <sub>4</sub> Br + NaOCl	140	26	3,5	100
NH <sub>4</sub> Cl + NaOCl	6,7	26	3,5	6,8
NH <sub>4</sub> Cl + NaOCl	58	26	3,5	97,1
NH <sub>4</sub> Cl + NaOCl	128	26	3,5	99,4
NH <sub>4</sub> Br + NaOCl	60	0	3,5	100
Ninguno	0	26	3,5	aprox. 0
Ninguno	0	0	3,5	100

Los resultados demuestran (1) que la enzima es muy activa para degradar el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (2) que ni la cloramina ni Fuzzicide BAC oxidan el peróxido de hidrógeno, y (3) que la catalasa fue completamente inactivada por la cloramina y por Fuzzicide BAC solo a una dosificación alta (aproximadamente 60 ppm o más como Cl<sub>2</sub> total), que es mucho mayor que el nivel de alimentación que, tal como se ilustra en los ejemplos previos, se usa para inhibir el potencial para el desarrollo de biopelículas de colecciones de microorganismos e, indirectamente, produce la disgregación de las biopelículas. A un nivel de dosificación de 10 ppm y menos (expresado como cloro total), las sustancias inhibidoras de biopelícula del inventor inactivan la catalasa en un grado insignificante, o nulo.

30 La MCA y Fuzzicide BAC se prepararon en el laboratorio usando procedimientos similares a los descritos anteriormente para los ensayos de campo. El hipoclorito de sodio se diluyó en agua DI hasta una concentración final de 6000 ppm expresada como cloro total. Se preparó una disolución de bromuro de amonio (equimolar a 1,1 moles de la disolución de hipoclorito de sodio diluida, 10% de exceso sobre una base molar) y la disolución de cloruro de amonio (equimolar a 1,1 moles de la disolución de hipoclorito diluida, 10% de exceso sobre una base molar). El hipoclorito diluido (50 ml) se añadió gota a gota a 50 ml de la sal de amonio apropiada mientras se mide el pH constantemente. La concentración de sustancia inhibidora de biopelícula en la disolución madre producida se midió inmediatamente, y la sustancia inhibidora de biopelícula al nivel de alimentación apropiado se añadió inmediatamente a los matraces de ensayo.

40 En realidad, el MCA y Fuzzicide BAC no fueron eficaces para desactivar las enzimas que degradan el peróxido cuando se administran a un nivel de tasa de alimentación optimizado para inhibir el desarrollo de biopelículas a un coste razonable. Así, el modo de acción de estas sustancias inhibidoras de biopelícula contra la enzima que degrada el peróxido catalasa debe actuar según un mecanismo distinto de la inactivación directa de las enzimas. El presente ejemplo demuestra que, a diferencia de HOCl y HOBr, que reaccionan con facilidad con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MCA y Fuzzicide BAC

no oxidan el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Esta propiedad permite usar la MCA y Fuzzicide BAC como sustancias inhibidoras de biopelícula en presencia de altas concentraciones de fondo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> o en mezclas que contienen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A diferencia de los biocidas oxidantes que se han usado en la técnica para evitar el crecimiento de biopelículas matando a los microorganismos inmersos en la biopelícula, la MCA y, en una realización especialmente preferida de la presente invención, Fuzzicide BAC, pueden usarse en presencia o en combinación con otras enzimas que pueden añadirse, para diversos propósitos, a un medio de un proceso, en especial un medio de un proceso acuoso.

#### Ejemplo 6: Ensayo de campo en una planta destintadora

Un sistema de destintado ha venido usando 7-10 kg de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por tonelada de residuos de papel. Los intentos previos para controlar la degradación enzimática del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> usando biocidas convencionales, tales como glutaraldehído, no produjeron resultados eficientes desde el punto de vista económico en este sistema. Un sistema de destintado paralelo en la misma planta, que utiliza un proceso de destintado similar de los residuos de papel procedentes de la misma fuente, fue tratado con éxito con una formulación química del mercado que contenía glutaraldehído: la tasa de consumo promedio de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en este proceso de destintado se redujo a aproximadamente 4 kg de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/tonelada de residuos de papel. Las mediciones realizadas antes de iniciar el ensayo con la tecnología de Fuzzicide BAC demostraron que estaba presente una elevada carga microbiana en diversas partes de la planta de destintado, lo cual indica una acumulación espesa de limo. A pesar de la dosificación inicial alta de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, se descubrieron residuos insignificantes de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en diversos puntos a lo largo del paso del flujo del sistema.

Después se introdujo de modo continuo Fuzzicide BAC, producido *in situ* con un sistema de producción/alimentación, como se describe en la patente de EE. UU. n.º 5.976.386, al agua del proceso durante un periodo de 850 minutos. La sustancia inhibidora de biopelícula se produjo *in situ* en un sistema de dosificación diseñado específicamente similar al sistema de dosificación descrito en el ejemplo 4. El pH de la reacción se mantuvo a 9,8-10,0. El proceso de producción se controló para asegurar una dosificación sincronizada de los dos productos químicos, un mezclado continuo a la proporción molar predeterminada, y una producción reproducible de una disolución madre de sustancia inhibidora de película estable durante la duración del ensayo y más allá. La tasa de dosificación inicial de Fuzzicide BAC fue de 170 g/toneladas, expresada como Cl<sub>2</sub> total. Después de 850 minutos, la tasa de dosificación se redujo a 85 g/toneladas, expresada como Cl<sub>2</sub> total, mediante la introducción de modo semicontinuo de la sustancia inhibidora de biopelícula. Se controlaron diversos parámetros durante el inicio del ensayo: se midió la sustancia inhibidora de biopelícula residual (usando un calorímetro de bolsillo Hach, Cl<sub>2</sub> total, basándose en el método DPD adaptado de Standard Methods for Examination of Waste and Waste Water). Se midió el peróxido de hidrógeno residual usando LASA 20 con el método de LCW 085, basado en el método de Jander/Blasius, Lehrbuch der Analytischen und Preparative Anorganischen Chemie, tal como se describe en the Handbook of Photometrical Operation Analysis, del Dr. Lange para LASA 20, octubre de 1997 (en casos de concentración alta), o tiras de ensayo Merck (0,5-25 ppm). Cuando fue necesario, las muestras se diluyeron con agua DI.

Se midió la actividad de las enzimas que degradan el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en el agua del proceso según el siguiente procedimiento: una disolución del mercado de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se diluyó con agua DI hasta una concentración final de 100 g/l de agua (al 10%). Se añadió 1 ml de la disolución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diluida a 9 ml de una muestra tomada del agua del proceso de destintado tratada para formar una tasa de alimentación final de 10 g/l de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Las muestras reunidas se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos, tras lo cual se midió el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> residual. El peróxido de hidrógeno diluido en agua DI actuó como control. La concentración residual de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resultó baja cuando las enzimas degradan de modo eficaz el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, mientras que la concentración residual de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resultó alta y cercana a la tasa de alimentación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a medida que las enzimas que degradan el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se convierten en menos eficaces o a medida que la concentración de enzimas en el agua del proceso disminuye. En la tabla 6 se presentan los resultados en porcentaje del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> remanente en el agua del proceso después del tiempo de contacto definido. Las mediciones de adenosina trifosfato (ATP) en la tabla 6 se basan en el siguiente proceso: durante el cambio desde ATP a adenosina monofosfato (AMP) en presencia de luciferina y luciferasa, una cantidad de luz definida es emitida por molécula de ATP. Esta luz emitida se mide mediante un fotómetro. Los resultados se indican en términos relativos y, por tanto, son relativos y no absolutos (RLU = "relative light unit", unidad de luz relativa). Los valores pueden corregirse con la actividad microbiana, en el sentido de que, para recuentos viables elevados, se obtiene una elevada medición de ATP, y viceversa.

Tabla 6

Tiempo, min.	Reducción en la actividad catalasa, como % de la concentración de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> inicial	ATP (RLU)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual, ppm	Fuzzicide BAC residual, ppm como cloro total
0	37,6	132276	0	0
100	17,8	6340	aprox. 5	0,7
240	54,7	2861	aprox. 5	1,45
850	92	535	>25	1,4

Tiempo, min.	Reducción en la actividad catalasa, como % de la concentración de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> inicial	ATP (RLU)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual, ppm	Fuzzicide BAC residual, ppm como cloro total
1500	135,1	3568	>250	0,7

La disminución brusca en el ATP después del inicio del ensayo demuestra un control eficaz de los microorganismos planctónicos (células de vida libre) en el pulpador. Tal como se esperaba basándose en las patentes de EE. UU. del inventor mencionadas anteriormente, el nivel de ATP continuó disminuyendo a lo largo del periodo de dosificación continua, incluso aunque los residuos medidos de Fuzzicide BAC no fueron muy altos. El aumento aparente en la actividad catalasa entre 0 y 100 minutos es debido a la degradación de la biopelícula y la consiguiente liberación de material desde la biopelícula, que incluye microorganismos, catalasa y otras enzimas que degradan el peróxido, hacia el agua del proceso.

Después de 850 minutos, cuando se detectan residuos mensurables de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en muestras tomadas del pulpador, se cambió el régimen de dosificación: la alimentación continua se reemplazó por una alimentación semicontinua, y la tasa de alimentación total se redujo al 50% de su valor inicial, hasta 85 g (expresados como Cl<sub>2</sub> total) por tonelada de pulpa. Tal como se esperaba, el valor de ATP aumentó, lo cual refleja un aumento en el recuento de microorganismos planctónicos, con una disminución en la tasa de alimentación y los residuos de Cl<sub>2</sub> total.

A pesar del aumento en ATP y en los recuentos viables, la actividad de las enzimas que degradan el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> disminuyó a medida que el tratamiento avanzaba, y fue acompañada por un aumento en la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> disponible medido en el agua del proceso. Después de 1500 minutos, la actividad de las enzimas que degradan el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> parece haber sido barrida, aunque la tasa de alimentación del biocida disminuyó a los 850 minutos, y las concentraciones de ATP aumentaron entre los 850 y 1500 minutos.

Después de aproximadamente 48 horas de dosificación semicontinua del biocida, la tasa de alimentación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> necesaria para mantener un punto ajustado de blanqueado se redujo a aproximadamente 4 kg/tonelada. Después de unos cuantos días, se descubrió que la tasa de alimentación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> puede reducirse aún más hasta aproximadamente 2,2 kg/toneladas y todavía los objetivos de blanqueado y destintado definidos pueden mantenerse a esta tasa de alimentación reducida.

#### Ejemplo 7

##### Eficacia de Fuzzicide BAC y recuentos viables

Durante el ensayo de campo con Fuzzicide BAC en una máquina de papel usada para producir papel para imprenta y para máquinas de escribir, se controlaron los recuentos viables de microorganismos, principalmente bacterias, en el silo de agua blanca ("white-water", ww) y en la arqueta de la máquina (Marqueta). Se extrajeron muestras del agua del proceso e inmediatamente se inactivaron con tiosulfato de sodio para degradar cualquier residuo de la sustancia inhibidora de biopelícula. Después las muestras se diluyeron en serie en diez veces en un medio de dilución de disolución salina Trypton (DIFCO). Las muestras diluidas se cultivaron en agar fundido R2A (en lo sucesivo = "recuento total") y en agar de recuento de placas fundido que contenía un elevado exceso de glucosa (en lo sucesivo, "formadores de limo"). El agar se solidificó a temperatura ambiente, y las placas se incubaron a 35 °C durante 48 h. Se contaron las células viables y los resultados se presentan en la siguiente tabla 7 y en la figura 7. Se advirtieron dos periodos de tratamiento diferentes: el periodo de limpieza de la biosuciedad, durante el cual el tratamiento con la sustancia inhibidora de biopelícula provocó la disgregación de la biopelícula existente (véase también el ejemplo 4), y el periodo de funcionamiento normal después del periodo de limpieza, cuando la máquina de papel funciona de modo normal y la aplicación de la sustancia inhibidora de biopelícula se emplea para mantener un funcionamiento adecuado de la máquina de papel (comparar con la figura 6).

La tabla 7 y la figura 7 demuestran que, durante el periodo de limpieza inicial, los recuentos viables en las muestras del agua del proceso tomadas del silo contenían 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> células viables por ml, independientemente de que estuviesen presentes residuos de la sustancia inhibidora de biopelícula Fuzzicide BAC en concentraciones altas o bajas. Casi todas las muestras del silo contenían un número significativo de colonias, que crecieron en un medio con un alto contenido en glucosa. Se observó un fenómeno similar en muestras tomadas de la Marqueta (los resultados no se muestran), que muestran un número aún mayor de recuentos totales y de células que crecen en presencia de un alto contenido en glucosa.

Tabla 7

Día del ensayo	Silo/Cl <sub>2</sub> residual (ppm)	Silo/formadores de limo (cfu)	Silo/recuento total (cfu)
1	5,85	1,0 × 10 <sup>1</sup>	1 × 10 <sup>0</sup>
2	6,3	5,92 × 10 <sup>3</sup>	5,68 × 10 <sup>4</sup>
3	1,98	2,0 × 10 <sup>2</sup>	4,8 × 10 <sup>4</sup>

Día del ensayo	Silo/Cl <sub>2</sub> residual (ppm)	Silo/formadores de limo (cfu)	Silo/recuento total (cfu)
4	2,64	1,0 × 10 <sup>0</sup>	7,6 × 10 <sup>3</sup>
6	2,18	1,2 × 10 <sup>2</sup>	3,8 × 10 <sup>3</sup>
7	3,2	1,0 × 10 <sup>0</sup>	4,0 × 10 <sup>3</sup>
8	4	4,0 × 10 <sup>1</sup>	1,68 × 10 <sup>3</sup>
9	5,05	2,2 × 10 <sup>2</sup>	5,0 × 10 <sup>3</sup>
10	5,1	1,0 × 10 <sup>0</sup>	1,18 × 10 <sup>3</sup>
13	2,72	1,0 × 10 <sup>1</sup>	2,4 × 10 <sup>3</sup>

Tal como se muestra en la tabla 8, tras haber limpiado la máquina de papel, se descubrió una reducción significativa en el recuento total en las muestras de agua.

Tabla 8

Día del ensayo	Silo/Cl <sub>2</sub> residual (ppm)	Silo/formadores de limo (cfu)	Silo/recuento total (cfu)
16	2,94	1,0 × 10 <sup>0</sup>	2,0 × 10 <sup>2</sup>
17	3,08	1,0 × 10 <sup>0</sup>	6,0 × 10 <sup>1</sup>
20	2,56	1,0 × 10 <sup>0</sup>	3,0 × 10 <sup>2</sup>
21	2,26	1,0 × 10 <sup>0</sup>	7,5 × 10 <sup>2</sup>
24	2,2	1,0 × 10 <sup>0</sup>	1,0 × 10 <sup>2</sup>
27	3,62	1,0 × 10 <sup>0</sup>	1,1 × 10 <sup>2</sup>

- Tomados conjuntamente, estos resultados indican que (a) cuando la máquina de papel presentaba una suciedad importante, muchas, sino todas las células viables, incluyendo las que están inmersas en la biopelícula, crecen con facilidad en un medio con un alto contenido en glucosa, lo cual indica la presencia de enzimas capaces de degradar la glucosa de modo eficaz y rápido, mientras que (b) en una máquina limpia tratada con Fuzzicide BAC, las células viables no pueden crecer en un medio rico en glucosa, lo cual indica que estas células no contienen enzimas capaces de degradar de modo eficaz y rápido la glucosa a una concentración alta, independientemente de que los recuentos totales de células viables en el medio R2A fueron altos o bajos. Estos resultados pueden compararse con las figuras 3 y 4, que también demuestran que el tratamiento con la sustancia inhibidora de película según la presente invención provoca la disgregación de la biopelícula en máquinas con suciedad biológica y evita la reformación de biopelículas en máquinas limpias.

## Ejemplo 8

- 15 Efecto de Fuzzicide BAC sobre la eficacia de la fabricación de papel

En una máquina de fabricación de papel se introdujo Fuzzicide BAC de modo intermitente en diversas partes de la máquina. Se observó una pérdida rápida de Fuzzicide BAC residual en la máquina, produciéndose la principal pérdida de Fuzzicide BAC residual en los pulpadores, específicamente en el pulpador de papel dañado seco (el pulpador de papel dañado seco recibe el papel producido por la máquina, pero que tiene una calidad inaceptable para el envío a los consumidores; este papel se reutiliza en la máquina de fabricación de papel). Se observó que, en los pulpadores, a la pérdida de biocida residual le acompaña un brusco aumento en el ATP. Las investigaciones iniciales sugieren que estas observaciones son atribuibles a la desinfección subóptima en la prensa de tamaño, en donde está presente almidón que se emplea para revestir el papel y que proporciona un medio adecuado para sostener el crecimiento de microorganismos.

- 25 Al mismo tiempo que se observa la pérdida de Fuzzicide BAC residual y el aumento en ATP en el pulpador, también se observa un aumento brusco en el ATP en la arqueta de la máquina y la caja de entrada, así como en el agua limpia.

Aunque el ATP en los pulpadores sigue siendo alto, los resultados en el agua blanca, que es el agua reciclada de la máquina, siguen estando dentro de parámetros aceptables.

- 30 Para determinar si la pérdida de Fuzzicide BAC residual es debida a problemas en la química de acabado en húmedo, la cantidad de almidón catiónico que se introduce en la arqueta de la máquina se redujo en 50% y 11 horas después, la dosificación de poli(cloruro de amonio) ("polyaluminium chloride", PAC), un floculante que ayuda a la aglomeración de las fibras y partículas en la caja de entrada, se aumentó en 20%. El papel dañado seco se siguió usando durante este periodo. El efecto sobre la retención de carbonato de calcio total y la retención de carbonato de

calcio precipitado ("precipitated calcium carbonate", PCC) (ceniza) fueron similares. Los cambios en la tasa de alimentación del almidón catiónico y PAC no afectan a la retención significativamente.

5 Cinco horas después de reducir la cantidad de almidón catiónico introducida en la arqueta de la máquina, la tasa de dosificación de Fuzzicide BAC aumentó en 65%. Se advirtió una disminución brusca en la concentración de material suspendido y PCC en el agua blanca dos horas después, seguido de una mejora constante en la retención durante las siguientes 17 horas. La mejora en la retención se produjo en paralelo a un aumento constante y lento en el cloro residual.

10 Los expertos en la técnica apreciarán que la presente invención no se limita a lo que se ha mostrado y descrito en concreto anteriormente. Por el contrario, el alcance de la presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Un método para inhibir la producción de una enzima por una colección de microorganismos unida a una superficie en un entorno de agua industrial, comprendiendo dicho método aplicar de modo intermitente al agua en comunicación con dicha colección de microorganismos, una sustancia que inhibe la producción de una enzima por dicha colección de microorganismos, en el que dicha sustancia es una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno (HPDE) y es una catalasa, y dicha sustancia no inactiva dicha enzima, en el que dicha sustancia es cloramina activada con bromuro formada mezclando un oxidante de hipoclorito y bromuro de amonio, y en el que dicha sustancia se aplica a dicha agua en dicho entorno de agua industrial periódicamente con un ciclo de trabajo menor que 1:2, en el que el ciclo de trabajo significa la proporción entre (a) la cantidad de tiempo durante la cual la sustancia se administra a la colección de microorganismos, y (b) la cantidad de tiempo durante la cual la sustancia no se administra, y en el que dicha aplicación de dicha sustancia incluye generar dicha sustancia en tiempo real mediante la producción de una dilución predeterminada de un oxidante de hipoclorito, la producción de una dilución predeterminada de una sal de amonio, la dosificación de modo sincronizado de las dos diluciones en un mezclador para mezclarlas continuamente en su interior según una proporción predeterminada para producir la sustancia que tiene una cantidad eficaz de reproducibilidad, estabilidad y eficacia *in situ* en el mezclador, y en el que dicha sustancia se aplica a dicha agua a una dosificación de 10 ppm o menor, expresada como cloro total.
- 2.- Un método según la reivindicación 1, en el que dicha superficie es una superficie duradera.
- 3.- Un método según la reivindicación 1, en el que dicha superficie es una superficie fungible.
- 4.- Un método según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que dicha sustancia no erradica completamente dicha colección de microorganismos.
- 5.- Un método según la reivindicación 1, en el que dicho oxidante de hipoclorito se selecciona del grupo que consiste en hipoclorito de sodio e hipoclorito de calcio.
- 6.- Un método según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que dicha aplicación intermitente comprende administrar de modo intermitente dicha sustancia durante un periodo de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 4 horas en cada aplicación intermitente.

FIG. 1

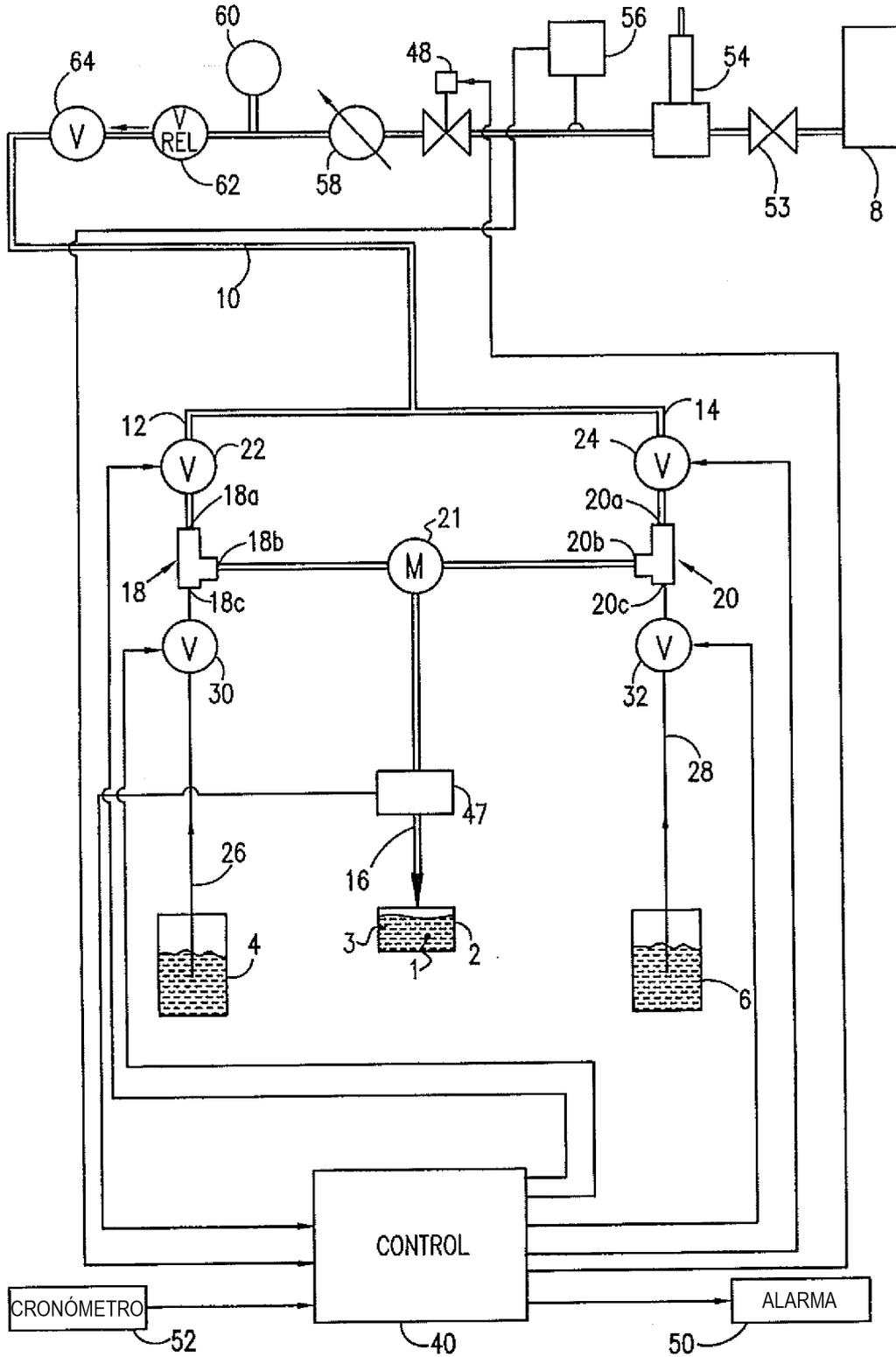
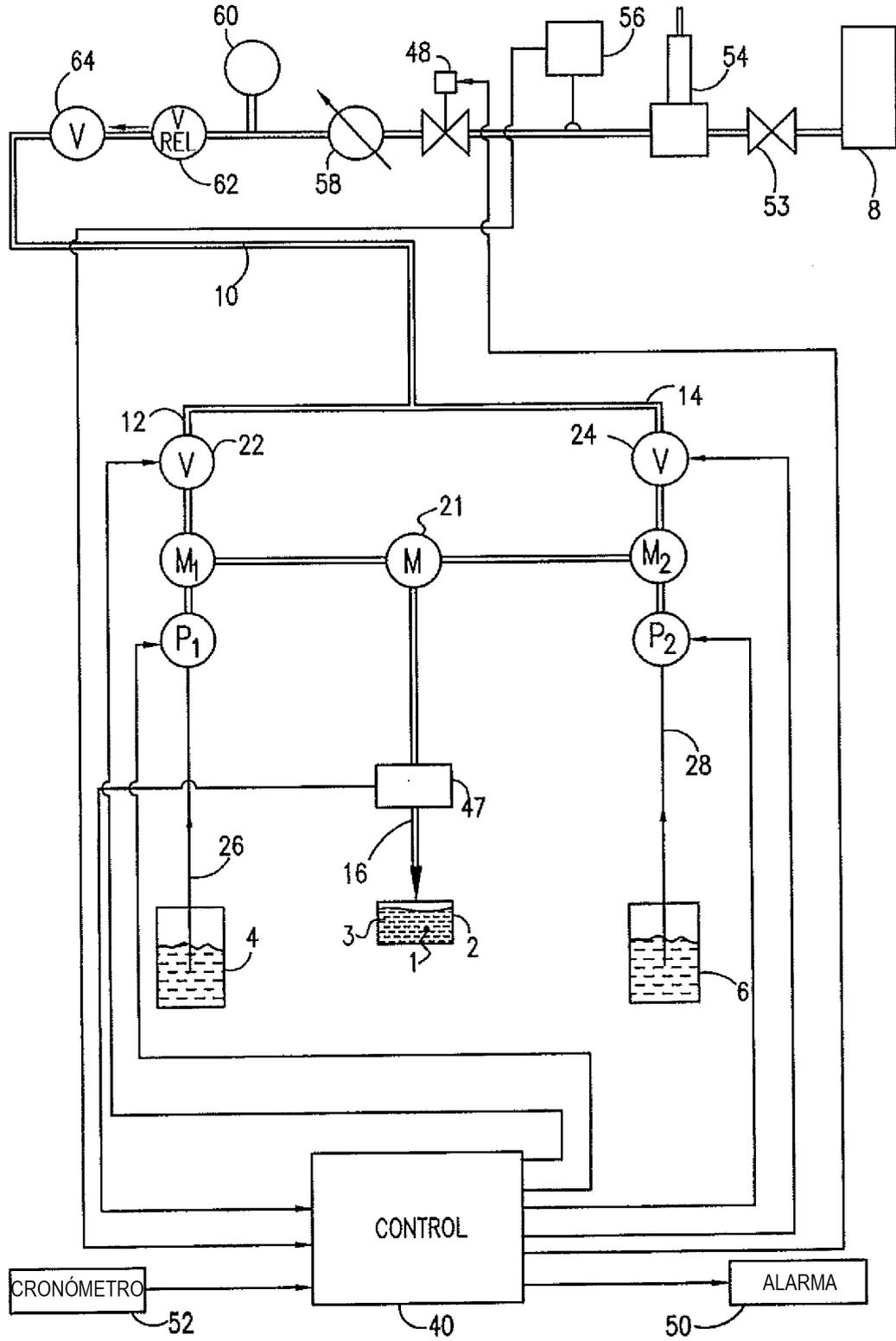
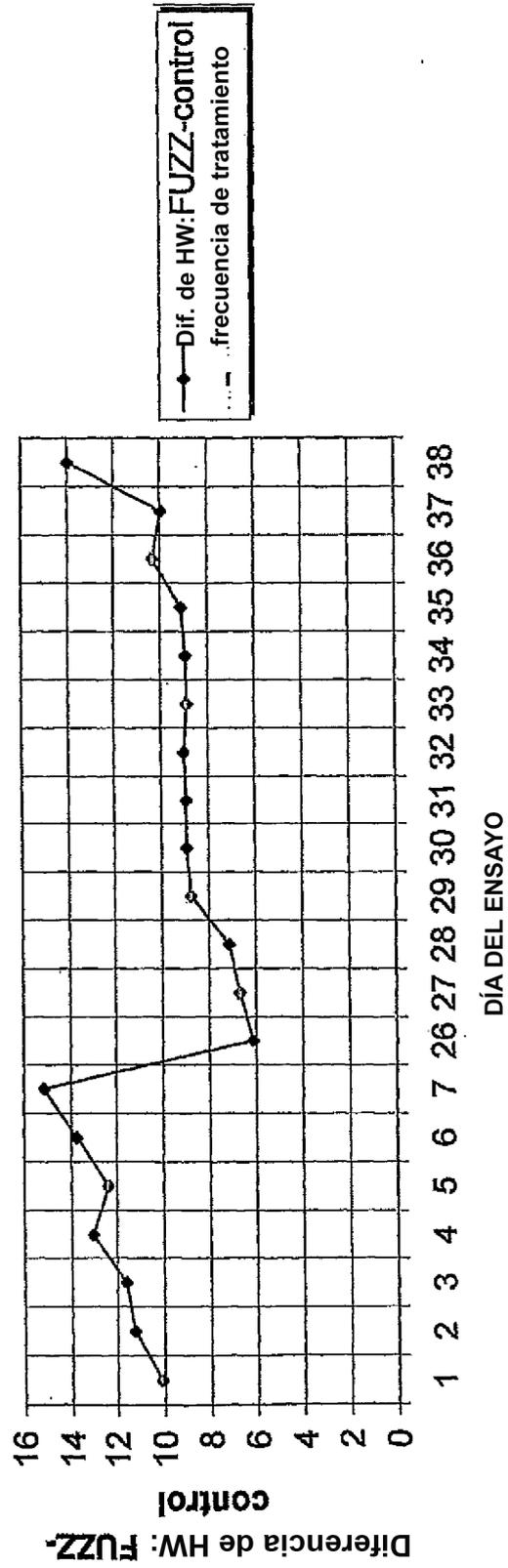


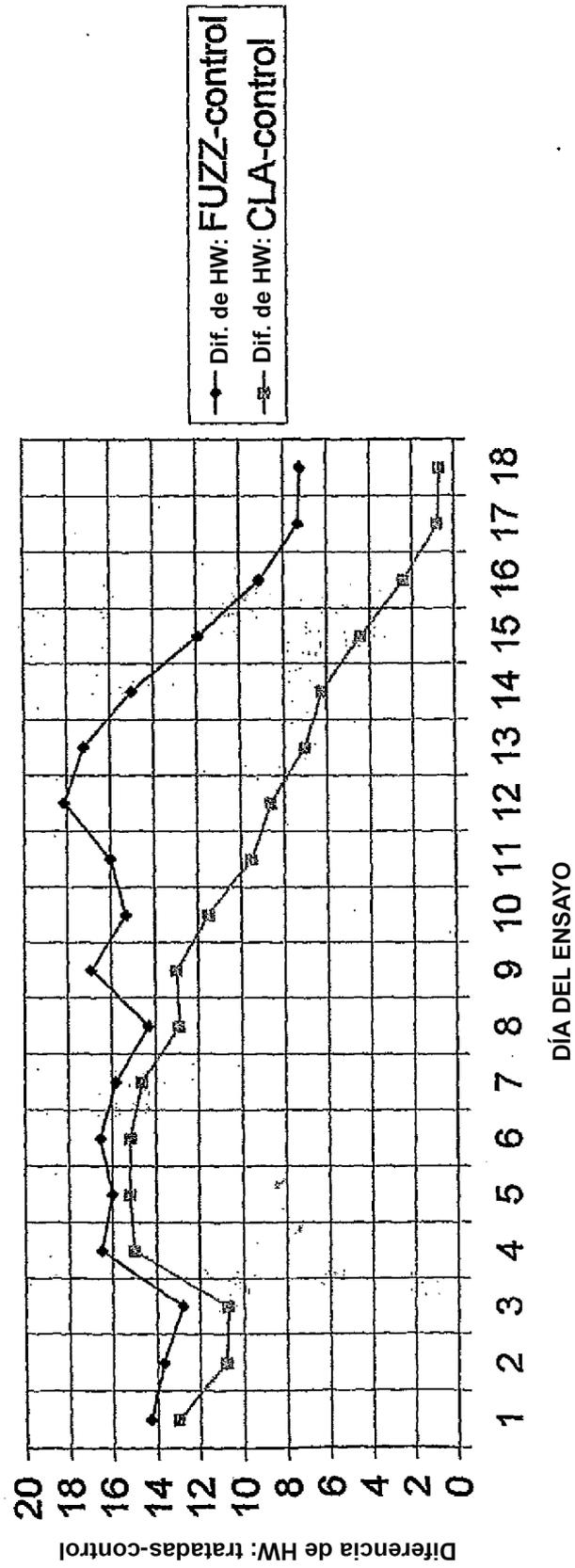
FIG. 2



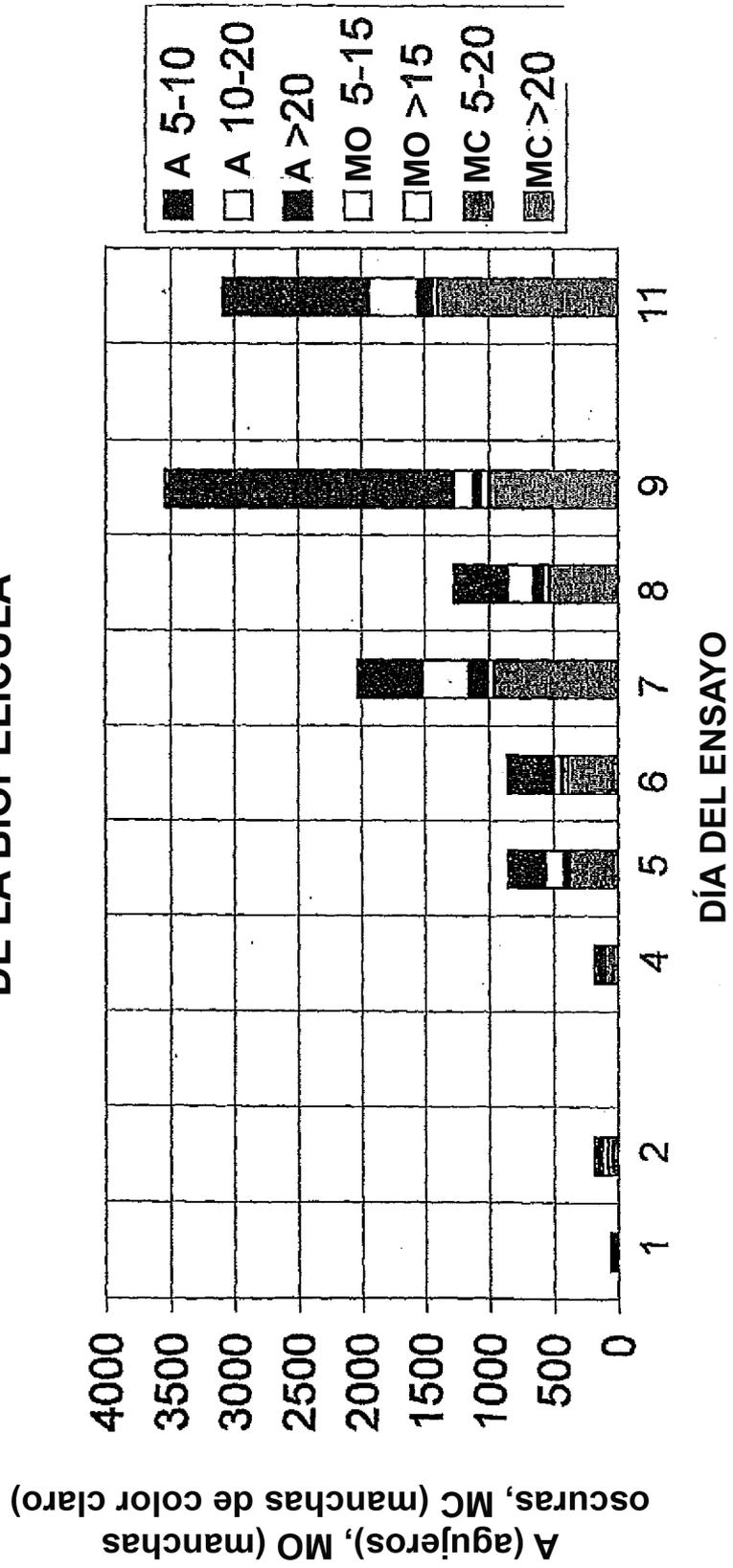
**FIG. 3**  
**DIFERENCIA DE HW: FUZZ.-CONTROL**



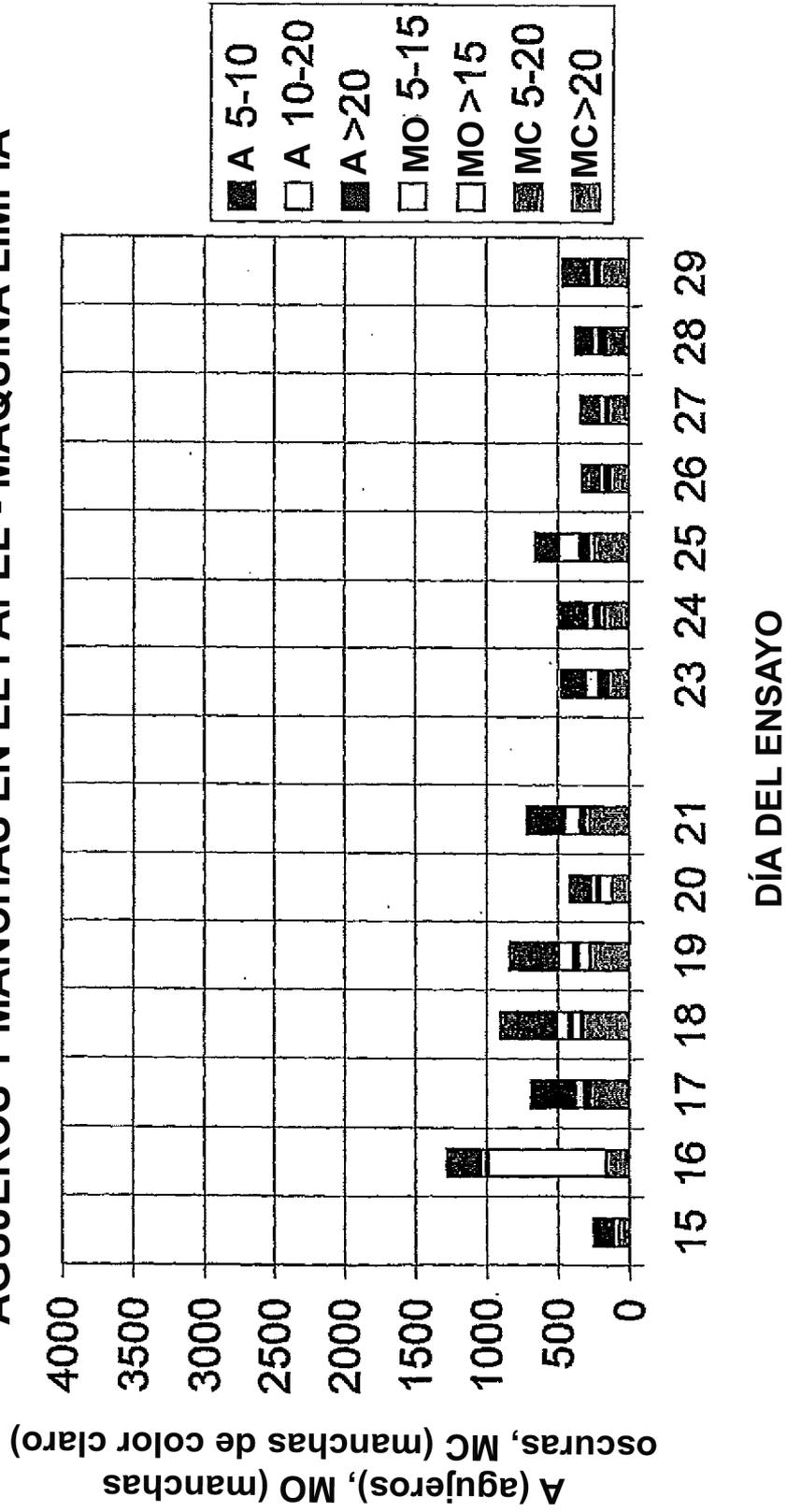
**FIG. 4**  
**DIFERENCIA DE HW: CURVAS DE DESCOMPOSICIÓN**



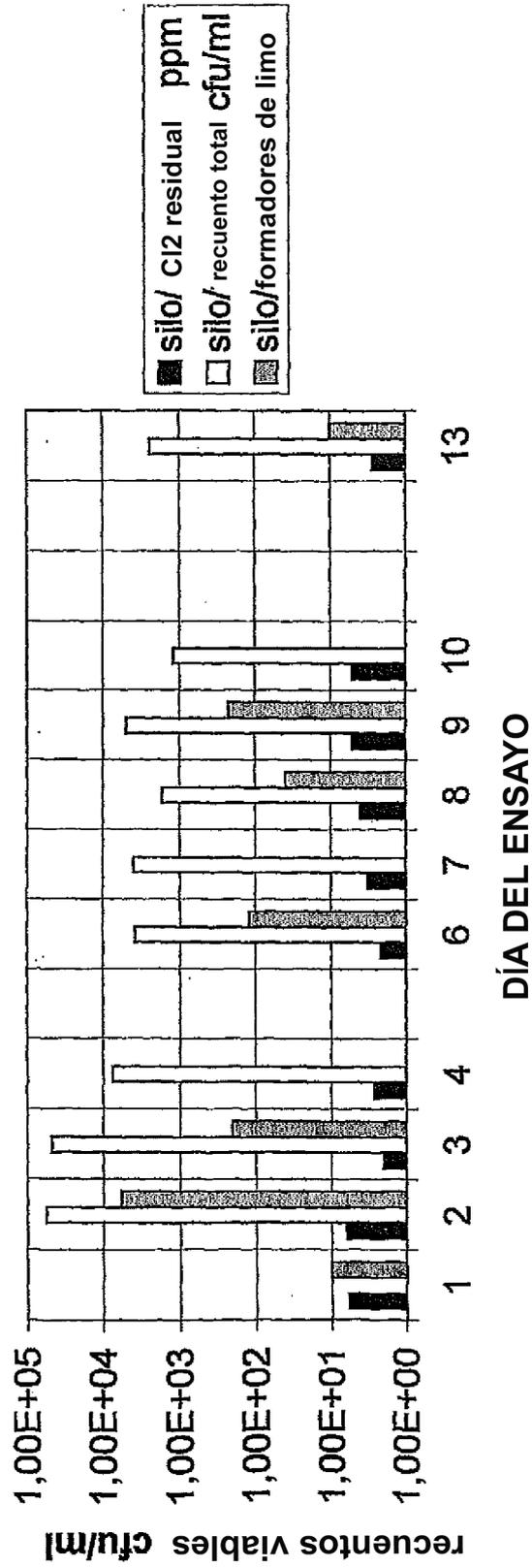
**FIG. 5**  
**AGUJEROS Y MANCHAS EN EL PAPEL - RETIRADA**  
**DE LA BIOPELÍCULA**



**FIG. 6**  
**AGUJEROS Y MANCHAS EN EL PAPEL - MÁQUINA LIMPIA**



**FIG. 7**  
**RETIRADA DE LA SUCIEDAD INICIAL**



**FIG. 8**  
**Retención/alimentación de la sustancia**  
**inhibidora de biopelícula**

