



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101993900312412
Data Deposito	16/07/1993
Data Pubblicazione	16/01/1995

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	02	B		

Titolo

COMPOSIZIONE PER IL CONTROLLO DI INCROSTAZIONI E DEPOSITI DA
MACROINVERTEBRATI IN AMBIENTI ACQUATICI E RELATIVO METODO.

DESCRIZIONE

a corredo di una domanda di brevetto per invenzione avente per titolo:

"Composizione per il controllo di incrostazioni e depositi da macro-invertebrati in ambienti acquatici e relativo metodo"

a nome: NALCO ITALIANA S.p.A.

Inventori: Ignazio Sergio Di Simone, Gianfranco Mazzani, Walter Chiesa, Salvatore Paolillo

La presente invenzione concerne una composizione per il controllo di incrostazioni e depositi da macroinvertebrati in ambienti acquatici, nonché un metodo per il controllo degli stessi. Più in particolare, l'invenzione riguarda il controllo dell'insediamento e della crescita su superfici a contatto con l'acqua sia marina che dolce di quegli organismi pluricellulari invertebrati che, almeno allo stadio adulto, vivono saldamente ancorati a dette superfici, come ad esempio molti molluschi bivalvi, alcuni crostacei come i cirripedi e alcuni anellidi come i serpulidi.

E' noto che l'infestazione delle superfici sommerse sia di strutture fisse che di natanti da parte di organismi acquatici invertebrati rappresenta un problema di soluzione estremamente difficile, che diventa particolarmente critico quando ad esserne interessate sono le superfici interne di impianti che utilizzano l'acqua come fluido di raffreddamento, prelevandola direttamente dall'esterno.

Sia nei sistemi di raffreddamento a ciclo aperto, dove l'acqua attraversa l'impianto una sola volta per essere poi reimpressa

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

nell'ambiente, sia in quelli a ciclo chiuso, in cui viene introdotta necessariamente dell'acqua di reintegro, gli organismi infestanti entrano sospesi nel plancton allo stadio larvale, quando sono di dimensioni sufficientemente piccole da oltrepassare i dispositivi di filtrazione posti all'ingresso del sistema e, trovando condizioni ambientali favorevoli, si insediano e proliferano all'interno delle condutture. Allo stadio adulto, essi possono accumularsi in spessori dell'ordine dei metri causando notevoli perdite di carico e favorendo la corrosione, possono ostruire i tubi dei condensatori e accumularsi sulle superfici di scambio termico riducendo l'efficienza di tali apparecchiature, intasare valvole e ugelli, danneggiare pompe e turbine, bloccare i sistemi di distribuzione d'acqua di emergenza, come ad esempio i circuiti antincendio.

I fenomeni di cui sopra, che vengono frequentemente indicati con il termine generale "macrofouling" per evidenziarne l'origine non da microorganismi, ma da forme di vita pluricellulari, si producono sia in ambienti fluviali e lacustri che in ambienti marini e negli estuari, ma gli organismi che ne sono responsabili sono diversi nei due casi, sia per il tipo che per il numero delle specie coinvolte. Nell'acqua dolce, gli invertebrati all'origine del macrofouling sono essenzialmente due tipi di molluschi bivalvi, la *Corbicula fluminea* (Asiatic clam) e la *Dreissena polymorpha* (Zebra mussel); quest'ultima, originaria dell'Europa, ha invaso negli ultimi anni i Grandi Laghi del Nord America e, a causa della sua maggiore prolificità, sarà probabilmente ovunque il principale macroinvertebrato infestante di acqua dolce. Nell'acqua di mare le

Ing. Barzano & Zanardo
Roma spa

specie coinvolte sono certamente più numerose, e il problema del macrofouling è generalizzato. Tra i molluschi il più diffuso è il mitile o cozza (*Mytilus edulis*, diffuso in Nord America e Nord Europa, e *Mytilus galloprovincialis*, diffuso nel bacino mediterraneo), mentre una varietà di altri macroinvertebrati è non meno presente: alcuni anellidi della classe dei policheti, noti come serpulidi o vermi a tubo, che creano incrostazioni tubolari di carbonato di calcio, alcuni artropodi della classe dei crostacei, i cirripedi (barnacle), di cui i più diffusi sono i balanidi (acorn barnacle: *Balanus eburneus*, *Balanus improvisus*), che passando allo stadio adulto formano, in poche ore, un guscio calcareo di forma troncoconica saldamente ancorato ad un qualunque substrato solido, compresi i gusci di altri animali, e ancora, alcuni celenterati della classe degli idrozoi, alcuni briozoi o polizoi, alcuni poriferi come le spugne.

Per quanto riguarda l'Italia, è largamente praticato l'utilizzo di acqua di mare come fluido di raffreddamento industriale, specialmente in installazioni costiere come impianti siderurgici, centrali di potenza e raffinerie, impianti che richiedono grandi volumi di acqua di raffreddamento. E' evidente che l'abbondante popolazione di macroinvertebrati marini crea problemi di intasamento e corrosione tali da riflettersi in perdite economiche notevoli, per la riduzione dell'efficienza degli impianti, per i danni veri e propri, e per i rischi di malfunzionamento di apparati di sicurezza.

Per contrastare la proliferazione di macroinvertebrati sulle superfici solide immerse, oltre ai possibili interventi meccanici, si

Ing. Barzani & Barzani
Roma spa

utilizzano prodotti chimici in grado di esercitare un'azione tossica più selettiva possibile sulle specie responsabili del macrofouling, con lo scopo di provocarne la morte e il distacco e/o di inibirne l'insediamento nelle zone trattate. E' da notare che, sebbene spesso tali sostanze siano identificate con il termine generico di "biocidi", non si tratta necessariamente delle stesse sostanze che vengono utilizzate contro le forme di vita unicellulari come funghi, batteri, lieviti, alghe, cioè i prodotti microbiocidi, antisettici o disinfettanti. E' evidente infatti che gli organismi superiori, con un più elevato grado di organizzazione biologica, sono in grado di resistere a un gran numero di agenti che risultano tossici per i microorganismi, e che la tossicità dei vari agenti chimici, già altamente selettiva su organismi unicellulari, lo diventa ancora di più sulle forme di vita superiori. Pertanto, ogni riferimento nel seguito a sostanze biocide in relazione alla presente invenzione è da intendersi come diretto a sostanze in grado di risultare tossiche, agli appropriati dosaggi, sugli organismi pluricellulari responsabili del macrofouling.

Notevole diffusione come biocida per l'uso in questione ha il cloro, applicato sia in forma gassosa che come ipoclorito di sodio e/o di calcio, o come biossido; altri biocidi di tipo analogo (biocidi ossidanti) che sono stati proposti sono il perossido di idrogeno, l'ozono, e combinazioni di cloro con sali di bromo.

Perchè risulti efficace, la clorazione dell'acqua deve essere effettuata in maniera da mantenere sempre una concentrazione residua nell'acqua non inferiore a 0,1-0,2 mg/l, anche perché taluni

Ing. Barzano & Barano
Roma, 1961

molluschi, allo stadio adulto, individuano la presenza dell'ossidante e chiudono le valve o smettono di sifonare l'acqua per lunghi periodi di tempo, proteggendosi così dall'azione tossica del prodotto. Ciò si traduce nella necessità di alimentare l'ossidante in continuo o quotidianamente per un certo numero di ore, e in alcuni casi nemmeno una somministrazione intermittente di alcune ore al giorno si è dimostrata efficace. Pertanto, i costi di investimento e di esercizio per l'impianto di alimentazione sono notevoli, come pure i rischi connessi alla manipolazione di tali sostanze potenzialmente pericolose, e gli inevitabili danni dovuti alla corrosione.

Ma il motivo principale per cui i biocidi ossidanti, e in primo luogo il cloro, non costituiscono una soluzione ottimale al problema del macrofouling è nella loro tossicità residua, che si esercita indiscriminatamente su tutte le forme di vita acquatiche, e che è o può essere alla base di restrizioni legislative sul loro rilascio nell'ambiente.

Tra gli agenti proposti per il controllo delle incrostazioni da macroinvertebrati che rientrano nella classe dei biocidi non ossidanti hanno avuto notevole diffusione in passato i composti organometallici, e in particolare i composti di stagno organico, tra cui l'ossido di tributilstagno, noto come TBTO, che si era affermato per l'economicità, l'efficacia e la facilità di manipolazione. Tuttavia, problemi di tutela dell'ambiente ne hanno imposto l'eliminazione: si ritiene, infatti, che un accumulo di metalli pesanti provochi un danno insostenibile all'ecosistema limitrofo all'installazione industriale trattata, e rappresenti un pericolo anche per l'uomo.

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

Numerosi altri biocidi non ossidanti sono stati proposti per la lotta ai macroinvertebrati, anche se pochi di essi sono arrivati alla fase commerciale: la letteratura riporta, ad esempio, varie ammine alifatiche secondarie e terziarie, derivati di dibenzil- e difenil-eteri, derivati difenilamminici, glutaraldeide, nicotinammide e, soprattutto, sali di ammonio quaternario. Ad esempio, il documento JP-A 47039566, pubblicato nel 1972, descrive una vernice contro le incrostazioni da organismi acquatici contenente sali di ammonio quaternario, mentre il documento JP-A 49081535, pubblicato nel 1974, descrive l'uso di cloruri di ammonio quaternario come agenti contro il macrofouling in circuiti di raffreddamento industriali; più recentemente, i documenti US-A 5128050 ed EP-A 457439 descrivono l'uso di un didecildimetilammonio alogenuro contro il macrofouling causato da *Dreissena polymorpha*. Sali di ammonio quaternario sono stati anche proposti in combinazione con altri biocidi non ossidanti, come è il caso, ad esempio, del documento EP-A 254403, riguardante un sale di alchilguanidinio idrosolubile, preferibilmente in combinazione con un cloruro di alchil-dimetil-benzilammonio.

Il vantaggio principale offerto da detti agenti rispetto ai biocidi ossidanti è quello di rendere possibile una somministrazione discontinua e concentrata nel tempo, ad esempio per un certo numero di ore (o giorni) mediamente non più di una volta al mese, normalmente concentrando le applicazioni nelle stagioni di maggiore attività riproduttiva e di proliferazione dei macroinvertebrati. E' chiaro per quanto precedentemente detto che ciò comporta notevoli benefici

Ing. Barrano & Barardo
Roma s.p.a.

economici rispetto all'uso di agenti ossidanti.

Inoltre, i composti biocidi non ossidanti di tipo cationico hanno la proprietà di restare adsorbiti su qualsivoglia superfici, cioè sia sulle superfici dell'impianto che sui solidi sospesi presenti nell'acqua, e ciò favorisce da una parte l'attività biocida e di inibizione dell'insediamento dei macroinvertebrati, e dall'altra permette una efficiente detossificazione dell'ambiente acquatico, perchè i composti adsorbiti sui solidi sospesi vengono facilmente inattivati e quindi biodegradati. Uno dei punti più delicati connessi con l'uso di composti organici come quelli citati è infatti quello della biodegradabilità.

La presente invenzione ha lo scopo di fornire un prodotto di tipo non ossidante per il controllo del macrofouling che presenti elevata efficacia nei confronti delle specie animali responsabili di tale fenomeno, nel seguito identificate come "specie bersaglio" o "targeted", ma non sia nocivo per le altre forme di vita acquatiche, cioè sia quanto più possibile inattivo nei confronti delle specie "non targeted", e sia facilmente biodegradabile.

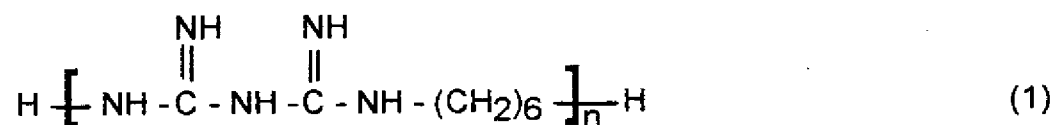
A tale scopo si propone di utilizzare una combinazione di sale di ammonio quaternario con uno specifico composto policationico noto come poliesametenbiguanide (poli(imminocarbonimmidoilimminocarbonimmidoilimmino-1,6-esandiile), o anche poliesanide, o poli(guanilguanidina), o poli(amidinoguanidina), o poli(imidodicarbonimidilidiammide)), o con un sale idrosolubile dello stesso. Tale composto, nella forma di cloridrato, è utilizzato come battericida, e sono note formulazioni disinfettanti e microbiocide che lo contengono, in

Ing. Barrano G. Riccardo
Roma s.p.a.

combinazione con altri componenti tra cui sali di ammonio quaternario. Esempi di tali formulazioni sono descritti in DE-A 3542516 e in DE-A 3619748, concernenti composizioni disinfettanti attive su *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, ecc..

La poliesanide risulta attiva in un range di pH che comprende quello dell'acqua di mare, e la combinazione proposta ha dimostrato una potente attività tossica nei confronti delle specie targeted (macroinvertebrati) nonché un notevole sinergismo tra i due componenti, ma è risultata praticamente innocua per altre specie acquatiche non-targeted, come ad esempio i piccoli crostacei natanti.

Forma pertanto oggetto specifico della presente invenzione una composizione per il controllo di incrostazioni e depositi da macroinvertebrati in ambienti acquatici comprendente uno o più sali idrosolubili di ammonio quaternario, caratterizzata dal fatto di comprendere, inoltre, una o più poliesametenbiguanidi di formula (1):



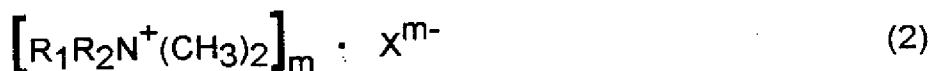
in cui n è un numero intero compreso tra 2 e 20, preferibilmente con un valore di picco pari a 11-12, o un relativo sale idrosolubile.

In una forma di realizzazione preferita, la composizione contiene poliesametenbiguanide in forma di cloridrato. Quest'ultimo prodotto, che è risultato compatibile con i sali ammonici quaternari, è disponibile sul mercato ad esempio come soluzione acquosa al 20% in peso (con il marchio di Vantocil IB della I.C.I.) e viene venduto come battericida ad ampio spettro, particolarmente indicato per l'uso

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

nell'industria alimentare grazie alla sua bassissima tossicità.

La formulazione dell'invenzione contiene preferibilmente un sale di ammonio quaternario di formula (2):



in cui R_1 è un radicale alchilico C_8-C_{18} , R_2 è un gruppo metilico, un radicale alchilico C_8-C_{18} oppure un radicale benzilico, X è un anione scelto tra Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} , HSO_4^- , NO_3^- , CH_3COO^- , e $CH_3CH_2COO^-$ e m è il numero di cariche negative di tale anione. Esempi preferiti di tale sale sono i cloruri, tra cui in primo luogo il didecil-dimetilammonio cloruro, venduto con il marchio Bardac 22 come soluzione al 50% di attivo in acqua e isopropanolo (al 9-10%).

Altri esempi di cloruri di ammonio quaternario di formula (2) vantaggiosamente utilizzabili per gli scopi dell'invenzione sono i cloruri di alchil-dimetil-benzilammonio in cui il radicale alchilico è ricavato da acidi grassi di cocco grezzi o distillati, oppure è un radicale $C_{13}-C_{15}$ da prodotti di sintesi, e i cloruri di alchil-trimetilammonio in cui il radicale alchilico è ricavato da acidi grassi di cocco grezzi o distillati. Ulteriori sali adatti per l'uso secondo l'invenzione non rientranti nella formula (2) sono i cloruri di 1-N-idrossietil-1-N-benzil-alchilimidazolinio, in cui il radicale alchilico è ricavato da acidi grassi di cocco grezzi o distillati, oppure è un radicale $C_{13}-C_{15}$ da prodotti di sintesi.

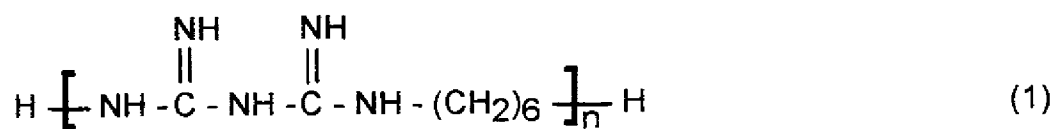
La formulazione preferita per i biocidi non ossidanti dell'invenzione è quella che comprende come agenti attivi didecil-dimetilammonio cloruro e poli(esametilenbiguanide) cloridrato in cui n è compreso tra 2 e 20 con un picco a 11-12.

Ing. Barrano & Barardo
Roma s.p.a.

Il rapporto ponderale tra i due agenti è compreso tra 1:1 e 5:1, il rapporto preferito essendo pari a 4:1 circa, e gli agenti possono essere vantaggiosamente in soluzione acquosa o idroalcolica, o in un altro adatto solvente organico. Una tale composizione si è dimostrata estremamente efficace nel controllo del macrofouling in ambiente marino, e in modo particolare nei confronti di molluschi, balanidi e serpulidi.

Gli agenti biocidi secondo l'invenzione possono essere alimentati al sistema acquoso da trattare non solo combinati in una formulazione unitaria, ma anche come agenti separati, purché la somministrazione sia contemporanea o strettamente concatenata.

Forma pertanto ulteriormente oggetto dell'invenzione un metodo per il controllo di incrostazioni e depositi da macroinvertebrati in ambienti acquatici consistente nell'aggiungere all'acqua da trattare, in una formulazione unica o separatamente, una quantità efficace di uno o più sali idrosolubili di ammonio quaternario e una quantità efficace di una o più poliesametenilbiguanidi di formula (1):



in cui n è un numero intero compreso tra 2 e 20, o un relativo sale idrosolubile, gli agenti preferiti essendo quelli sopra specificati, nei rapporti ponderali già indicati.

Preferibilmente, la quantità complessiva di agenti alimentata per ogni trattamento è tale da ottenere nell'acqua di mare una concentrazione totale di detti agenti compresa tra 0,1 e 50 mg/l. Per un

Ing. C. Barriano & C. Zanardo
Roma s.p.a.

risultato ottimale, i trattamenti possono essere effettuati da 4 a 12 volte l'anno, normalmente ravvicinati nei periodi riproduttivi e di maggiore proliferazione, per una durata di 6-25 ore ciascuno.

La formulazione e il metodo contro il macrofouling proposti secondo l'invenzione hanno il vantaggio di offrire una completa bioeliminazione delle sostanze utilizzate, che vengono dapprima adsorbite sulle superfici solide e sulle particelle in sospensione e quindi lentamente degradate a dare prodotti finali inorganici. In particolare, le analisi di biodegradabilità primaria secondo la norma OECD-confirmatory test e la norma OECD modified, ovvero OECD-301E, hanno dato per il didecil-dimetilammonio cloruro hanno dato un risultato medio del 91% già a 24 giorni.

L'altro aspetto particolarmente vantaggioso per le composizioni secondo l'invenzione è, come anticipato, la loro bassa tossicità sui mammiferi e altri animali, nonché sulle specie acquatiche non targeted, cosa che rende non pericolosa la manipolazione dei prodotti e limitato l'impatto ambientale. In particolare, il didecil-dimetilammonio cloruro ha mostrato una tossicità sistemica praticamente nulla per una varietà di specie animali e nessuna mutagenicità, mentre per la poli(esametilenebiguanide) cloridrato (che, si ripete, viene usata nell'industria alimentare) il valore di LD₅₀ sul ratto è di 5000 mg/kg e l'MSC a 96 ore sulla trota brown fingerling è 10 mg/l. Per quanto riguarda la combinazione dei due agenti, nel rapporto preferito essa ha superato i tests di tossicità sui pesci previste dalla legislazione vigente sugli scarichi in mare.

Ing. Barzani G. Barzani
Roma s.p.a.

Le caratteristiche fondamentali dei prodotti dell'invenzione, cioè la notevole attività nei confronti delle specie acquatiche responsabili del macrofouling e, al contrario, la scarsa attività sulle specie non targeted sono esposte nel seguito a titolo esemplificativo, con riferimento ad un caso sperimentale specifico.

Attività della formulazione secondo l'invenzione in acque marine

Con riferimento al bacino mediterraneo, come maggiori responsabili della riduzione di efficienza e sicurezza degli impianti industriali aventi scambiatori di calore raffreddati con acqua marina sono state considerate le seguenti specie bersaglio:

Mytilus galloprovincialis (allo stadio di veliger)

Serpulidae marini (larve)

Il *Mytilus galloprovincialis* è considerato da molti autori una varietà del *Mytilus edulis*, specie che vive nell'Atlantico e da cui il mitile mediterraneo si discosta per alcune caratteristiche secondarie.

Gli stadi dello sviluppo larvale del *Mytilus galloprovincialis* sono i seguenti: 1.- uovo, 2.- trocofora, 3.- prodissoconca, 4.- veliger, 5.- pediveliger, 6.- chissoconca, 7.- seme.

Il veliger ha dimensioni comprese tra 20 e 40 μm , e si muove nell'acqua per mezzo del "velum", un complesso di ciglia che emergono dalla superficie delle cellule e che vengono agitate ritmicamente dai muscoli adduttori. Allo stato di pediveliger, la larva inizia a formare le valve. In capo a quattro settimane dalla fecondazione, essa raggiunge lo stadio di seme e comincia ad ancorarsi ad una qualsiasi superficie per mezzo di una massa di filamenti, il "bisso", prodotti dalla

Ing. Barrano & Zanardo
Roma s.p.a.

solidificazione di una sostanza secreta da un'apposita ghiandola. A questo punto la fase di vita planctonica è terminata, e inizia la fase di vita bentonica.

In generale, è da notare che lo sviluppo e la crescita dei mitili sono fortemente influenzati dai parametri ambientali, come la salinità dell'acqua, la temperatura e l'ossigeno disciolto.

Come già notato, i serpulidi sono, insieme ai cirripedi, i più diffusi organismi responsabili di problemi di macrofouling negli impianti industriali raffreddati con acqua di mare. Le specie più note sono *Serpula concharum*, *Serpula lobiancoi*, *Serpula massiliensis*, *Serpula vermicularis*. Gli effetti principali dell'infestazione da parte di tali organismi sono una diffusa accelerazione dei fenomeni di corrosione e la crescita di masse calcaree di depositi, che possono arrivare ad ostruire completamente le condutture. Alcune specie di serpulidi (*Hydroides elegans*, *Ficopotamus enigmaticus*) possono depositare strati di carbonato di calcio dello spessore di un metro un anno. E' anche da notare che i mari interni, più ricchi di sostanze nutrienti, soffrono di una crescita più veloce rispetto agli oceani.

Un aspetto particolarmente critico delle infestazioni da serpulidi è nel fatto che molte specie sono resistenti al cloro.

Le condizioni sperimentali adottate sia sui veliger di *Mytilus galloprovincialis* che sulle larve di serpulidi sono le seguenti. Vengono preparate le necessarie beute di Erlenmeyer, a seconda del numero di campioni e di dosaggi da valutare, e in ciascuno viene versata una quantità definita di acqua marina. Quindi si procede alla

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

concentrazione delle larve da utilizzare per l'inoculo. Tale operazione è necessaria al fine di dosare accuratamente un numero elevato di organismi nell'acqua preparata per il test.

La concentrazione viene ottenuta come segue: -) si filtra l'acqua contenente le larve su una rete planctonica da 40 μm e si lava la rete in una piccola quantità d'acqua (110-200 ml a seconda del numero di campioni da inoculare); -) si dosano 5-10 ml di questo concentrato in ciascuna beuta. Tale procedura consente di avere un numero sufficientemente elevato di organismi in ciascun campione; in pratica si sono dosate nei tests eseguiti tra 4000 e 8000 larve per 100 ml di acqua marina.

Successivamente vengono aggiunti nelle beute i differenti agenti chimici ai differenti dosaggi, come indicato nelle tabelle che seguono, lasciando due campioni come controllo. Dopo una permanenza a 22 °C per il tempo di contatto indicato nelle tabelle i campioni vengono esaminati al microscopio per la conta degli organismi vivi e/o morti. I campioni in cui la mortalità non è totale vengono filtrati su una rete planctonica da 40 μm e diluiti nuovamente con una quantità equivalente di acqua marina fresca, allo scopo di valutare nel tempo la mortalità ritardata. Ciò viene fatto con osservazioni successive e periodiche al microscopio.

Nelle tabelle 1 e 2 seguenti sono esposti i risultati di alcune prove effettuate rispettivamente su larve di serpulidi marini e su veliger di *Mytilus galloprovincialis*. Gli agenti somministrati sono i seguenti:

SX1 didecil-dimetilammonio cloruro

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

SX2	poli(esametilenbiguanide) cloridrato
SX1 + SX2	didecil-dimetilammonio cloruro più poli(esametilenbiguanide) cloridrato
SX4	glutaraldeide
SX1 + SX4	didecil-dimetilammonio cloruro più glutaraldeide
SX5	2-bromo-2-nitropropan-1,3-diolo

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

TABELLA 1

Tests di mortalità ritardata su veliger di *Mytilus galloprovincialis*

TEMPO DI ESPOSIZIONE : 6 ore

AGENTE	DOSAGGIO (in composto attivo) (mg/l)	MORTALITA' %			
		Tempo di osservazione (*)			
		(ore)			
		0,5	6	21	24
SX1	0,65	20	100	100	100
	0,6	0	100	100	100
	0,55	0	100	100	100
	0,5	0	95	100	100
	0,45	0	80	80	80
	0,4	0	20	20	20
SX2	2,0	10	70	80	80
	4,0	70	100	100	100
	8,0	100	95	100	100
	12,0	100	100	100	100
SX1+SX2	0,35+0,7	0	90	95	95
	0,40+0,3	0	95	100	100
	0,40+0,6	0	90	100	100
	0,45+0,3	0	95	100	100
	0,50+0,15	0	95	100	100
	0,50+0,3	0	95	100	100
SX4	3,75	30	100	100	100
	7,5	100	100	100	100
SX1+SX4	0,40+0,25	0	80	95	95
	0,35+3,75	0	90	90	90
	0,30+0,75	0	80	85	85
controllo 1		0	0	0	0
controllo 2		0	0	0	0

(*) Tempi cumulativi, a partire dall'inoculo delle larve nell'acqua marina contenente l'agente o la miscela di agenti

Ing. Barrano & Ranardo
Roma s.p.a.

TABELLA 2

Tests di mortalità ritardata su larve di serpulidi

TEMPO DI ESPOSIZIONE : 150 min.

AGENTE	DOSAGGIO (in composto attivo) (mg/l)	MORTALITA' %		
		Tempo di osservazione (*)		
		10 (min.)	150	1080
SX1	1,5	100	100	100
	1,0	90	100	100
	0,5	90	100	100
	0,3	80	80	80
	0,1	0	0	0
SX2	1,5	100	100	100
	1,0	100	100	100
	0,5	95	100	100
	0,3	80	80	80
	0,1	0	0	0
SX1+SX2	1,2+0,3	100	100	100
	0,8+0,2	100	100	100
	0,6+0,15	100	100	100
	0,4+0,1	90	100	100
	0,3+0,1	80	90	100
	0,24+0,06	80	90	95
	0,08+0,02	0	0	0
SX5	1,5	70	80	80
controllo 1		0	0	0
controllo 2		0	0	0

(*) Tempi cumulativi, a partire dall'inoculo delle larve nell'acqua marina contenente l'agente o la miscela di agenti

Ing. Barrano & Ranardo
Roma s.p.a.

I risultati riportati mostrano in primo luogo le migliori prestazioni della formulazione secondo l'invenzione rispetto ad altri agenti non ossidanti della tecnica anteriore, come ad esempio la glutaraldeide (SX4) e il 2-bromo-2-nitro-propan-1,3-diolo (SX5). E' da notare che nemmeno la combinazione di glutaraldeide con lo stesso sale di ammonio quaternario preferito dell'invenzione (SX1+SX4) si è dimostrata soddisfacente.

Al contrario, i due composti dell'invenzione mostrano un notevole sinergismo, come si può notare confrontando i dati relativi al sale di ammonio quaternario da solo (SX1) e alla poliesametenbiguanide da sola (SX2) con quelli relativi alla combinazione. L'effetto sinergico dei due composti attivi della formulazione secondo l'invenzione può essere quantificato utilizzando la relazione di Kull, Eisman et al. (F. C. Kull, P. C. Eisman, H. D. Sylvestrowicz e R. L. Mayer, Applied Microbiology, 9, 538, (1961)) sul sinergismo:

$$\frac{Q_A}{Q_a} + \frac{Q_B}{Q_b} = SI \text{ (indice di sinergismo)}$$

in cui:

Q_A = dosaggio di composto A, da solo, che produce il punto finale
(ad esempio, una mortalità del 100 % dopo un certo tempo di esposizione)

Q_B = dosaggio di composto B, da solo, che produce lo stesso effetto

Q_a = dosaggio di composto A nella miscela di (A+B) che produce lo stesso effetto

Ing. Barrano & Barardo
Roma s.p.a.

Q_b = dosaggio di composto B nella miscela di (A+B) che produce lo stesso effetto

Per $SI < 1$ si ha sinergismo,

per $SI = 1$ si ha additività degli effetti e

per $SI > 1$ si ha antagonismo.

Sulla base di questa relazione, è evidente come le miscele di SX1+SX2 agiscano sinergicamente nell'esercitare un'azione letale sui macroinvertebrati considerati.

Come già notato, uno dei requisiti vantaggiosi della formulazione secondo l'invenzione è la bassa tossicità nei confronti delle specie non targeted, cosa che può essere dimostrata prendendo in esame una specie di piccoli crostacei marini decapodi del sottordine Natantia, l'*Artemia salina* (o brine shrimp). Secondo Liebmann (Handbuch der Frischwasser und Abwasserbiologie, 1951, Munich) questi gamberetti sono caratteristici di acque ad alto tenore di salinità, come sono appunto quelle del bacino mediterraneo.

L'*Artemia salina* è spesso utilizzata come indicatore biologico in grado di evidenziare la presenza di agenti tossici nelle acque, a causa della sua sensibilità a tali agenti. Nella tabella 3 seguente sono esposti i risultati di prove condotte su larve del crostaceo secondo la stessa procedura precedentemente descritta per le specie targeted, utilizzando il sale di ammonio quaternario da solo oppure la combinazione secondo l'invenzione, entrambi a vari dosaggi.

Ing. Barzani & Zanardo
Roma s.p.a.

TABELLA 3
Tests di mortalità ritardata su larve di Artemia salina

AGENTE	DOSAGGIO (in composto attivo) (mg/l)	Tempo di contatto (ore)	Tempo di osservazione (ore)	MORTALITA' %
SX1	1,95	8	8	10,0
SX1+SX2	1,5+0,45	8	8	1,0
SX1	1,95	20	20	90,0
SX1+SX2	1,5+0,45	20	20	40,0
SX1	0,78	20	20	1,0
SX1+SX2	0,74+0,45	20	20	0,0
controllo 1		20	20	0,0
controllo 2		20	20	0,0

I dati sopra riportati indicano che la combinazione SX1+SX2 secondo l'invenzione, a dosaggi e tempi di contatto molto superiori a quelli necessari per produrre la mortalità totale nelle specie targeted (*Mytilus galloprovincialis* e *Serpulidae* marini) sono del tutto innocui sulla specie non targeted (*Artemia salina*).

La presente invenzione è stata descritta con riferimento particolare ad alcune sue forme di realizzazione specifiche, ma è da intendersi che variazioni e modifiche potranno essere ad essa apportate dagli esperti nel ramo senza per questo uscire dal relativo ambito di protezione.

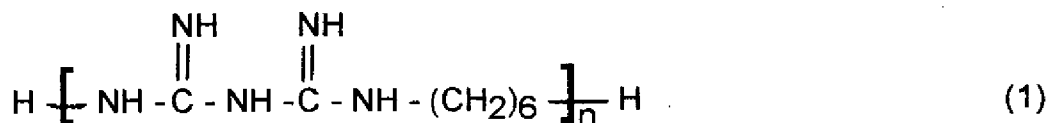
UN MANDATO
per se e per gli altri
Marina Bandiera
(N° d'iscrizione)



Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

RIVENDICAZIONI

1. Composizione per il controllo di incrostazioni e depositi da macroinvertebrati in ambienti acquatici comprendente uno o più sali idrosolubili di ammonio quaternario, caratterizzata dal fatto di comprendere, inoltre, una o più poliesametenbiguanidi di formula (1):

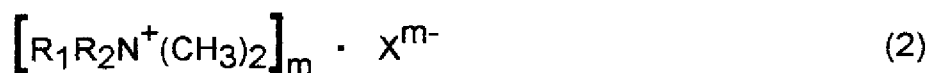


in cui n è un numero intero compreso tra 2 e 20, o un relativo sale idrosolubile.

2. Composizione secondo la rivendicazione 1 in cui il valore di picco di n è 11-12.

3. Composizione secondo le rivendicazioni 1 o 2 comprendente un cloridrato del composto di formula (1).

4. Composizione secondo ognuna delle rivendicazioni 1-3 comprendente un sale di ammonio quaternario di formula (2):



in cui R₁ è un radicale alchilico C₈-C₁₈, R₂ è un gruppo metilico, un radicale alchilico C₈-C₁₈ oppure un radicale benzilico, X è un anione scelto tra Cl⁻, Br⁻, SO₄⁼, HSO₄⁻, NO₃⁻, CH₃COO⁻, e CH₃CH₂COO⁻ e m è il numero di cariche negative di tale anione.

5. Composizione secondo la rivendicazione 4 in cui detto sale di ammonio quaternario è un cloruro.

6. Composizione secondo la rivendicazione 5 in cui detto sale di ammonio quaternario è didecil-dimetilammonio cloruro.

7. Composizione secondo la rivendicazione 6 comprendente

Ing. Barzani & Ranaldo
Roma s.p.a.

didecil-dimetilammonio cloruro e poli(esametenbiguanide) cloridrato in cui n è compreso tra 2 e 20, con un valore di picco pari a 11-12.

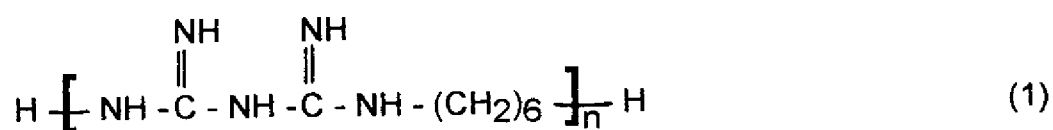
8. Composizione secondo la rivendicazione 7 in cui il rapporto ponderale tra detto didecil-dimetilammonio cloruro e detto poli(esametenbiguanide) cloridrato è compreso tra 1:1 e 5:1.

9. Composizione secondo la rivendicazione 8 in cui detto rapporto è pari a 4:1.

10. Composizione secondo ognuna delle rivendicazioni precedenti per il controllo di incrostazioni e depositi da molluschi, da serpulidi e da balanidi in ambienti marini.

11. Composizione secondo ognuna delle rivendicazioni precedenti in cui detti agenti sono in soluzione acquosa, in soluzione idroalcolica o in uno o più solventi organici in cui risultino solubili.

12. Metodo per il controllo di incrostazioni e depositi da macroinvertebrati in ambienti acquatici consistente nell'aggiungere all'acqua da trattare una quantità efficace di uno o più sali idrosolubili di ammonio quaternario e una quantità efficace di una o più poliesametenbiguanidi di formula (1):



in cui n è un numero intero compreso tra 2 e 20, o un relativo sale idrosolubile.

13. Metodo secondo la rivendicazione 12 in cui si aggiunge all'acqua da trattare una quantità efficace di didecil-dimetilammonio cloruro e una quantità efficace di poli(esametenbiguanide) cloridrato

Ing. Barzani & Barzani
Roma s.p.a.

in cui n è compreso tra 2 e 20, con un valore di picco pari a 11-12.

14. Metodo secondo la rivendicazione 13 in cui il rapporto ponderale tra detto didecil-dimetilammonio cloruro e detto poli(esametenbiguanide) cloridrato è compreso tra 1:1 e 5:1.

15. Metodo secondo ognuna delle rivendicazioni 12-14 per il controllo di incrostazioni e depositi da molluschi, da serpulidi e da balanidi in ambienti marini.

16. Metodo secondo la rivendicazione 15 in cui si aggiunge all'acqua da trattare una miscela di didecil-dimetilammonio cloruro e di poli(esametenbiguanide) cloridrato in cui n è compreso tra 2 e 20, con un valore di picco pari a 11-12.

17. Metodo secondo la rivendicazione 16 in cui detta miscela viene aggiunta in quantità tale da ottenere nell'acqua di mare una concentrazione totale di detti agenti compresa tra 0,1 e 50 mg/l.

18. Metodo secondo le rivendicazioni 16 o 17 in cui detta miscela è in soluzione acquosa, in soluzione idroalcolica o in uno o più solventi organici in cui detti agenti risultino solubili.

19. Composizione per il controllo di incrostazioni e depositi da macroinvertebrati in ambienti acquatici e relativo metodo secondo le rivendicazioni 1-18, sostanzialmente come in precedenza illustrato e descritto.

ROMA, 16 LUG. 1993

p.p. NALCO ITALIANA S.p.A.

ING: BARZANO' & ZANARDO S.p.A.

UN MANDATARIO
per se e per gli altri
Marino Bonchelli
(N° d'iscr. 463)



MB

*Ing. Barzano' & Zanardo
Roma s.p.a.*