

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 805 369**

51 Int. Cl.:

C02F 1/50	(2006.01)
A01N 25/30	(2006.01)
A01N 33/12	(2006.01)
A01N 25/04	(2006.01)
A01N 37/30	(2006.01)
A01N 37/34	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.03.2014 PCT/FI2014/050216**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2014 WO14154946**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.03.2014 E 14720169 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2020 EP 2978311**

54 Título: **Formulación de biocida y método para tratar el agua**

30 Prioridad:

25.03.2013 FI 20135287

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.02.2021

73 Titular/es:

**KEMIRA OYJ (100.0%)
Energiakatu 4
00180 Helsinki, FI**

72 Inventor/es:

**KOLARI, MARKO;
RAUTIAINEN, JUKKA;
HENTZE, HANS-PETER;
ALAKOMI, HANNA-LEENA y
FORSSELL, PIRKKO**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 805 369 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

Formulación de biocida y método para tratar el agua

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una formulación de biocida que comprende un biocida en una micela. Más particularmente, la micela comprende un copolímero de bloque y un compuesto estabilizador de amonio cuaternario. La presente invención también se refiere a un método para controlar biopelículas mediante la eliminación y/o prevención de microorganismos en un entorno acuoso.

Antecedentes

10 Los procesos con uso intensivo de agua, tales como la fabricación de papel y los procesos de agua de enfriamiento, ofrecen un entorno fértil para el crecimiento microbiológico. Por lo tanto, los tratamientos biocidas son a menudo necesarios en diversos procesos con uso intensivo de agua. Una revisión de la microbiología de las máquinas de papel y los biocidas comunes se presenta en Capítulo 6: Paper machine microbiology, p. 181-198, por Marko Kolari, en Handbook of Papermaking chemistry 2007, Raimo Alen (Ed.), Finnish Paper Engineers' Association, Helsinki, Finlandia. El objetivo de los tratamientos biocidas en la industria no siempre es una esterilización completa del agua
15 de proceso, sino una contribución para encontrar un equilibrio estable y dinámico para mantener el crecimiento microbiano en un nivel aceptable de manera rentable. La técnica anterior se refiere a una amplia variedad de biocidas en diferentes tipos de aplicaciones dentro de las industrias con uso intensivo de agua, siendo la industria del papel una de las mayores. Las técnicas de uso común se describen, por ejemplo, en US7285224 y US6429181. Se ha estimado que una parte de las aplicaciones de biocidas dentro de las industrias con uso intensivo de agua están
20 utilizando actualmente tecnologías que podrían reemplazarse si se pudiera encontrar una tecnología de control de biopelículas más efectiva basada en biocidas específicos.

Una biopelícula es un agregado de microorganismos en el que las células se adhieren entre sí en una superficie. Estas células adherentes están incrustadas frecuentemente dentro de una matriz de producción propia de sustancia
25 polimérica extracelular (EPS). La EPS de la biopelícula, que también se conoce como limo, es un conglomerado polimérico que generalmente comprende polisacáridos extracelulares, ADN y proteínas. Las biopelículas pueden formarse en superficies vivas o no vivas y pueden prevalecer en entornos acuosos naturales, industriales y hospitalarios. Las células microbianas que crecen en una biopelícula son generalmente fisiológicamente distintas de las células planctónicas del mismo organismo, que, por el contrario, son células individuales que pueden flotar o nadar en un medio líquido.

30 La formación de una biopelícula comienza con la unión de microorganismos que flotan libremente a una superficie. Estos primeros colonizadores se adhieren a la superficie inicialmente a través de una adhesión débil y reversible a través de las fuerzas de van der Waals. Si los colonizadores no se separan inmediatamente de la superficie, pueden anclarse de manera más permanente utilizando estructuras de adhesión celular tales como pili. Algunas especies no pueden unirse a una superficie por sí mismas, pero a menudo pueden anclarse a la matriz EPS o directamente a
35 colonizadores anteriores. Durante esta colonización es cuando las células pueden comunicarse mediante la percepción de *quorum* utilizando señales tales como los compuestos AHL. Una vez que ha comenzado la colonización, la biopelícula crece a través de una combinación de división y reclutamiento celular. La etapa final de la formación de la biopelícula se conoce como desarrollo, y es la etapa en la que se establece la biopelícula y solo puede cambiar de forma y tamaño. El desarrollo de una biopelícula puede permitir que una colonia (o colonias) de células agregadas sea
40 cada vez más resistente a los agentes antimicrobianos.

Las biopelículas contribuyen a muchos problemas en sistemas industriales acuosos, especialmente en sistemas de recirculación tales como máquinas de papel o sistemas de enfriamiento. La acumulación de biopelículas puede causar
45 problemas tales como tiempo de inactividad no programado de la maquinaria debido a la limpieza, obstrucción de tuberías o válvulas o boquillas de pulverización, transferencia de calor deficiente, alto consumo de energía, corrosión, mayores gastos de mantenimiento, menor vida útil del sistema, mayor coste de operación, etc.

Un biocida es una sustancia química antimicrobiana que puede disuadir, hacer inofensivo o ejercer un efecto de control sobre cualquier organismo nocivo. Los biocidas se usan comúnmente en la industria. Un biocida antimicrobiano puede clasificarse adicionalmente, p. ej. como un germicida, un antibacteriano, un antiviral, un antifúngico, un antiprotozoario o un antiparasitario.

50 La mayoría de los biocidas actuales se desarrollaron originalmente para el control de las bacterias planctónicas. A las bajas concentraciones utilizadas generalmente, estos biocidas no son muy efectivos contra las biopelículas. La vaina o matriz formada por microorganismos productores de EPS hace que toleren dosis más altas de la mayoría de los biocidas comunes. El uso de dosis más altas de los biocidas puede ser económicamente inviable o puede causar otros problemas, como la corrosión del equipo. Además, debido a que los biocidas están destinados a matar a los
55 organismos vivos, elevar las dosificaciones de productos biocidas también aumentaría los riesgos para la salud del personal que trabaja con ese proceso particular con uso intensivo de agua.

Algunas formulaciones de biocidas descritas en la técnica anterior emplean más o menos dispersantes anfífilos que

cumplen dos funciones principales: a) la humectabilidad de la biopelícula para la reducción de la capa de biopelícula (biohumectantes), o b) el retraso y la prevención del crecimiento de la biopelícula en las superficies (bioestabilizador).

5 Las tecnologías alternativas descritas en la técnica anterior incluyen, por ejemplo, formulaciones de bicapa basadas en lípidos, tales como liposomas (WO 2010/107533) o emulsiones de biocidas de aceite en agua para controlar la incrustación biológica industrial (US 6 096 225). US 5 312 841 describe formulaciones de microemulsiones a base de agua de bis(triclorometil)sulfona (BTCMS), tensioactivo no iónico y tensioactivo catiónico de haluro de amonio cuaternario útil como un biocida.

10 Existe la necesidad de mejores biocidas y formulaciones de biocidas que puedan usarse contra las biopelículas en las superficies. Deberían poder dirigirse contra las biopelículas y también poder penetrar en la biopelícula y matar a los organismos de la biopelícula. Tales biocidas deberían ser efectivos también a dosis bajas.

Resumen de la invención

15 La presente invención se dirige a un control de biopelículas más eficaz mediante nuevas formulaciones de biocidas, en donde la solubilización de biocidas y la formación de micelas por copolímeros de bloque se combinan con las propiedades de adsorción a superficies y permeabilización de membrana. Para este propósito, se forman micelas mixtas autoensambladas, que contienen además de biocida(s) y copolímeros de bloque también permeabilizadores de membrana y/o polielectrolitos catiónicos para una mejor adsorción a superficies. Esto permite un cambio gradual en el rendimiento (por un factor de aproximadamente 10), especialmente cuando se compara con una formulación a base de solvente.

20 La presente invención también proporciona una formulación de biocida que comprende un biocida en una micela. Según la invención, la micela comprende un copolímero de bloque que es un copolímero tribloque no iónico compuesto por una cadena hidrófoba central de polioxipropileno (poli(óxido de propileno)) flanqueada por dos cadenas hidrófilas de polioxietileno (poli(óxido de etileno)), y un compuesto estabilizador de amonio cuaternario, y el biocida en dicha formulación es 2,2-dibromo-3-nitropropionamida (DBNPA).

25 La presente descripción también proporciona una formulación de biocida que comprende un biocida en una micela, en donde la micela comprende un copolímero de bloque que tiene una parte solubilizante de biocida y una parte soluble en agua, y un compuesto de amonio cuaternario que estabiliza la micela, y posiblemente también mejora las propiedades de permeabilización de la formulación.

30 La presente invención también proporciona un método para controlar las biopelículas mediante la eliminación y/o prevención de microorganismos en un entorno acuoso, que comprende proporcionar la formulación de biocida de acuerdo con la presente invención y dosificar dicha formulación de biocida en el entorno acuoso.

La presente invención tiene ventajas sobre el estado de la técnica al emplear aditivos adicionales para aumentar el rendimiento del biocida, es decir, mediante permeabilizadores de membrana adicionales y una adsorción a la superficie mejorada (por ejemplo, con polielectrolitos catiónicos) y permitiendo así un rendimiento de cambio gradual por efectos sinérgicos. Se mostró que el rendimiento biocida es bueno también en agua dura y suspensiones de fibra.

35 Es una ventaja de la descripción que presenta un sorprendente efecto biocida sinérgico entre el suministro micelar y la permeabilización de la membrana, lo que permite la reducción de los valores de dosificación de corte (viabilidad cero de las células planctónicas y de biopelícula) incluso por un factor de 4-20. Los biocidas pueden penetrar en la biopelícula y atacar a los microorganismos en la matriz de la biopelícula. A pesar del costo potencialmente más alto de la formulación en comparación con las formulaciones de productos conocidas de la técnica anterior, el rendimiento de los costos puede incrementarse potencialmente por un factor de 2-10. Al mismo tiempo, el uso de menos biocida mejora el impacto ambiental y reduce los riesgos para la salud de los trabajadores expuestos a los biocidas, lo que hace de esta una tecnología más sostenible.

Una ventaja de la presente invención es que los biocidas pueden estar dirigidos a biopelículas en superficies.

45 Otra ventaja de la presente invención es que puede realizarse con la tecnología de producción existente y en base a las materias primas disponibles comercialmente.

Otra ventaja de la presente invención es que las formulaciones tienen una vida útil suficiente. Además, se pueden bombear con bombas químicas industriales comunes.

Breve descripción de las figuras

50 La Figura 1 muestra los resultados del experimento de inactivación/muerte de biopelículas que compara el biocida comercial que contiene DBNPA (R20V) con nuevas formulaciones de acuerdo con la invención (PD16-01 a PD16-07). Todas las concentraciones se indican como mg/l (ppm) de DBNPA.

La Figura 2 muestra los resultados del experimento de inactivación/muerte de biopelículas que compara el biocida comercial que contiene DBNPA (R20V) con la formulación nueva de acuerdo con la invención (PD22-01) y otras formulaciones.

La Figura 3 muestra la gráfica de los resultados de dos ensayos, que muestran resultados de viabilidad bacteriana para formulaciones de Pluronic + DBNPA con una concentración variable de DDAC (ensayo de muerte/inactivación de biopelícula), frente a la permeabilización de membrana (ensayo de captación de NPN) de las formulaciones similares sin DBNPA.

5 Descripción detallada

La presente descripción proporciona una liberación dirigida de un biocida sobre una superficie de biopelícula en un entorno acuoso, lo que permite un mejor control de los microbios. En la nueva formulación, la solubilización de biocidas y la formación de micelas por copolímeros de bloque se combinan con las propiedades de adsorción a superficies y permeabilización de membrana.

10 Un ejemplo describe la solubilización de un biocida con baja solubilidad en agua (por ejemplo, DBNPA) dentro de una micela mixta formada por a) un copolímero de bloque que comprende un bloque solubilizante en biocida y un bloque soluble en agua, y b) un estabilizador adicional (por ejemplo, DDAC) y/o c) un polielectrolito catiónico adicional (por ejemplo, PDADMAC o PEI) que mejora la adsorción a superficies y la retención de la formulación en las superficies.

15 En un ejemplo, las micelas mixtas están formadas por copolímeros de bloque, estabilizadores de amonio cuaternario y, opcionalmente, polielectrolitos catiónicos adicionales. La función de estos últimos es mejorar la retención de los agregados biocidas autoensamblados en las superficies (por ejemplo, acero). De esta manera, la superficie tratada muestra un tiempo de protección más prolongado y menos contaminación microbiana incluso si se dosifica la formulación biocida de una manera no continua ("dosificación de choque"), lo que significa que la fase acuosa puede estar libre de residuos de biocida en algún momento. Los aditivos adicionales de la formulación pueden incluir también antiespumantes, desaireadores, modificadores reológicos, estabilizadores de biocidas u otros productos químicos de proceso.

20 La presente descripción proporciona una formulación de biocida que comprende un biocida (o una mezcla de biocidas) en una micela, en donde la micela comprende un copolímero de bloque que tiene una parte solubilizante de biocida y una parte soluble en agua, y un compuesto estabilizador de amonio cuaternario. Además de estos ingredientes activos, las formulaciones pueden contener otros ingredientes, tales como agentes estabilizantes de los ingredientes activos y cantidades residuales o traza de otros agentes, tales como sales, citrato, agentes conservantes, solventes, etc.

25 Las micelas son agregados de moléculas anfífilas dispersadas en un medio líquido. Una micela típica en solución acuosa es un agregado, cuyos restos hidrófilos están en contacto con el solvente circundante, secuestrando los restos hidrófobos en el centro de la micela. La formación de la fase micelar ocurre al empaquetar las entidades moleculares hidrófobas de una manera que genera curvatura interfacial. De esta manera, se forman agregados discretos esféricos, cilíndricos o similares a un disco. Las micelas de fase normal (micela de aceite en agua) tienen los restos hidrófobos en el centro de la micela y los grupos hidrófilos en la interfaz micelar. Las micelas inversas tienen los grupos de cabeza en el centro con las colas extendidas hacia fuera (micela de agua en aceite). Las micelas tienen típicamente una forma aproximadamente esférica. También son posibles otras fases micelares, que incluyen formas como elipsoides, cilindros y bicapas. La forma y el tamaño de una micela es función de la geometría molecular de sus moléculas de tensioactivo y de las condiciones de la solución, tales como la concentración de tensioactivo, la temperatura, el pH y la fuerza iónica. El proceso de formación de micelas se conoce como micelización y forma parte del comportamiento de fase de muchos lípidos y otras moléculas anfífilas según su polimorfismo. Las micelas en los sistemas de lípidos y agua se analizan más a fondo, por ejemplo, por J. M. Seddon y R. H. Templer en "Polymorphism of Lipid-Water Systems", del Handbook of Biological Physics, vol. 1, ed. R. Lipowsky y E. Sackmann. (c) 1995, Elsevier Science B.V. ISBN 0-444-81975-4.

35 Las micelas se forman espontáneamente en agua, y esta agregación espontánea se debe a la naturaleza anfífila de las moléculas que forman micelas. La interacción atractiva de sus entidades hidrófobas es la base de su agregación. Cuando las colas hidrófobas no son secuestradas del agua, el resultado es la formación de una jaula organizada alrededor de la cola hidrófoba y el cambio de entropía es desfavorable. Sin embargo, cuando las moléculas anfífilas forman micelas, las colas hidrófobas interactúan entre sí y esta interacción libera agua de las colas hidrófobas, lo que conduce a un aumento favorable de la entropía. Debido a la formación espontánea de las micelas, la forma más sencilla de preparar la formulación de biocida de la invención es mezclar los ingredientes y dejar que se formen las micelas.

40 Las micelas solo se forman cuando la concentración de tensioactivo es mayor que la concentración micelar crítica (CMC). El tensioactivo es cualquier material activo de superficie que puede dividir la superficie al entrar. La CMC es la concentración por encima del tensioactivo cuando las micelas se formarán espontáneamente. Cuanto mayor es la concentración, más micelas hay. La formación de micelas también depende de la temperatura de Krafft. Esta temperatura es cuando los tensioactivos formarán micelas. Si la temperatura está por debajo de la temperatura de Krafft, entonces no hay formación espontánea de micelas. A medida que aumenta la temperatura, el tensioactivo se convertirá en una forma soluble y podrá formar micelas a partir de un estado cristalino.

El tamaño de las micelas útiles en la presente invención puede estar en el intervalo de aproximadamente 5-30 nm, tal como aproximadamente 5-20 nm, por ejemplo, 5-15 nm. Generalmente, el tamaño promedio de las micelas es de

aproximadamente 10 nm. Dichas micelas también pueden denominarse nanopartículas o nanoesferas, que generalmente se refieren a unidades de forma más o menos esférica que se autoensamblan en las condiciones apropiadas a partir de un material anfifílico de manera que el núcleo sea hidrófobo y la corona sea hidrófila. Las micelas pueden estar en forma de nanoemulsión o nanosuspensiones en la solución acuosa. Dichas nanoemulsiones pueden ser capaces de atravesar barreras biológicas, tales como las membranas microbianas. Las posibles vías incluyen, por ejemplo, fagocitosis, pinocitosis y endocitosis.

El biocida puede ser cualquier biocida adecuado (agente antimicrobiano) capaz de matar a los microorganismos, tales como los microorganismos formadores de biopelículas. En una realización, el biocida está presente como una mezcla de dos o más biocidas diferentes. El biocida puede ser soluble en agua, o puede tener baja solubilidad en agua o incluso puede no ser soluble en agua. Es ventajoso que el biocida no reaccione con los compuestos de la micela, y que la formulación en su conjunto sea estable. Generalmente, la formulación de biocida contiene al menos un 2 % (p/p) del biocida (agente antimicrobiano). En una realización, la formulación de biocida contiene aproximadamente un 5-50 % (p/p) del biocida. En una realización, la formulación de biocida contiene aproximadamente un 10-25 % (p/p) del biocida. En una realización, la formulación de biocida contiene aproximadamente un 15-25 % (p/p) del biocida. En una realización, la formulación de biocida contiene aproximadamente un 13-17 % (p/p) del biocida. En una realización específica, la formulación de biocida contiene aproximadamente un 15 % (p/p) del biocida.

Los términos "insoluble en agua" o un compuesto que tiene "baja solubilidad en agua", tal y como se usan en la presente memoria, se refieren a compuestos que tienen baja, incluyendo muy baja, solubilidad en agua. La baja solubilidad puede ser, por ejemplo, una solubilidad de aproximadamente 1 gramo por 100 gramos de agua, tal como aproximadamente 10 gramos por 100 gramos de agua, o aproximadamente 50 gramos por 100 gramos de agua.

Los biocidas pueden dividirse generalmente en dos grupos categóricos: biocidas oxidantes y no oxidantes (o convencionales). Los biocidas no oxidantes incluyen biocidas tales como DNBPA, glutaraldehído, isotiazolonas, etc. Un ejemplo de biocidas adecuados para usar en las formulaciones de la descripción incluye biocidas no oxidantes. Los biocidas también pueden dividirse en grupos por mecanismos de función. Los electrófilos incluyen oxidantes, tales como halógenos y compuestos peroxídicos, y electrófilos, tales como formaldehído, liberadores de formaldehído, isotiazolonas, Bronopol y Cu, Hg y Ag. Los biocidas activos en membranas incluyen biocidas líticos, tales como quats, biguanidas, fenoles y alcoholes, y protonóforos, tales como parabenos, ácidos débiles y piritionas.

Los ejemplos de biocidas no oxidantes incluyen glutaraldehído, 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamida (DBNPA), 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol (Bronopol), 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona (CMIT), 2-metil-4-isotiazolin-3-ona (MIT), una mezcla de CMIT y MIT, 1,2-dibromo-2,4-dicianobutano, bis(triclorometil)sulfona, 2-bromo-2-nitroestireno, 4,5-dicloro-1,2-ditiol-3-ona, 2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona, 1,2-bencisotiazolin-3-ona, orto-ftalaldehído, guanidinas, biguanidinas, piritionas, carbamatos, 3-yodopropinil-N-butilcarbamato, sales de fosfonio tales como sulfato de tetraquis hidroximetilfosfonio (THPS), 3,5-dimetil-1,3,5-tiadiazinano-2-tiona (Dazomet), 2-(tiocianometilitio) benzotiazol, bistiocianato de metileno (MBT) y combinaciones de los mismos.

Los biocidas no oxidantes preferidos incluyen glutaraldehído; 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamida (DBNPA); 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona (CMIT); 2-metil-4-isotiazolin-3-ona (MIT); una mezcla de CMIT y MIT; carbamatos; y sales de fosfonio tales como sulfato de tetraquis hidroximetilfosfonio (THPS), 3,5-dimetil-1,3,5-tiadiazinano-2-tiona (Dazomet), 2-(tiocianometilitio) benzotiazol, bistiocianato de metileno (MBT), y combinaciones de los mismos. La ventaja de usar estos biocidas es que se usan comúnmente en la industria de la pulpa y el papel, y su comportamiento es muy conocido.

En una realización, los biocidas no oxidantes se seleccionan del grupo que consiste en glutaraldehído, 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamida (DBNPA), 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona (CMIT), 2-metil-4-isotiazolin-3-ona (MIT), y una mezcla de CMIT y MIT. Estos biocidas tienen una velocidad de muerte favorable y proporcionan un modo de acción preferido. Además, las cantidades requeridas son razonablemente bajas, lo que hace que los costos sean asequibles.

Los ejemplos de biocidas oxidantes incluyen cloro, sales de hipoclorito alcalino y alcalinotérreo, ácido hipocloroso, isocianuratos clorados, bromo, sales de hipobromito alcalino y alcalinotérreo, ácido hipobromoso, cloruro de bromo, dióxido de cloro, ozono, peróxido de hidrógeno, compuestos peroxídicos, tales como el ácido peracético, ácido perfórmico, sales de percarbonato o persulfato, hidantoínas halogenadas, por ejemplo, monohalodimetilhidantoínas tales como monoclorodimetilhidantoína o dihalodimetilhidantoínas tales como clorobromodimetilhidantoína, monocloraminas, monobromaminas, dihaloaminas, trihaloaminas, compuestos halogenados activos que han reaccionado con otros compuestos nitrogenados tales como urea, y combinaciones de los mismos.

Los tipos más comunes de biocidas no oxidantes que se utilizan en los procesos de fabricación de pulpa y papel incluyen 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol, 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona, DBNPA, n-octil-isotiazolin-3-ona, MBT, compuestos de amonio cuaternario, THPS y glutaraldehído.

En una realización, el biocida es 2,2-dibromo-2-cianoacetamida (también llamado 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamida o dibromonitrilopropionamida, DBNPA), que es un polvo cristalino blanco que tiene un punto de fusión de 124,5 °C, solubilidad en agua de aproximadamente 15.000 mg/l a 20 °C y presión de vapor 9,00 E-4 mm de Hg a 20 °C. La DBNPA se hidroliza fácilmente en condiciones ácidas y alcalinas. Aunque la DBNPA es compatible con muchas clases

químicas, incluidos los agentes oxidantes, reaccionará fácilmente con agentes nucleófilos y agentes reductores que contienen azufre. La DBNPA es un biocida no oxidante y no es un biocida que libera bromo. La DBNPA actúa de manera similar a los biocidas halógenos típicos. La reacción de DBNPA con nucleófilos que contienen azufre, comunes en los microorganismos, como el glutatión o la cisteína, es la base de su modo de acción antimicrobiana. A diferencia de otros biocidas reactivos con tiol, su acción es tal que los aminoácidos a base de tiol, como la cisteína, se oxidan más allá de la formación de especies de disulfuro. Esta reacción altera irreversiblemente la función de los componentes de la superficie celular, interrumpiendo el transporte a través de las membranas celulares e inhibiendo las funciones biológicas clave.

La micela comprende un copolímero de bloque que tiene una parte (o resto) solubilizante de biocida y una parte (o resto) soluble en agua. La parte solubilizante de biocida puede ser una parte soluble en grasa o una parte no soluble en agua. Se pueden usar poloxámeros en general (disponibles, por ejemplo, con los nombres comerciales Pluronic o Kolliphor). Los poloxámeros son copolímeros tribloque o iónicos compuestos por una cadena hidrófoba central de polioxipropileno (poli(óxido de propileno)) flanqueada por dos cadenas hidrófilas de polioxietileno (poli(óxido de etileno)). En algunos casos, el copolímero de bloque también puede denominarse solubilizante. En una realización, el copolímero de bloque es un copolímero de bloque de poli(óxido de etileno) - poli(óxido de propileno) (PEO-PPO). El contenido del copolímero de bloque en la formulación puede ser del 15 al 50 % (p/p).

En una realización, el contenido del copolímero de bloque en la formulación puede estar en el intervalo de aproximadamente un 15-30 % (p/p), tal como aproximadamente un 20-25 % (p/p). Especialmente a temperaturas de almacenamiento bajas o moderadas (<30 °C) es conveniente usar una cantidad menor del copolímero de bloque, y aun así se obtiene una eficacia mejorada en comparación con el sistema basado en solvente.

En otra realización, el contenido del copolímero de bloque en la formulación es mayor, preferiblemente del 30 al 50 % (p/p), especialmente cuando se requiere estabilidad a una mayor temperatura (> 30 °C). Más preferiblemente, el contenido del copolímero de bloque es del 30 al 45 % (p/p), lo más preferiblemente del 34 al 40 % (p/p), proporcionando una excelente estabilidad y una eficacia claramente mejorada. El límite superior del rango está restringido con el fin de optimizar el costo del polímero.

El compuesto estabilizador de amonio cuaternario (o "estabilizador") puede ser, por ejemplo, un catión de amonio cuaternario, también conocido como quats. Son iones poliatómicos cargados positivamente con la estructura NR_4^+ , siendo R un grupo alquilo o un grupo arilo. A diferencia del ion amonio (NH_4^+) y los cationes de amonio primario, secundario o terciario, los cationes de amonio cuaternario están permanentemente cargados, independientemente del pH de su solución. Las sales de amonio cuaternario o los compuestos de amonio cuaternario (llamados aminas cuaternarias en lenguaje petrolero) son sales de cationes de amonio cuaternario con un anión.

En una realización de la presente invención, el compuesto estabilizador de amonio cuaternario puede mostrar también propiedades permeabilizantes, y por lo tanto puede tener un efecto doble.

El compuesto estabilizador de amonio cuaternario puede seleccionarse, por ejemplo, de cloruro de n-alquil dimetil bencil amonio, cloruro de alquencil dimetiletil amonio, cloruro de didecil dimetil amonio (o cloruro de N, N-didecil-N,N-dimetil amonio, DDAC, disponible, por ejemplo, con el nombre comercial Bardac-22) y bromuro de dimetil dioctadecil amonio (DDAB).

El contenido del compuesto estabilizador de amonio cuaternario en la formulación puede estar en el rango de aproximadamente un 5-30 % (p/p), tal como aproximadamente un 5-10 % (p/p).

La formulación de biocida puede comprender además un permeabilizador de membrana tal como polielectrolitos catiónicos o agentes quelantes. En una realización, el polielectrolito catiónico se selecciona de poli(cloruro de dialildimetilamonio) (PDADMAC) y polietilenimina (PEI, disponible, por ejemplo, con el nombre comercial Retaminol®), polieteraminas (por ejemplo, poliéter diamina o poliéter triamina, disponibles, por ejemplo, con el nombre comercial Jeffamine) o poliaminas, tales como la espermidina y la espermina. El contenido del permeabilizador de membrana de polielectrolito catiónico en la formulación puede estar en el rango del 0,5-5 % (p/p).

Siempre que el permeabilizador de membrana esté presente en la formulación de biocida de la presente invención, no debería ser el mismo compuesto que el compuesto estabilizador de amonio cuaternario.

En una realización, los agentes quelantes se seleccionan del grupo que comprende ácidos poliaminopolicarboxílicos tales como TTHA (ácido trietilentetramina-N,N,N',N',N'',N'''-hexaacético), EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético), HEDTA (ácido N-(hidroxietil)-etilendiaminotriacético), EDDS (ácido etilendiaminodisuccínico); ácidos poliaminopolimetilfosfónicos tales como DTPMPA (ácido dietilentriamina-pentaquis metilfosfónico), TTHMPA (ácido trietilentriamino-hexaquis metilfosfónico), EDTMPA (ácido etilendiaminotetra(metilfosfónico)); y AES (ácido N-bis[2-(1,2-dicarboxi-etoxi)etil] aspártico). Lo más preferiblemente, el agente quelante es DTPA.

El cloruro de polidialildimetilamonio (poliDADMAC o poliDDA) es un homopolímero de cloruro de dialildimetilamonio (DADMAC). El peso molecular de poliDADMAC está típicamente en el rango de cientos de miles de gramos por mol, e incluso hasta un millón para algunos productos. El poliDADMAC generalmente se entrega como un concentrado

Líquido que tiene un nivel de sólidos en el rango del 10 al 50 %. Es un polímero catiónico de alta densidad de carga.

La polietilenimina es un polímero catiónico, que puede ser lineal y contiene todas las aminas secundarias, o ramificado que contiene grupos amino primarios, secundarios o terciarios.

5 El permeabilizador de membrana también puede ser un tensioactivo. Los tensioactivos son generalmente compuestos orgánicos que son anfifílicos, lo que significa que contienen grupos hidrófobos (sus colas) y grupos hidrófilos (sus cabezas). Por lo tanto, un tensioactivo contiene tanto un componente insoluble en agua (o soluble en aceite) como un componente soluble en agua. Los tensioactivos se difundirán en el agua y se adsorberán en las interfaces entre el aire y el agua o en la interfaz entre el aceite y el agua, en el caso de que el agua se mezcle con el aceite. El grupo hidrófobo insoluble puede extenderse fuera del grueso de la fase de agua, en el aire o en la fase de aceite, mientras que el grupo de cabeza soluble en agua permanece en la fase de agua. Esta alineación de tensioactivos en la superficie modifica las propiedades superficiales del agua en la interfaz agua/aire o agua/aceite.

15 En una realización, la formulación de biocida comprende además un antiespumante. El antiespumante (agente antiespumante) es una sustancia generalmente utilizada para reducir la formación de espuma debido a gases, materiales nitrogenados o proteínas, que pueden interferir con el procesamiento. Los ejemplos generales de antiespumantes incluyen alcoholes grasos de cadena larga, fosfatos orgánicos, fluido de silicona, etc.

20 En una realización, la formulación de biocida contiene aproximadamente un 15-23 % (p/p) del biocida, tal como DBNPA, aproximadamente un 15-25 % (p/p) del copolímero de bloque, tal como poloxámero, aproximadamente un 5-30 % (p/p) del compuesto estabilizador de amonio cuaternario, tal como DDAC. Opcionalmente, la formulación de biocida puede contener además un 1-5 % (p/p) de permeabilizador de membrana. En una realización, la formulación de biocida contiene además una pequeña cantidad de citrato, tal como aproximadamente un 0,2 % (p/p), que puede estabilizar los ingredientes activos. En una realización específica, la formulación de biocida contiene aproximadamente un 15 % (p/p) de DBNPA como biocida, aproximadamente un 15-25 % (p/p) de PEO-PPO como copolímero de bloque y aproximadamente un 20-30 % (p/p. w) de DDAC como el compuesto estabilizador de amonio cuaternario. Los porcentajes utilizados en la presente memoria generalmente se refieren al contenido total de la formulación de biocida en su conjunto, a menos que se indique lo contrario.

La formulación puede estar presente como una emulsión o concentrado de emulsión, que puede contener agua en el rango del 40-50 % (p/p) del contenido total de la emulsión. En un ejemplo, la adición del polímero catiónico u otro polímero soluble en agua conduce a la formación de una emulsión de agua en agua, que comprende la solución micelar de los biocidas.

30 En una realización, la formulación de biocida está presente como una formulación de dos componentes que comprende un primer componente que comprende el permeabilizador de membrana y un segundo componente que comprende el biocida, el copolímero de bloque y el compuesto estabilizador de amonio cuaternario. El segundo componente generalmente está presente como una mezcla de los ingredientes. El primer componente y/o el segundo componente pueden contener también ingredientes adicionales, tales como agentes estabilizadores de los ingredientes activos y cantidades residuales o traza de otros agentes, tales como sales, citrato, agentes conservantes, solventes, etc. El primer componente y el segundo componente están dispuestos para ser combinados para obtener la formulación final de biocida antes de su adición o dosificación en el entorno acuoso.

40 La presente descripción también proporciona un método para dirigir un biocida sobre una superficie de biopelícula en un entorno acuoso, que comprende proporcionar la formulación de biocida y poner en contacto dicha superficie de biopelícula con dicha formulación de biocida. La superficie puede ser, por ejemplo, una superficie de plástico, cerámica o metal, tal como superficie de acero, acero inoxidable o cobre. En general, la colonización por bacterias de la biopelícula es mayor en superficies plásticas y menor en superficies de cobre. El direccionamiento también puede incluir la liberación y/o el suministro controlado del biocida que conduce a una mejor captación del biocida en el microbio por permeabilización de la membrana.

45 La presente descripción también proporciona métodos para tratar agua, que comprenden proporcionar dicha formulación de biocida y añadir o dosificar dicha formulación de biocida en el agua. Los métodos tienen como objetivo eliminar y/o prevenir la formación de biopelículas en las superficies para limpiar y/o eliminar los limos o biopelículas que se están formando o ya formados. La "dosificación" generalmente se refiere a añadir o alimentar productos químicos en cantidades en un fluido de proceso continuamente o a intervalos para dar tiempo suficiente para que el producto químico reaccione o muestre los resultados.

50 La formulación de biocida tal y como se usa en los métodos descritos en la presente memoria puede añadirse o dosificarse en el agua a tratar en cantidades bioestáticas o biocidas. La cantidad bioestática se refiere a una cantidad suficiente para, al menos, inhibir la actividad y/o el crecimiento de los microbios o la biopelícula. La cantidad biocida se refiere a una actividad más efectiva, tal como una cantidad capaz de matar la mayoría o a la totalidad de los microbios.

55 La presente invención también proporciona un método para controlar biopelículas eliminando microorganismos y/o previniendo el crecimiento de los mismos en un entorno acuoso, que comprende proporcionar la formulación de biocida y añadir o dosificar dicha formulación de biocida en el entorno acuoso. El "entorno acuoso" tal y como se usa en la

- 5 presente memoria se refiere a un sistema de agua, tal como un sistema de agua industrial, que contiene una solución acuosa. La eliminación y/o prevención se refieren a cualquier efecto bioestático o biocida, tal como matar, reducir, eliminar o inhibir el crecimiento de, o inactivar o limpiar, la biopelícula. La eliminación puede ser total o parcial. La prevención se refiere a cualquier acción preventiva de eliminación que reduce o inhibe el crecimiento de los microorganismos y, por lo tanto, previene total o parcialmente la formación de la biopelícula.
- La presente descripción también proporciona el uso de dicha formulación de biocida para controlar (por ejemplo, eliminar, inactivar y/o prevenir) biopelículas o microorganismos en procesos acuosos. En una realización, los microorganismos están en forma de una biopelícula. Esto da como resultado una sinergia en el control de los microorganismos unidos (biopelículas) en las superficies.
- 10 La presente descripción también proporciona el uso de polielectrolitos catiónicos adicionales para la retención de la formulación biocida (por ejemplo, micelas) en las superficies (por ejemplo, superficies de acero de una tubería o tanque para el agua del proceso) y, por lo tanto, obtener una protección prolongada.
- "Solución acuosa", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier solución que contiene agua. Dicha solución acuosa es generalmente cualquier solución que contenga una cantidad suficiente de fase acuosa para usar en la aplicación actual. Dicha solución acuosa puede ser, por ejemplo, agua, agua superficial, agua subterránea, agua residual, agua industrial, agua industrial sin tratar, suspensión de lodos o sólidos, suspensión de pulpa o cualquier otra solución acuosa adecuada.
- 15 El entorno acuoso puede ser un proceso industrial, tal como un proceso de tratamiento de agua. El proceso industrial puede seleccionarse entre procesos tales como pulpa de madera, papel, cartón, tratamiento de aguas residuales industriales, perforación de petróleo, industria de máquinas herramienta, herramientas de corte de aceites, sistemas hidráulicos, etc. y el equipo utilizado en dichos procesos. El objetivo de la aplicación puede ser, por ejemplo, cualquier sistema de agua industrial, lo que generalmente significa un sistema de recirculación de agua diseñado, tal como un sistema de fabricación de papel, sistemas de agua de enfriamiento (por ejemplo, torres de enfriamiento, unidades de enfriamiento de circuito abierto y cerrado), sistemas de agua industrial sin tratar, sistemas de distribución de agua potable, sistema de saneamiento de agua potable, sistemas de producción o recuperación de petróleo (sistema de agua de yacimientos petrolíferos, fluidos de perforación), sistema de almacenamiento de combustible, sistemas de trabajo de metales, intercambiadores de calor, reactores, equipos utilizados para almacenar y manipular líquidos, calderas y unidades generadoras de vapor relacionadas, radiadores, unidades de evaporación instantánea, unidades de refrigeración, equipos de ósmosis inversa, unidades de lavado de gases, altos hornos, unidades de evaporación de azúcar, centrales de vapor, unidades geotérmicas, unidades de refrigeración nuclear, unidades de tratamiento de agua, unidades de recirculación de piscinas, circuitos de minería, unidades de calefacción de circuito cerrado, fluidos de mecanizado utilizados en operaciones tales como, por ejemplo, perforación, taladro, molienda, escariado, estirado, brochado, torneado, corte, costura, trituración, corte de roscas, conformado, hilado y laminado, fluidos hidráulicos, fluidos de enfriamiento y similares.
- 20 La formulación de biocida se puede añadir al agua circulante de una máquina de pulpa, papel o cartón. En un ejemplo, la formulación de biocida se añade o dosifica a un sistema de procesamiento de pulpa y/o papel. La formulación puede utilizarse generalmente en todo el sistema para minimizar y para prevenir la formación de biopelícula en las superficies del sistema. La formulación se puede añadir en casi cualquier punto del sistema para mantener generalmente el control de microbios en todo el sistema. En ciertos ejemplos, la formulación se añade en el circuito de agua corto del sistema.
- 25 Otros ejemplos de puntos de adición adecuados son grandes torres de almacenamiento de agua del proceso (torres de agua circulante, torres de agua filtrada), tanques de almacenamiento de filtrado transparente o turbio, procesadores de pulpa o corrientes del proceso aguas arriba/aguas abajo de los procesadores de pulpa, sistema de rotos o corrientes del proceso aguas arriba/aguas abajo de recipientes en el mismo, corrientes del proceso del tanque agitador aguas arriba/aguas abajo del tanque agitador, sección de recuperación de agua, corrientes del proceso del tanque bajo la tela aguas arriba/aguas abajo del tanque, corrientes del proceso del recipiente de mezcla de máquina de papel aguas arriba/aguas abajo del recipiente, y corrientes del proceso del tanque de agua de ducha aguas arriba/aguas abajo del tanque.
- 30 En una realización, la formulación se añade o dosifica en agua industrial sin tratar, que generalmente es agua entrante que puede ser agua natural sin tratar o clarificada originada a partir de aguas superficiales, tales como ríos o lagos.
- 35 La formulación de la invención se puede añadir como un sólido, tal como polvo seco, o en forma líquida al líquido o agua a tratar. Se puede dosificar de forma continua o periódica como un proceso por lotes. Los ejemplos de concentraciones adecuadas para ser utilizadas en los procesos son aproximadamente 0.3-50 ppm, más particularmente 0.35-10 ppm, tal como 1-5 ppm. En el proceso por lotes, la formulación se puede alimentar durante aproximadamente 3-45 minutos cada una aproximadamente 6-24 veces al día, o, por ejemplo, durante
- 40 aproximadamente 10-30 minutos durante aproximadamente 12-24 veces al día.
- 45 Favorablemente, la presente invención proporciona un efecto biocida sinérgico entre el suministro micelar y la permeabilización de la membrana, permitiendo la reducción de los valores de dosificación de punto de corte (es decir, la viabilidad cero de las células planctónicas y de biopelícula) por un factor de 1-20, preferiblemente en el rango de 4-10.

A pesar del costo potencialmente más alto de la formulación en comparación con las formulaciones de productos actuales, el rendimiento del costo puede aumentar potencialmente por un factor de 2-10. Al mismo tiempo, el uso de menos biocida mejora el impacto ambiental y hace de esta una tecnología más sostenible.

A continuación, la invención se describirá en detalle con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

5 Ejemplos

10 Todos los experimentos de inactivación/muerte de biopelículas que se muestran en este documento se realizaron siguiendo el mismo método de ensayo que el que se describe en la presente memoria: las bacterias formadoras de biopelículas (cepas del género *Deinococcus*, *Meiothermus* y *Pseudoxantomonas*) se cultivaron a + 50 °C en medios comerciales de crecimiento líquido R2. Se usó 1 ml de esta suspensión microbiana para inocular placas de agar R2A estériles cubiertas por papeles de filtro estériles. Los organismos de ensayo se cultivaron en estas placas de agar cubiertas con papeles de filtro durante 1 día. Se montaron cupones redondos de acero inoxidable sobre papel de filtro y se incubaron durante 6 días a + 50 °C. Durante esta incubación, se formaron biopelículas en los cupones de acero. Cada cupón se separó del papel de filtro y se insertó en la cámara de ensayo, cada uno lleno con 100 ml de agua corriente municipal ajustada a pH 8 y a + 50 °C. Las formulaciones de biocida se aplicaron a cada cámara de acuerdo con el plan de ensayo, siempre con tres cámaras replicadas. Siempre se incluyeron cámaras sin biocida y las cámaras con biocida de referencia comercial. Al final del período de exposición, las eficacias de las formulaciones de biocida ensayadas se cuantificaron haciendo cultivos bacterianos con métodos estándar de recuento de placas a partir del líquido de la cámara (= rendimiento frente a células planctónicas, con flotación libre) y de superficies de acero inoxidable mediante muestras de frotis (= rendimiento frente a la biopelícula).

20 Los experimentos que se muestran en la presente memoria utilizan como biocida de referencia comercial un producto Fennosan R20V (Kemira, Finlandia). Es una solución al 20 % de DBNPA libre en polietilenglicol como solvente. En las nuevas formulaciones de biocidas que se muestran en la presente memoria, el nombre "Plurónico" seguido de diferentes números se refiere a diferentes grados de copolímeros de bloque de PEO-PPO de BASF GmbH. "Bardac-22" se refiere a un producto DDAC de Lonza Inc. "Retaminol" es un nombre comercial para un producto de polietilenimina PEI (Kemira).

Ejemplo 1: comparación de diferentes composiciones de biocida

Este estudio se realizó para comparar el rendimiento biocida de diferentes composiciones biocidas frente a células bacterianas en biopelículas y en líquido. El biocida de referencia fue un producto comercial que contenía DBNPA (R20V). Se comparó con diferentes formulaciones novedosas, todas con DBNPA como agente biocida activo en ellas. 30 Todas las dosificaciones se muestran como la dosificación del agente biocida activo DBNPA (mg/l, ppm). El ensayo de biopelícula se ejecutó como se explicó anteriormente. Los resultados en la Figura 1 muestran que 10 ppm de DBNPA mostraron una buena eficacia de muerte de las células planctónicas cuando se dosificaron en forma de producto R20V (= DBNPA libre). Sin embargo, a esta dosificación la eficacia frente a la biopelícula no fue tan fuerte. Las nuevas formulaciones micelares (PD16-01 a PD16-07) comenzaron a mostrar un fuerte efecto frente a las células planctónicas y de biopelículas ya a un nivel de dosificación de 1 ppm o menos (las ppm en función del contenido de DBNPA). Las nuevas formulaciones fueron capaces así de mejorar el rendimiento del control de biopelículas hasta diez veces. Todas las nuevas formulaciones tenían un contenido de DBNPA del 25 % pero con un contenido variable de Plurónico F68 (del 20 % al 30 %) y un contenido variable de Bardac-22 (del 10 % al 30 %). La formulación con el mejor rendimiento, PD16-06, contenía un 25 % de DBNPA, un 20 % de Plurónico y un 20 % de Bardac-22. Los 40 resultados demostraron que estas nuevas formulaciones tienen un claro beneficio en forma de mayor inactivación/muerte de biopelículas.

Ejemplo 2: comparación de diferentes composiciones de biocida

Este estudio se realizó por dos razones. En primer lugar, para evaluar el impacto de la adición de PEI en el rendimiento de las nuevas formulaciones de biocida. En segundo lugar, se prepararon mezclas para evaluar el impacto relativo de 45 diferentes componentes. Las composiciones se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Serie de muestra PD-22.

Código de muestra	Fennosan R20	Plurónico F68	Agua Milli-Q (+ ácido cítrico)	DBNPA	Bardac-22 (50 % DDAC)	Retaminol	"Nombre" de la composición:
PD22-01		1,88 g (18,8 %)	3,07 g (30,7 %)	2,5 g (25 %)	2,25 g (25 %)	0,3 g (3 %)	GMC
PD22-02		1,88 g (18,8 %)	8,12 g (81,2 %)				Plurónico
PD22-03			5,25 g (52,5 %)	2,5 g (25 %)	2,25 g (22,5 %)		DDAC + DBNPA ⁽¹⁾
PD22-04			9,7 g (97 %)			0,3 g (3 %)	PEI
PD22-05		1,88 g (18,8 %)	5,87 g (58,7 %)		2,25 g (22,5 %)		DDAC + Plurónico
PD22-06	7,75 g (77,5 %)				2,25 g (22,5 %)		R20 + DDAC

¹⁾ Se observó solubilización incompleta de DBNPA cuando se mezcló con DDAC y se excluyó del ensayo de biopelícula.

El ensayo de biopelícula se ejecutó como se explicó anteriormente. Los resultados en la Figura 2 muestran que 5 ppm de DBNPA tuvieron una eficacia de muerte muy débil y fueron necesarios 10 ppm de DBNPA para una eficacia de muerte fuerte, cuando se dosificó DBNPA en forma de producto R20V (= DBNPA libre). La formulación PD22-01 ("GMC") mostró una eficacia de muerte muy fuerte a 0,5 ppm y produjo una esterilización total a una dosis de 1,0 ppm. Esto demuestra que la formulación micelar de DBNPA con compuesto estabilizador de amonio cuaternario y PEI como componente permeabilizador fue altamente efectiva. Esta composición según la invención mostraba una mejora de la eficacia de más de diez veces en comparación con la referencia R20V. PD22-02 ("Plurónico") no tuvo un claro efecto de muerte, lo que demuestra que el copolímero de bloque PEO-PPO por sí solo no era efectivo. La mezcla PD22-03 ("DBNPA + DDAC") no se solubilizó y no se pudo ensayar. PD22-04 ("PEI") no tuvo un claro efecto de muerte, lo que demuestra que el polímero catiónico de PEI por sí solo no era efectivo. PD22-05 ("DDAC + Plurónico") mostró solo un efecto de muerte muy pequeño (aproximadamente 0,5 log de reducción en cantidades bacterianas) demostrando que el copolímero de bloque PEO-PPO con compuesto de amonio cuaternario, pero sin DBNPA, no era realmente efectivo. PD22-06 ("R20V + DDAC") mostró que DBNPA libre con una dosis relativa alta de compuesto de amonio cuaternario DDAC estaba teniendo un claro efecto biocida. Sin embargo, se requirió una dosificación más alta en comparación con la composición según esta invención ("GMC", PD22-01). Además, el "GMC" fue relativamente mejor en la muerte/inactivación de biopelículas.

Estos resultados demuestran que la composición de la presente invención tiene un rendimiento de muerte más allá de los componentes individuales de la composición. También se observó que la formulación "CMC" mostró una estabilidad de almacenamiento de al menos 18 semanas sin separaciones de fase ni cambios de color.

Ejemplo 3: estudio de permeabilización

Los ensayos de muerte/inactivación de biopelículas se realizaron con formulaciones micelares Plurónico + DBNPA, todas con un contenido de DBNPA del 9 %, pero con un contenido variable de DDAC. Se midió la eficacia de muerte. Además, se realizó un estudio de permeabilización de membrana con el conocido "método de captación de NPN" (Hancock y Wong. AAC Vol.26, No.1: 48-52. julio, 1984; Alakomi *et al.*, Weakening Effect of Cell Permeabilizers on Gram-Negative Bacteria Causing Biodeterioration, Appl Environ Microbiol. julio de 2006; 72 (7): 4695-4703) utilizando celdas de bacterias *Pseudomonas aeruginosa* como organismo modelo. En este método, la fluorescencia se mide después de la captación de 1-N-fenilnaftilamina (NPN) debido a la permeabilización de la membrana. El efecto de permeabilización de la membrana del compuesto de amonio cuaternario DDAC se estudió usando formulaciones similares a las del ensayo de muerte de biopelículas, pero excluyendo el DBNPA. La Figura 3 muestra los resultados representados gráficamente de estos dos estudios. Aquellas formulaciones que contienen DDAC que dieron la respuesta más fuerte con respecto a la captación de NPN (permeabilización más fuerte) también dieron la mejor amplificación sinérgica de la actividad biocida de DBNPA cuando se usaron para preparar las formulaciones micelares Plurónico + DBNPA + DDAC. Una de las composiciones con mejor rendimiento contenía DBNPA al 9 %, Plurónico al 27 %, DDAC al 4,5 % y PEI al 2,3 % (PD24-01). La actividad biocida aumentó fuertemente junto con las propiedades de permeabilización de la membrana de las formulaciones, confirmando que el compuesto de amonio cuaternario como parte de la formulación micelar Plurónico + DBNPA proporciona a la composición inventiva una eficacia de

muerte mejorada.

Ejemplo 4: comparación de la estabilidad y la eficacia biocida de diferentes composiciones de biocida

Este estudio se realizó con el fin de comparar la estabilidad y la eficacia de muerte de diferentes composiciones biocidas. La estabilidad se siguió visualmente a +25 °C y +45 °C, durante cinco semanas.

5 Las composiciones biocidas fueron inicialmente homogéneas e incoloras; la formación de fases y/o el color amarillento se consideraron como una estabilidad deficiente. La estabilidad y las composiciones de las formulaciones se muestran en la Tabla 2.

La eficacia de muerte biocida de las formulaciones se analizó utilizando el método de ensayo mencionado anteriormente. Los resultados se muestran en la Figura 4.

10 Tabla 2. Composiciones y estabilidad de las series de muestras PD 46, PD 47 y PD 48

Código de muestra	Fennosan R20	Copolímero de bloque *	Agua Milli-Q (+ ácido cítrico)	DBNPA	DDAC	Estabilidad a + 25 °C	Estabilidad a + 45 °C
PD 47-01		40 %	29 %	20 %	11 %	> 35 d	> 35 d
PD 47-02		34 %	36 %	20 %	10 %	19 d	9 d
PD 46-03		28 %	42 %	20 %	8 %	7 d	1d
PD 48-01		26 %	46 %	20 %	8 %	7 d	<1d
PD 48-03		24 %	49 %	20 %	7 %	7 d	<1d
PD 48-05		23 %	50 %	20 %	7 %	7 d	<1d
R20	100 %					> 35 d	> 35 d
* el copolímero de bloque fue Plurónico L35, L64, PE6800 o PE3500							

15 La Tabla 2 muestra que las composiciones biocidas con contenido bajo (<30%) de copolímero de bloque y bajo (<10%) de DDAC, pero con contenido alto (> 40%) de agua, sufrieron problemas de estabilidad, especialmente a +45 °C de almacenamiento. Por el contrario, se obtuvo una excelente estabilidad con aquellas composiciones que contenían una concentración alta (> 30%) de copolímero de bloque y alta (> 10%) de DDAC, pero baja (<40%) de agua.

La Figura 4 muestra que la eficacia de muerte biocida de PD 46-03 (<30% de copolímero de bloque) a 0,5 ppm, y tanto PD 47-01 como PD 47-02 (> 30% de contenido de copolímero de bloque) a 0,5 ppm fueron notablemente mejores que la de Fennosan R20 (un producto DBNPA a base de solvente) a 5 ppm.

20 Los resultados obtenidos indican que todas las nuevas composiciones de biocida micelares ensayadas con más del 20% de composición de copolímero de bloque fueron más efectivas que DBNPA a base de solvente (Fennosan R20). Además, todas las formulaciones mostraron varios días de estabilidad a +25 °C. Se obtuvo estabilidad a una mayor temperatura con contenido alto (> 30%) de copolímero de bloque, alto (> 10%) de DDAC y bajo (<40%) de agua. Esto es beneficioso para ciertas aplicaciones industriales.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de biocida que comprende un biocida en una micela, caracterizada porque la micela comprende
 - un copolímero de bloque que es un copolímero tribloque no iónico compuesto por una cadena hidrófoba central de polioxipropileno (poli(óxido de propileno)) flanqueada por dos cadenas hidrófilas de polioxietileno (poli(óxido de etileno)), y
 - un compuesto estabilizador de amonio cuaternario, y
 - en donde el biocida es 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamida (DBNPA).
2. La formulación de biocida de la reivindicación 1, caracterizada porque comprende además un permeabilizador de membrana.
3. La formulación de biocida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el compuesto estabilizador de amonio cuaternario se selecciona de cloruro de n-alkil-di-metilbencil amonio, cloruro de alquencil dimetiletil amonio, cloruro de didecil-dimetilamonio (DDAC) y bromuro de dimetildioctadecilamonio (DDAB).
4. La formulación de biocida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el permeabilizador de membrana comprende un polielectrolito catiónico, que se selecciona preferiblemente de poli(cloruro de dialildimetilamonio) (PDADMAC), polietilenimina (PEI), politeraminas y poliaminas.
5. La formulación de biocida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el permeabilizador de membrana comprende un agente quelante.
6. La formulación de biocida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque contiene aproximadamente un 10-25 % (p/p) del biocida.
7. La formulación de biocida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque contiene del 15 al 50 % (p/p) del copolímero de bloque, preferiblemente del 30 al 50 % (p/p).
8. La formulación de biocida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque contiene aproximadamente un 5-30 % (p/p) del compuesto estabilizador de amonio cuaternario.
9. La formulación de biocida de cualquiera de las reivindicaciones 2-8, caracterizada porque está presente como una formulación de dos componentes que comprende un primer componente que comprende el permeabilizador de membrana y un segundo componente que comprende el biocida, el copolímero de bloque y el compuesto estabilizador de amonio cuaternario.
10. Un método para controlar biopelículas mediante la eliminación y/o prevención de microorganismos en un entorno acuoso, caracterizado porque el método comprende proporcionar la formulación de biocida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, y dosificar dicha formulación de biocida en el entorno acuoso.
11. El método de la reivindicación 10, caracterizado porque el entorno acuoso es un sistema de agua industrial.
12. El método de la reivindicación 11, caracterizado porque el sistema de agua industrial se selecciona del sistema de fabricación de papel, sistemas de agua de enfriamiento tales como torres de enfriamiento, unidades de enfriamiento de circuito abierto y cerrado, sistemas de agua industrial sin tratar, sistemas de distribución de agua potable, sistema de saneamiento de agua potable, sistemas de producción de petróleo o de recuperación tal como sistema de agua de campos petroleros, fluidos de perforación, sistema de almacenamiento de combustible, sistemas de trabajo de metales, intercambiadores de calor, reactores, equipos utilizados para almacenar y manipular líquidos, calderas y unidades generadoras de vapor relacionadas, radiadores, unidades de evaporación instantánea, unidades de refrigeración, equipos de ósmosis inversa, unidades de lavado de gases, altos hornos, unidades de evaporación de azúcar, plantas de energía de vapor, unidades geotérmicas, unidades de enfriamiento nuclear, unidades de tratamiento de agua, unidades de recirculación de piscinas, circuitos de minería, unidades de calentamiento de circuito cerrado, fluidos de mecanizado utilizados en operaciones tales como, por ejemplo, perforación, taladro, molienda, escariado, estirado, brochado, torneado, corte, costura, trituración, corte de roscas, conformado, hilado y laminado, fluidos hidráulicos y fluidos de enfriamiento.
13. El método de la reivindicación 11, caracterizado porque el sistema de agua industrial se selecciona entre el agua circulante de una máquina de pulpa, papel o cartón y el agua industrial sin tratar.
14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 11-13, caracterizado porque la formulación de biocida se dosifica a una concentración de 0,3-50 ppm, preferiblemente 1-5 ppm.

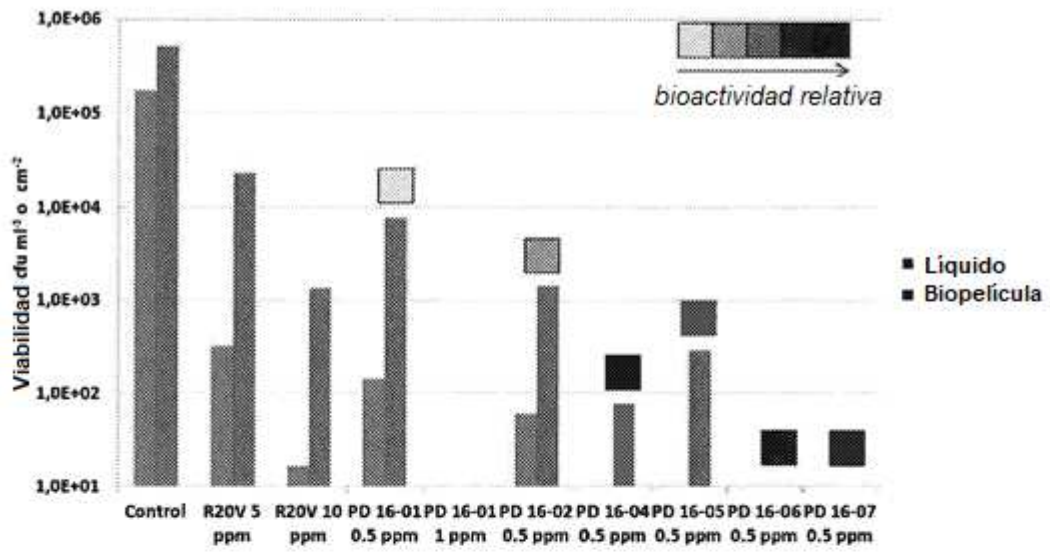


Fig. 1

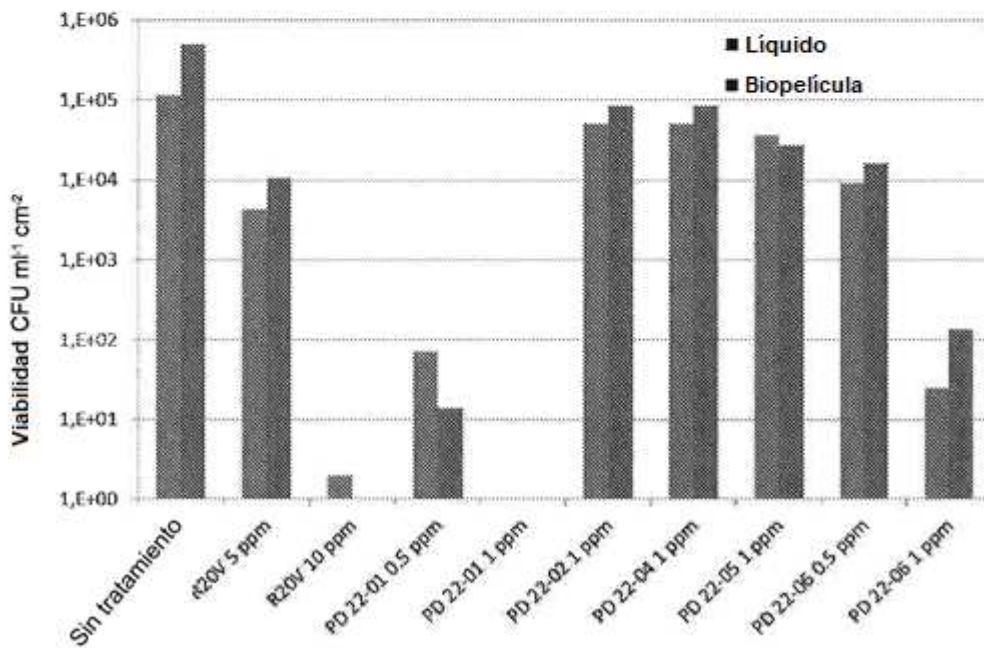


Fig. 2

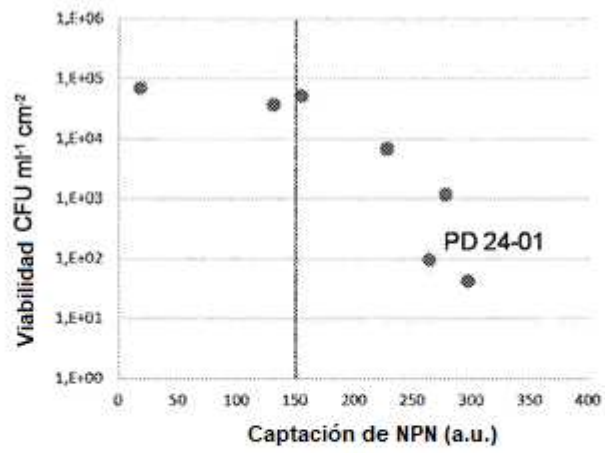


Fig. 3

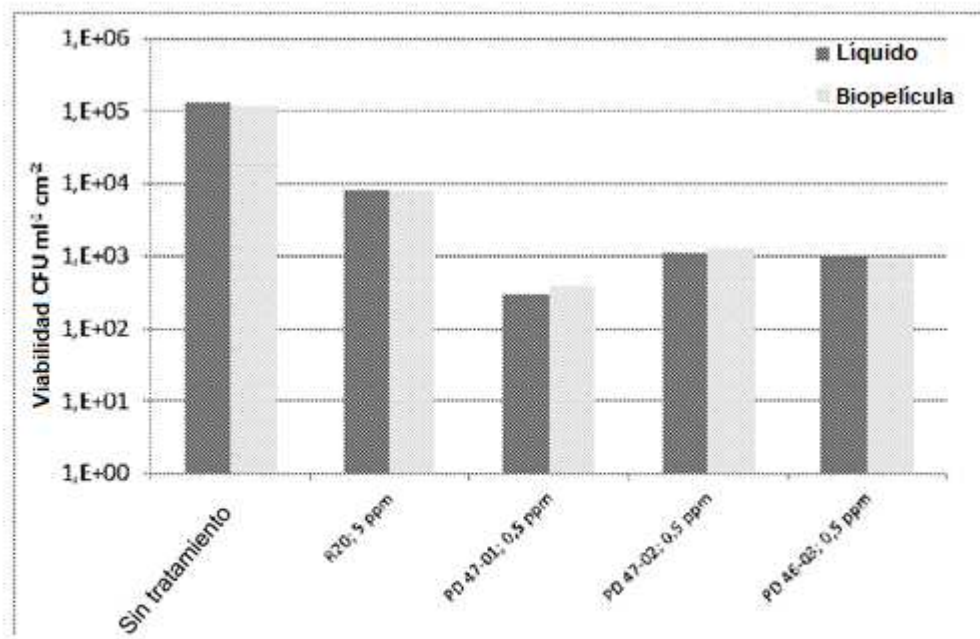


Fig. 4