

865/80

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

33534
-53775-

Difenil-éter-származékokat tartalmazó
algaellenes készítmények

Rohm and Haas Company, Philadelphia, PA, Amerikai Egyesült
Allamok

Elsőbbsége: 1989. 02. 24. (315 627),

Amerikai Egyesült Allamok

Bejelentés napja: 1990. 02. 23.

Kivonat

Az algaellenes készítmények (I) általános képletű hatóanyagaiban - a képletben

X¹ és X² jelentés egymástól függetlenül hidrogén- vagy halogénatom, trihalogénezett metil-, ciano- vagy 1-4 szénatomos alkilcsoportot,

Z jelentése alkoxi-karbonil-alkoxi- vagy rövidszénlácu alkoxi-csoport,

p értéke 1 és 2n+1 közötti egész szám,

m értéke 0 és 2n közötti egész szám,

n értéke 1 és 5 közötti egész szám, és

m és p együttes értéke 2n+1.



965/20

A

**KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY**

53775-

1990

AOIN 21/14

Képviselő:

Danubia Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.

**Difenil-éter-származékokat tartalmazó
algaellenes készítmények**

Rohm and Haas Company, Philadelphia, PA,
Amerikai Egyesült Államok

Feltalálók:

LANGE, Barry Cliffored	Lanadale, PA
Mc LEMORE, Janet Hanka	Glenside, PA
SHERBA, Samuel Eugene	Willingboro, NJ
	Amerikai Egyesült Államok

Elsőbbsége: 1989. 02. 24. (315 627),

Amerikai Egyesült Államok

Bejelentés napja: 1990. 02. 23.

69 252-5402/GA

A találmány tárgya algaellenes készítmények és termékek, valamint algák elszaporodásának gátlására szolgáló eljárások.

Az algák jelenléte különféle vizes rendszerekben - mint például látexek, festékek, bevonatok, hűtővíz-rendszerek, mesterséges tavak - a rendszer minőségének vagy külső megjelenésének romlásához vezethet. Például a festett felületeket algakerakódások csúfíthatják el, ily módon rontva a termék festett felületének esztétikusságát; hűtőtornyok hatékonysága romolhat algakerakódás következtében, csökkentve a torony hőátadóképeségét. Szokásos olyan, az algák káros hatását csökkentő módszerek használata, melyek különböző algaellenes anyagoknak, vagy azok kombinációjának a fenti rendszerekbe való juttatásán alapulnak.

Számos, különböző körülmények között használható algaellenes készítmény ismeretes, ezek közül néhány: klór- és brómvegyületek, glutáraldehid, izotiazolonok, szerves ónkészítmények, rézsók, kvaterner ammóniumvegyületek (S. D. Strauss és P. R. Puckorius; J. Power, 1984. június) és triazinok. Mindegyiknek vannak a toxikussággal, a pH- és hőmérséklet-érzékenységgel, a korlátozott hatékonysággal, a kémiai stabilitással és/vagy kompatibilitással kapcsolatos hiányosságai.

Különböző difenil-étereknek (a továbbiakban "DPE"-k) jelentősen különböző mikrobaellenes tulajdonságait mutatták ki. Lásd például a halogénezett hidroxí-(acil-oxi-)DPE-ket (a 3 506 720-A, 3 629 477-A, 4 268 693-A és 4 339 462-A számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi iratokban), a helyettesített nitro-/halogénezett DPE-ket (a 3 772 445-A és a 3 908 019-A számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi

iratokban) és a nitro-/trifluor-metil-DPE-eket (a 4 112 002 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi iratban).

A 3 787 217-A számú amerikai egyesült államokbeli és a 48-48624 számú japán szabadalmi iratokban a halogénezett és alkil-csoporttal helyettesített DPE-k festék-tartósító adalékként való használatával foglalkoznak, illetve ezeknek az anyagoknak 0,5-1,0 ppm dózisszint melletti hatását ismertetik kagylók, kacsakagylók és rák-lárvák növekedésére. Ezek a szabadalmak azonban nem tartalmazzak kitanítást a szubsztituált fluor-alkil-DPE-k használatára, illetve ezek hatékonyságára vonatkozóan, és nem is vetik fel ennek lehetőségét. Az 1 592-011-A számú nagy-britanniai szabadalmi iratban amino- (illetve helyettesített amino-) vagy hidroxilcsoporttal (illetve szerves/szervetlen savakkal alkotott észtereivel) helyettesített DPE-k mint algaölő-szerek alkalmazásával foglalkoznak, különös tekintettel a diklór-, illetve triklór-szubsztituált DPE-kre. Ebben a szabadalomban azonban sem kitanítást, sem javaslatot nem adnak helyettesített fluor-alkil DPE-k hidroxil- és amino-szubsztituensek nélküli használatára.

J. Lorenz kereskedelmi forgalomban lévő herbicidek tartósító védőfesték adalékként való használatára vonatkozó szűrővizsgálat során kimutatta, hogy az acifluorfen (2-klór-4-trifluor-metil-fenil-3'-karboxi-4'-nitro-fenil-éter-nátriumsó) 10 különféle algafajtára minden vizsgált koncentrációban hatástalan ("Selective Acting Antifouling Additives", Seventh Annual Congress on Marine Corrosion and Fouling, Spanyolország, Valencia, 1988. november 10.)

Számos mezőgazdasági herbicidről ismeretes, hogy bizonyos gyomnövényekkel, terményekkel szemben hatásos. Ezen

mezőgazdasági herbicidek hatásmechanizmusát behatóan tanulmányozták, az eredményeket például a következő szakirodalmi helyeken ismertetik: Boger és mtsai (Z. Naturforsch, 42c, 819 (1987), 36c, 633 (1981), 39c, 486 (1984), 38c, 556 (1983); Weed Science, 33, 766 (1985), 31, 338 (1983), 29, 371 (1981), 29, 169 (1981); J Agric Food Chem, 32, 868 (1984), 32, 725 (1984), 32, 523 (1984); Pesticide Biochemistry and Physiology, 20, 183 (1983), 19, 309 (1983); IUPAC Pesticide Chemistry, 3, 97-102 (1983), 1, 321-326 (1983); Plant Science Letters, 24, 347 (1982). Ezek a cikkek az alapvető hatásmódokat egy modell-alga, a *Scenedesmus acutus* segítségével mutatják be, így teremtvén meg a legfontosabb ismert herbicidek - beleértve különféle DPE-eket is - hatása és szerkezete közötti összefüggés megértéséhez szükséges gyors és megbízható mérhetőséget. Boger és munkatársai tanulmányozták többféle DPE-nek különféle fiziológiai és biokémiai folyamatokra gyakorolt hatását, és azt találták, hogy nem egyértelmű, milyen szerkezet szükséges különféle herbicid hatások kiváltásához, például a fotoszintetikus elektron-transzport gátlásához, az energiaátadás gátlásához, a fotoszintetikus membránok peroxidatív lebontásához. A hatásmechanizmus vizsgálata során többek között a következő paramétereket mérték: pigmentvesztesség (fehéredési effektus), zsírsavoxidáció révén keletkező rövidláncú szénhidrogének termelődése, a fotoszintézis oxigéntermelésének csökkenése. Így Boger és munkatársai arra a következtetésre jutottak, hogy fitotoxikus hatások többféle biokémiai hatás együttesének következményei. Szerkezetileg különböző DPE-k a Boger és munkatársai által tanulmányozott paraméterekben közel hasonló változásokat

idéztek elő. A különböző DPE-knek vagy más herbicideknek az elektron-transzport, a peroxidálás vagy energia-átadás hatásmódok megváltoztatására való relatív képessége nem feltétlenül jellemzi az adott anyag herbicidként kifejtett hatékonyságát. Összefoglalva, bár Boger és munkatársai a herbicidek hatásmódjának számos lehetséges útját ismertetik, semmiféle kitanítást vagy javaslatot nem adnak ezen DPE-k bármelyikének felhasználására algák természetes környezetében való pusztítására, ahol például a vízben való oldhatóság és lúgos közegben való stabilitás fontos jellemzők. A Boger és munkatársai vizsgálataiban használt algák csupán mintaként szolgáltak számos ismert herbicid hatása során működő hatásmechanizmusok bemutatására.

A hagyományos algaellenes hatású vegyületek már említett hiányosságai miatt szükség van az eddigieknél hatékonyabb algaellenes anyagokra, melyeket kisebb dózisban lehet használni, s amelyek így a felhasználónak kisebb költséget okoznak, csökkentik a környezetszennyezést és a környező - nem-cél - organizmusokra (például halak, hasznos termények) kisebb hatást fejtenek ki.

A találmány szerinti készítmények hatóanyaga az (I) általános képlettel jellemezhető - a képletben

- X^1 és X^2 egymástól függetlenül hidrogén- vagy halogénatom, trihalogénezett metil-, ciano- vagy 1-4 szénatomos alkilcsoportot jelent,
- Z jelentése alkoxi-karbonil-alkoxi- vagy rövidszénláncú alkoxicsoport,
- p értéke 1 és $2n+1$ közötti egész szám,
- m értéke 0 és $2n$ közötti egész szám, és



n értéke 1 és 5 közötti egész szám és
m és p együttes értéke $2n+1$.

"Rövidszénláncú" alkoxicsoporton előnyösen legfeljebb 8 szénatomos alkoxicsoportot értünk.

Bár Z a 4 772 744-A és a 3 798 276-A számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi iratokban leírt jelentésekkel is bírhat, az alganövekedés gátlására előnyösek azok a (II) általános képlettel leírt vegyületek, amelyekben Z rövidszénláncú alkoxi- vagy alkoxi-karbonil-alkoxicsoportot jelent.

A legelőnyösebb vegyületek egyike a (III) képletű oxifluorfen.

A találmány módszert nyújt az alganövekedés gátlására vagy megelőzésére a fertőzés valódi vagy lehetséges helyén. A módszer abból áll, hogy az (I) általános képletű vegyületet tartalmazó oldatot az adott helyre vagy helybe kell juttatni az adott alga szaporodásának gátlásához elegendő mennyiségben. Az ilyen helyek fontos példája a hűtőtornyok vize, bevonatok vagy impregnáló kompozíciók és olyan termékek, mint a halászhálók vagy úszómedence-burkolatok, amelyeket ilyen kompozíciókkal lehet bevonni vagy impregnálni.

A találmány az algák szaporodásának gátlását alacsony hatóanyagszint mellett teszi lehetővé olyan vegyület alkalmazásával, amely az algafertőzésre hajlamos rendszerek egész soránál használható.

A vegyületek egy igen fontos felhasználási területét jelentik a hűtőtornyok. A hűtőtornyok vizében a hatóanyagot általában 0,001-20 ppm koncentrációtartományban használjuk.

A találmány egy másik fontos felhasználása az alganövekedés gátlása fedőfestékekben és impregnálószerekben. Erre a célra a

hatóanyag általában 0,01%-10% koncentrációtartományban használatos. Az eredményül kapott fedőfestékek és impregnálószeresek algák iránti ellenállása javul, miközben - ellentétben más szerekkel - fizikai tulajdonságaik nem változnak.

Egy másik fontos speciális felhasználási területet jeletenek az algicid fürdők. Ezekben a vegyületet nagy koncentrációban kell használni, hogy a már megtelepedett algákat elpusztítsa, míg az algaszaporodás gátlásához az alacsonyabb koncentráció alkalmazása is elegendő.

Algáknak ellenálló kompozíciók használata célszerű egyes szerkezeti elemek, mint például stukkók, tető- és falragasztók és falburkolatok algák elleni védelmében; felületek legfelső rétegét alkotó anyagokban, bevonatokban az alsóbb rétegek algáktól való megvédésére; vízi tenyészetekben, például akváriumokban, halkeltető-tavakban, rák-tavakban, halastavakban, puhatestű állatok és rákfélék tenyésztésénél algák szaporodásának gátlására; algák szaporodásának gátlására pihenést vagy díszítést szolgáló vízi létesítményekben, így uszodákban, tavakban, szökőkutakban és dísztavakban; ipari illetve közművi vízi létesítményekben, mint ülepitő vagy elkülönítő tavakban, vízhűtő tavakban, szennyvíztisztító tavakban és víztárolókban; algák szaporodásának gátlására hidroponikus növénytermesztésnél, papírpép és papír gyártása és feldolgozása során algák szaporodásának gátlására; műanyagokban vagy műanyagok bevonataiban; valamint úszómedencék burkolataként szolgáló műanyagokban vagy ezek bevonatában algák ellen védelemre.

A DPE-k sok más helyen is alkalmazhatóak az alganövekedés

gátlására, például mesterséges tavakban, célszerűen 50 ppb és 20 ppm közti koncentrációban, vagy haláshálók felületére felhordva illetve ezeket impregnálva.

A korábban említett vegyület(ek)kel kezelt haláshálók, úszómedence burkolatok és festett fafelületek, amelyek algaellenálló képessége kitűnően javult, ugyancsak a találmány tárgyát képezik.

A molekuláris biológia és a taxonómia legújabb eredményei lehetőséget adnak a fotoszintézisre képes prokarióta baktériumok és az eukarióta algák megkülönböztetésére. A múltban az irodalomban a kék-zöld alga kifejezés olyan mikroorganizmusokat jelentett, melyek klorofilt tartalmaznak és kék-zöld színűek. A legújabb mikrobiológiai szakirodalomban (Biology of Microorganisms, T. D. Brock, D. W. Smith és M. T. Madigan, Prentice Hall, Inc, 1984.) megkülönböztetik ezeket az organizmusokat az eukarióta algáktól, például a zöld algáktól, és az eddigi elnevezés helyett a precízebb "kék-zöld baktérium" vagy "cianobaktérium" megnevezést használják. E megkülönböztetés alapja az, hogy a sejt szerkezete közelebb áll a prokarióta baktériumok szerkezetéhez, mint az eukarióta algákéhoz. Ezért a továbbiakban a fotoszintetizáló kék-zöld mikroorganizmusokat cianobaktérium vagy kék-zöld baktérium névvel illetjük.

A következő, nem korlátozó jellegű példákban a találmány szerinti hatóanyagoknak csak néhány alkalmazási lehetőségét mutatjuk be. Különféle módosításai, alternatívái és fejlesztései szakember számára nyilvánvalóak.

1. Példa

Az oxifluorfent mint algaölő anyagot egy modell-

hűtőtoronyban vizsgáljuk, amely paramétereiben hasonlít az ipari hűtőtornyokhoz. A vegyületet rendszeresen adagoljuk, a kezelés hatásosságát egy, a cianobaktériumok és algák tömegére jellemző paraméter mérésével határozzuk meg. A paraméterek pontos értékeit a következőkben adjuk meg.

A. A modell-hűtőtorony felépítése

A modell alapját egy 17 literes polikarbonát medencébe helyezett, akril-típusú műanyagból készített torony jelenti. Minden modell tartalmaz egy hőmérsékletszabályozó rendszert, sav (H_2SO_4) vagy lúg (KOH) adagolót a pH szabályozásra, légáramlás-szabályozókat, víz-visszacirkuláltató rendszert és a feltöltéshez vízvezetéseket. Két, egyenként öt toronyot tartalmazó egységet szellőztetett környezetbe helyezünk.

A medencéhez tartozik egy túlfolyónyílás is a rendszer állandó, 8 literes víztérfogatának biztosítására. Az akril típusú műanyagból készült torony tetejére a víz szétosztását végző doboz van szerelve. A toronyhoz tartozik még egy sor elmozdítható lemez, melyek a recirkuláló víznek a felületen való egyenletes esését hivatottak biztosítani. Ezek műanyagból vagy *Pinus palustris*-ből, illetve ehhez hasonló fenyőfajtákból készülnek (ez utóbbiak a biofilmes mintavételt szolgálják). A recirkuláltatott víz egy részét a medence aljáról visszafordítjuk a víz állandó keveredésének biztosítására.

A világítást hideg fehér és fluoreszensz fény ("grow-lux fluorescent light") biztosítja naponta 19 órán keresztül. Az egységekhez tartozik egy-egy fűtőrendszer is, melyek mindegyike egy bemező fűtőegységből, egy hőszabályozóból, két termisztorból és egy közvetlenül leolvasható hőmérőből áll. A víz recirkuláltatását mágneses meghajtású centrifugális

szivattyúk végzik. Minden más folyadék áramlását az egyes vizsgálatokat megelőzően kalibrált perisztaltikus pumpák biztosítják.

B. Működési paraméterek

A modell-hűtőtornyok tervezése és működtetése biztosítja az egységek állandó felezési idejét. Ezt a befolyó víz mennyiségének, ezáltal az elfolyó víz arányának naponkénti szabályozásával érjük el. Ily módon a vizsgált vegyületek, illetve más, a recirkuláló vízhez adagolt vegyi anyagok szabályozott ideig maradnak a rendszerben. Így egy adott vegyület rendszerből való eltávolításának sebességét a vegyületnek a teljes vízmennyiségben levő koncentrációja és a víz toronyból való elfolyásának sebessége határozza meg. A vizsgálat során alkalmazott fizikai és kémiai paramétereket az 1. táblázatban mutatjuk be.

A modell-egységbe befolyó ionmentes vízhez tápanyagot, vízkeménység-adalékokat és vízkő, illetve korrózió-gátló anyagokat (2. táblázat) adunk félig-folytonos, automata adagolással. Csapvíz helyett szintetikus feltöltővizet használunk (3. táblázat). A különböző komponensek törzsoldatát előre elkészítjük és a különböző tornyokba olyan arányban adagoljuk, hogy a recirkuláló vízben a megfelelő koncentrációt érjük el. A különböző komponensek adagolásának az elfolyt vízben levő anyagmennyiséget kell pótolnia. Minden egység ionmentes-víz ellátását naponta szabályozzuk, hogy a kívánt elfolyási sebességet biztosítsuk. Ily módon egy adott komponens koncentrációja a recirkuláló vízben, illetve a rendszerbe bevitt anyagmennyiség (mg/nap) állandó.

1. táblázat

A modell hűtőtorony működési paraméterei

<u>Paraméter</u>	<u>Érték</u>
Teljes térfogat (liter)	8
Recirkulációs sebesség (liter/perc)	3
Elfolyási sebesség (ml/óra)	55
Vízkeménység (CaCO ₃ ppm)	520
Koncentrációs ciklusok	3
Tartózkodási idő (óra)	145
Felezési idő (óra)	100
Hőmérséklet (°C)	35
pH	8,5

2. táblázat

Vízke és korrózióellenes készítmények

Komponens	Koncentráció (hatóanyag ppm)
	<u>a recirkuláló vízben</u>
Poliakril (a)	5,0
Foszfónát (b)	5,0
Tolil-triazol (c)	2,0

ahol:

(a) Acrysol QR1086 (Rohm and Haas Co)

(b) Bayhibit AM (Mobay Chemical Co)

(c) Cobratec TT-50-S (Sherwin Williams Chemical Co)

3. táblázat

A modell hűtőtorony recirkuláló vizének jellemzői

Komponens	Koncentráció (ppm)
NH ₄ NO ₃	48,9
KH ₂ PO ₄	13,2
Glükóz	18,8
Na-acetát	25,7
CaCl ₂ (2H ₂ O)	486
MgCl ₂ (6H ₂ O)	366
NaCl	120
FeCl ₃ (6H ₂ O)	3,0

C. Mikrobiológiai oltóanyag

Minden hűtőtorony-medencét naponta 5 ml-nyi, vegyes alga és kék-zöld baktérium tenyészetet tartalmazó oldattal oltunk be. A tenyészetet ipari hűtőtornyok felületéről lekaparva nyerjük. A vegyes tenyészetet szobahőmérsékleten, "módosított Allen-féle A tápközegben" (lásd D-rész, alább) tartjuk. A mintavevőhelyként szolgáló falemezeket minden kísérlet előtt algával befertőzzük. A lemezeket ásványi sók oldatát és az alga-baktérium tenyészetet tartalmazó tálba helyezzük és szobahőmérsékleten inkubáljuk. A lemezek felületét lekeféljük, hogy a rajta képződött, láthatóan hozzájuk tapadó biofilmet eltávolítsuk. A kísérlet kezdetén az előre algával szennyezett lemezeket a toronyba helyezzük, közvetlenül a víz szétosztását végző doboz alá.

D. Módosított Allen-féle A tápközeg készítése

A törzsoldat

10 g NaNO_3
1 g $\text{CaCl}_2(2\text{H}_2\text{O})$
3 g MgSO_4
1 g NaCl
1,6 l ionmentes víz

B törzsoldat

7 g KH_2PO_4
3 g K_2HPO_4
800 ml ionmentes víz

C törzsoldat

10 g proteóz-pepton leves
100 ml ionmentes víz

vas-nyomelem törzsoldat

1,03 g Na_2EDTA
0,77 g $\text{FeSO}_4(7\text{H}_2\text{O})$
500 ml ionmentes víz

fém-nyomelem törzsoldat

0,450 g $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7(\text{H}_2\text{O})$
0,180 g $\text{MnCl}_2(4\text{H}_2\text{O})$
0,022 g $\text{ZnCl}_2(7\text{H}_2\text{O})$
0,005 g $\text{CuCl}_2(2\text{H}_2\text{O})$
0,003 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4(2\text{H}_2\text{O})$
0,003 g $\text{VOSO}_4(2\text{H}_2\text{O})$
0,001 g $\text{CoCl}_2(6\text{H}_2\text{O})$

Minden keveréket külön autoklávban sterilizzük, majd a következő arányban keverjük:

40 ml A törzsoldat
20 ml B törzsoldat
10 ml C törzsoldat
5 ml vas-nyomelem törzsoldat
5 ml fém-nyomelem törzsoldat
920 ml ionmentes víz

E. A hatékonyság meghatározása

Vizsgáljuk az algaellenes kezelés hatékonyságát a kontroll-

-biofilm fejlődésére. Az egyes tornyokba a vizsgált vegyületet heti egyszeri dózisban adjuk. Egy toronyban oxifluorfenet vizsgálunk (0,050 ppm dózisban, acetonos törzsoldatból adagolva), egy másikban 1,0 ppm hatóanyagtartalom mellett izotiazolon A-t (75% 5-klór-2-metil-3-izotiazolon/ 25% 2-metil-3-izotiazolon), míg egy harmadik torony hatóanyag nélküli kontroll-toronyként szolgál. A vizsgálatnál megadott valamennyi hatóanyag koncentráció ppm-ben értendő.

F. Mintavételi eljárások

A modell hűtőtornyokban kifejlődött biofilmet négyhetes működés után gyűjtjük össze. A feltapadt tenyészetet gondosan lekaparjuk a falemezek felületéről (17,5 cm²) és 100 ml steril pufferoldatban szuszpendáljuk. A biofilm-kivonatot Waring-keverővel egy percig maximális teljesítmény mellett homogenizáljuk, majd a következőkben leírt módon elemesszük.

G. Elemzési eljárások

A homogenizált biofilm-kivonatot mikrobiológiai módszerrel vizsgáljuk, majd az így nyert eredményeket - ha szükséges - egységnyi felületre (1 cm²) vonatkoztatjuk. Minden vizsgálatot kétszer végzünk el, és a két eredmény átlagát adjuk meg. A minták alga/cianobaktérium tartalmát a klorofill-a ("chl a") tartalomból becsüljük. A mintákat egy éjszakán keresztül extraháljuk 90%-os acetonban. A klorofill-a tartalmat Turner-féle fluoriméterrel határozzuk meg. Ez a paraméter a mintában lévő alga/cianobaktérium tömeggel arányos és µg chl-a/cm² biofilm felület egységben adjuk meg.

H. Eredmények

A mérések eredményei jól mutatják az oxifluorfennek a kereskedelembe kapható algaellenes anyaghoz, az izotiazolon-A-

-hoz viszonyított hatékonyságát.

Az oxifluorfen hatékonysága a modell hűtőtorony biofilmjére

Kezelés	Klorofill-a a biofilmben	
	($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	A kontroll %-a
oxifluorfen (0,05 ppm)	3,27	24,0
izotiazolon-A (1,0 ppm)	3,70	27,1
kontroll (algaellenes hatású vegyület nélkül)	13,64	100,0

2. Példa

A. Általános eljárás

Vizsgálatot folytattunk szimulált hűtőtorony-vízzel is az oxifluorfen algaellenes hatásának meghatározására szimulált hűtőtornyai körülmények között. A szintetikus hűtőtorony vizet a következő anyagok alkotják az alábbi végső koncentrációban (pH 8,5):

<u>Komponens</u>	<u>Koncentráció (mg/l)</u>
NH_4NO_3	357
K_2HPO_4	422
Glükóz	25,0
Na-acetát	34,2
Na_2CO_3	466
K_2SO_4	435
$\text{CaCl}_2(2\text{H}_2\text{O})$	642
$\text{MgCl}_2(6\text{H}_2\text{O})$	478
$\text{FeCl}_3(6\text{H}_2\text{O})$	4,0
Poliakril (a)	5,0
Foszfónát (b)	5,0
Tolil-triazol (c)	2,0

ahol:

- (a) Acrysol QR1086 (Rohm and Haas Co)
- (b) Bayhibit AM (Mobay Chemical Co)
- (c) Cobratec TT-50-S (Sherwin Williams Chemical Co)

Félgallonos (mintegy kétliteres) edényekbe mintegy 500 ml oldatot teszünk, és minden edénybe megadott mennyiségű (emulgalható koncentrátum formájú) oxifluorfent adagolunk; egy edény nem tartalmaz algaellenes hatóanyagot (kontroll). Egy másik csoport edény az összehasonlítás céljára ismert mennyiségű ismert algaellenes szert: izotiazolon-A-t tartalmaz.

Minden edénybe 5 ml, ipari hűtőtornyok felületéről lekapart vegyes hűtőtornyai tenyészetet juttatunk. A vegyes tenyészetet szobahőmérsékleten, módosított Allen-féle B táptalajon (lásd B-rész, alább) tartjuk. Minden edényt hetente kétszer oltunk be a tenyészettel, hogy a rendszereket reakcióra készítsük. Az edényeket napi 12 órás megvilágítás mellett, szobahőmérsékleten (25 °C) inkubáljuk, naponta háromszor manuálisan felkeverjük. A vizuális megfigyeléseket a C-részben megadott osztályozási skála alapján naponta feljegyezzük.

B. A módosított Allen-féle B tápközeg készítése (pH 6,3)

	mg/l
NaNO ₃	250
CaCl ₂ (2H ₂ O)	31
MgSO ₄ (7H ₂ O)	75
NaCl	25
KH ₂ PO ₄	175
K ₂ HPO ₄	75
FeCl ₃ (6H ₂ O)	7,5
Na ₂ (EDTA)	10,3
Na ₂ B ₄ O ₇ (10H ₂ O)	2,25
MnCl ₂ (4H ₂ O)	0,90

<u>Komponens</u>	<u>Koncentráció (mg/l)</u>
ZnCl ₂ (7H ₂ O)	0,11
CuCl ₂ (2H ₂ O)	0,025
Na ₂ MoO ₄ (2H ₂ O)	0,015
VO ₂ SO ₄ (2H ₂ O)	0,015
CoCl ₂ (6H ₂ O)	0,005

C. Eredmények

Vizuális értékelés (7-napos inkubálás után)

<u>Koncentráció (ppm)</u>	<u>Oxifluorfen</u>	<u>Izotiazolon A</u>
0,000	5	5
0,005	0	5
0,010	0	5
0,025	0	5
0,050	0	5
0,100	0	5
0,250	0	5
0,500	0	4

Osztályozási skála:

- 0 - nincs szaporodás
- 1 - enyhe szaporodás
- 3 - mérsékelt szaporodás
- 5 - jelentős szaporodás

Ennek a vizsgálatnak az eredménye is mutatja, hogy már különösen alacsony oxifluorfen-koncentráció (5 ppb vagy kevesebb) is hatásos a hűtőtornyokban az algák növekedésének megállításához szimulált víz-kémiai körülmények között, míg ugyanezen körülmények között az izotiazolon-A hatástalan marad még 500 ppb-nél is. A víz összetételét valódi ipari hűtőtornyok vizének kémiai analízisére alapoztuk. A vízkö- és

korrózióellenes anyagok és lúgos pH-t biztosító anyagok adagolása a valódi állapotok minél tökéletesebb követését szolgálják.

3. Példa

Egy sor más mikroorganizmus felhasználásával is folytattunk az oxifluorfen hatékonyságára vonatkozó tanulmányokat. A minimális gátló koncentrációra (MIC) vonatkozó vizsgálatokat mikrotiter-lemezes módszerrel végeztük. A módszer szerint a vizsgálandó vegyületből 96 lyukú műanyag mikrotiter-lemezen széles koncentrációsorot vizsgálunk kétszeres hígítási sorok készítésével. Minden folyadékátvitelt kalibrált egy- vagy többcsatornás digitális pipettával végzünk. A vegyületekből megfelelő oldószerben törzsoldatot készítünk, és ezt adagoljuk a szaporító tápközegbe. Minden ezt követő hígítást a lemezen a megfelelő szaporító tápközeg segítségével végzünk. A lyukakban a folyadék teljes térfogata 100 µl.

Az ebben a vizsgálatban használt tiszta tenyészeteket az austini Texasi Egyetem (University of Texas, UTEX) algatenyészet gyűjteményéből szereztük be. A vegyes algatenyészetet hűtőtornyai biofilmből nyerjük és folyékony tápközegben tartjuk fenn. Az oltóanyagként használt mikroorganizmusokat rázott folyékony tenyészetben (50 ml Bristol-féle tápközeg (pH 7,0, 25 °C); lásd Journal of Phycology, 23, 1-47, (1987)) tenyésztjük egy héten, illetve a szükséges sejttömeg eléréséhez szükséges időn keresztül. A tenyészetekből ezután a mikrotiter lemezekre juttatunk 5 µl-t lyukanként egy 96-karú oltóeszköz segítségével; minden lyukba standard bioanyag szuszpenzió (5% oltóanyag) kerül. A lemezeket 25°C-on tartjuk állandó megvilágítás (5383 lx)

mellett. A szaporodás ütemét kis nagyítás mellett a mikrotiter lemez leolvasó eszközének segítségével határozzuk meg. A szaporodást minden egyes cellában rendszeresen megfigyeljük, és 14 vagy 21 nap után feljegyezzük, tapasztalható-e növekedés. Az eredményeket a MIC érték (a legkisebb koncentráció, mely mellett az adott vegyület még képes teljesen meggátolni vagy elfojtani egy organizmus növekedését) meghatározásához használjuk fel.

**Az oxifluorfen MIC értékei zöld alga, cianobaktérium
és vegyes tenyészet esetén**

<u>Mikroorganizmus</u>	<u>MIC (ppm)</u>
Cianobaktériumok	
Phormidium luridum var. olivace	>500
Synechococcus leopoliensis	>500
Nostoc commune	>500
Anabaena flos-aquae	>500
Zöld-algák	
Scenedesmus quadricauda	< 0,002
Selenastrum capricornutum	0,008
Chlorella pyrenoidosa	0,125
Chlorococcum oleofaciens	> 0,125
Vegyes hűtőtornyai tenyészet	< 0,004

4. Példa

A 3. példában ismertetett eljárással a (IV) általános képletű vegyületek MIC értékét is meghatározzuk. A helyettesítők jelentését a 4A, a kapott eredményeket a 4B táblázatban mutatjuk be.

4A táblázat

	X	Y
4A összehasonlító	-H	-OH
4B összehasonlító	-H	-OAc
4C összehasonlító	-NO ₂	-OAc
4D összehasonlító	-NO ₂	-OH
4E összehasonlító	-NO ₂	-CO ₂ Na
4F összehasonlító	-NO ₂	-CO ₂ CH ₂ CO ₂ C ₂ H ₅
4G	-NO ₂	-OCH (CH ₃) CO ₂ C ₂ H ₅
4H	-NO ₂	-OC ₂ H ₅

4B táblázat

MIC (ppm)

Vegyület	Vegyes hűtőtornyai tenyészet	Anabaena flos-aquae
	ellen	ellen
4A összehasonlító	1,6	3,1
4B összehasonlító	8,0	16
4C összehasonlító	0,25	12,5
4D összehasonlító	0,06	12,5
4E összehasonlító	12,5	>50
4F összehasonlító	1,0	-
4G	0,25	-
4H	<0,004	>500

5. Példa

A. Általános eljárás

Az alább leírt módon oxifluorfen oldatot készítünk 28,3 g-os üvegfiolákban. 0,17 g oxifluorfen koncentrátumot 19,83 g latex - festék-készítményhez (lásd alább) adunk, azaz a festékoldat oxifluorfen-koncentrációja 2 kg/833 l. Hasonló módon 0,08 g oxifluorfen-koncentrátumot adagolunk 19,92 g

latex-festék készítményhez, azaz ez az oldat 1 kg/833 l koncentrációjú lesz. 1,0 g oxifluorfen koncentrátumot adagolunk 19,0 g 2 rész xilolt és 1 rész ciklohexanont tartalmazó keverékhez; 0,17 g-ot az így kapott oldatból 19,83 g latex festék-készítményhez adunk, azaz ez az oldat 100 g/833 l koncentrációjú lesz. Hasonló módon 0,016 g xilol/ciklohexán oldatot adagolunk 19,984 g latex-festék készítményhez, azaz ez az oldat 10 g/833 l koncentrációjú lesz.

Az oldatokat teflonspatulák segítségével manuálisan felkeverjük és mindegyiket két nyelvleszorító-lemez felületére visszük fel 7-es festékecsetek segítségével. Két kontroll nyelvleszorító-lemezt hasonló módon készítünk el, azaz a különbséggel, hogy a latex-festék készítménybe nem teszünk oxifluorfent. A nyelvleszorító-lemezeket egy hétig száradni hagyjuk, majd négy 50 µl-es csöpp vegyes, hűtőtoronyból származó algával fertőzzük be. Az algákat ipari hűtőtornyok felületéről kapartuk le és módosított Allen féle táptalajon tartottuk fenn, ahogy azt az 1. példában ismertettük.

A nyelvleszorító-lemezeket nagyméretű petri-tálakba, műanyag állványokra helyezzük és az állványok környezetét ionmentes vízzel töltjük fel. A petri-tálakat lefedjük és Precision 816 típusú, alacsony hőmérsékletű (25 °C) megvilágított inkubátorba helyezzük. Egy hét múlva a nyelvleszorító-lemezeket újrafertőzzük 1 ml vegyes, hűtőtoronyból származó algával, majd visszateszük az inkubátorba. Ezután naponta (vizuálisan) ellenőrizzük a nyelvleszorító-lemezek felületén levő algák szaporodását; az eredményeket a C-rész tartalmazza. Az oxifluorfen még 10 ppm-es koncentrációban is jelentősen csökkentette az algaszaporodást az első 14 napban,

míg 100 ppm feletti koncentrációban teljesen megszüntette a szaporodást.

B. A latex-festék készítmény előállítása

Az oxifluorfont 24%-os, különböző szerves oldószerek keverékében készült, emulgálható koncentrátum formájában adagoljuk. A következő készítmény az algák elleni stabilitás vizsgálatánál gyakorta alkalmazott festékeverék. A texanol (trimetil-1,3-petándiol-monoizobutirát) az Eastman Chemical biztosítja számunkra. A Rhoplex AC-64 butil-akrilát és metil-metakrilát egy kopolimerének latexe, mely a kereskedelemben is kapható. Ennek a festék-készítménynek a pH-ja 9,4, kezdeti viszkozitása 8,9 KU (Krebs-egység).

Víz	56,0	134,4
Tamol 960 (40%), poli(metakril-sav)	3,6	8,6
Kálium-tripolifoszfát	0,75	1,8
Triton CF-10 felületaktív szer	1,3	3,1
Kolloid 643 sűrítőanyag	0,5	1,2
Propilénglikol	17,0	40,8
Ti-Pure R-902 titán-dioxidn	112,5	270
Minex 4 töltőpigment	79,7	191,3
Icecap K töltőpigment	25,0	60
Attagel 50 agyag	2,5	6
AC-64 (60,5%) akril-kopolimer	153,0	367,1
Kolloid 643	1,5	3,6
Texanol coalescent	4,7	11,3
Ammónia (28%)	1,16	2,8
Natrosol 250 MHR (2,5%)	53,5	128,4
Víz	<u>54,5</u>	<u>130,8</u>
	581,2	1394,9

C. Az oxifluorfen hatása a festékalgásodási vizsgálatban

Oxifluorfen koncentráció (ppm)	Minta mg/l	7 napi	10 napi	14 napi
alga növekedés				
0	vak	0	4	6
10	12,0	0	2	3
100	120	0	1	1
1000	1200	0	0	0
2000	2400	0	0	0

Algaszaporodás értékelése:

0 - nincs algaszaporodás

5 - mérsékelt algaszaporodás

10 - erős algaszaporodás.

Szabadalmi igénypontok

1. Algaellenes készítmények, azzal jellemezve, hogy (I) általános képletű hatóanyagot tartalmaznak; a képletben X^1 és X^2 jelentése egymástól függetlenül hidrogén- vagy halogénatom, trihalogénezett metil-, ciano- vagy 1-4 szénatomos alkilcsoportot, Z jelentése alkoxi-karbonil-alkoxi- vagy rövidszénlácú alkoxicsoport, p értéke 1 és $2n+1$ közötti egész szám, m értéke 0 és $2n$ közötti egész szám, n értéke 1 és 5 közötti egész szám, és m és p együttes értéke $2n+1$.
2. Az 1. igénypont szerinti készítmények, azzal jellemezve, hogy az (I) általános képletű vegyületek körébe tartozó (II) általános képletű hatóanyagokat tartalmazzák; a képletben Z jelentése alkoxi- vagy alkoxi-karbonil-alkoxi-csoport.
3. Az 1. igénypont szerinti készítmények, azzal jellemezve, hogy az (I) általános képletű vegyületek körébe tartozó (III) képletű hatóanyagokat tartalmazzák.
4. Bevonatképző vagy impregnáló készítmények, azzal jellemezve, hogy 0,01 ppm és 10% közötti koncentrációban (I) általános képletű vegyületet tartalmaznak; a képletben a helyettesítők jelentése az 1.-3. igénypontokban megadott.
5. Halászhálók, azzal jellemezve, hogy az (I) általános képletű vegyülettel - a képletben a helyettesítők jelentése az 1.-3. igénypontokban megadott - vagy a 4. igénypont szerinti készítménnyel van bevonva.
6. Stukkó-, falragasztó-, falbevonó-, műanyag-készítmények, úszómedence burkolatok, tengervízben használható tartósító

készítmények, azzal jellemezve, hogy algicid szempontból hatásos mennyiségű (I) általános képletű vegyületet tartalmaznak; a helyettesítők jelentése az 1.-3. igénypontokban megadott.

A meghatalmazott:

Melchior Albert


DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
7.

Válasz 

