



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU**
UTLÄGGNINGSSKRIFT 56920

C (45) Patentti myönnetty 12.05.1980
Patent meddelat

(51) Kv.lk.²/Int.Cl.² A 01 N 9/02

SUOMI—FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patentihakemus — Patentansökning	1437/74
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	10.05.74
(23) Alkupaivä — Giltighetsdag	10.05.74
(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig	11.11.74
(44) Nähtäväksipanon ja kuuljulkaisun pvm. — Ansökan utlagd och utskriften publicerad	31.01.80
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	10.05.73
19.04.74 Englanti-England(GB) 22353/73,	
22353/73	

- (71) Imperial Chemical Industries Limited, Imperial Chemical House, Millbank, London SW1, Englanti-England(GB)
- (72) Edward George Gazzard, Blackley, Manchester, Michael Singer, Blackley, Manchester, Englanti-England(GB)
- (74) Oy Kolster Ab
- (54) Biosidikoostumus - Biocidkomposition

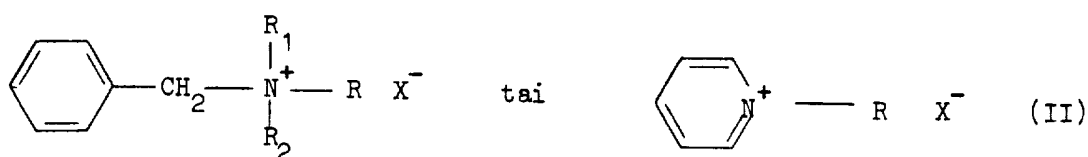
Tämä keksintö koskee biosidikoostumuksia, jotka sisältävät biosideja seoksina tai komplekseina ja joilla on parantunut tehokkuus.

GB-patenttijulkaisu 884 541 koskee menetelmää vesipitoisten aineiden suojaamiseksi mikro-organismitartuntaa vastaan lisäämällä niihin 1,2-bentsisotiatsolin-3-onia, jonka bentseenirengas voi olla substituoitu kloori- tai bromiatomilla, tai sen suolaa.

Kvaternäärisillä ammoniumyhdisteillä, joissa ainakin yksi typpi-atomin substituentaista on pitkäketjuinen alkyyliryhmä, tiedetään myös olevan biosidi-aktiivisuutta.

Nyt on havaittu, että 1,2-bentsisotiatsolin-3-onin ja tiettyjen kvaternääristen ammoniumyhdisteiden seokset ovat erityisen tehokkaita biosideja.

Keksinnön mukaiselle biosidikoostumukselle on tunnusomaista, että se sisältää 1,2-bentsisotiatsolin-3-onia (I) ja kvaternääristä ammoniumyhdistettä (II), jolla on kaava



joissa kaavoissa R on $\text{C}_{10}\text{--C}_{22}$ -alkyyli-ryhmä, R_1 ja R_2 ovat $\text{C}_1\text{--C}_4$ -alkyyli-ryhmiä ja X^- on halogenidi-ioni, moolisuhteessa I:II 1,0:0,04 - 1,0:1,0.

Esimerkkeinä alkyyli-ryhmistä R voidaan mainita dodekyyli-ryhmä ja heksadekyyli-ryhmä.

Ryhmät R_1 ja R_2 voivat olla esimerkiksi etyyli-, propyyli-, isopropyyli- tai siomeerisia butyyli-ryhmiä, edullisesti ne ovat metyyli-ryhmiä.

Esimerkkejä anioneista, joita X^- esittää, voidaan mainita kloori- ja bromi-ionit.

Tyypillisiä esimerkkejä kaavan II mukaisista kvaternäärisistä ammonium-yhdisteistä ovat dodekyylibentsyylidimetyyliammoniumkloridi, heksadekyyli-trimetyyliammoniumbromidi ja heksadekyyli-pyridiniumkloridi. Suositeltava yhdiste on dodekyyli(lauryyli)-bentsyylidimetyyliammoniumkloridi tai bromidi.

1,2-bentsisotiatsolin-3-onin ja kvaternäärisen ammoniumyhdisteen välistä moolisuhdetta voidaan tämän keksinnön valmisteissa vaihdella laajasti, mutta yleensä se on välillä 1,0:0,04 - 1,0:1,0. Kvaternäärisen ammoniumyhdisteen ja bentsisotiatsolinonin yhdistelmällä on suurempi biosidinen aktiivisuus kuin mitä yksityisten komponenttien aktiivisuuksien summasta voitaisiin odottaa.

On suositeltavaa, että valmiste, joka sisältää kvaternääristä ammonium-yhdistettä ja bentsisotiatsolinonia, on näiden kahden yhdisteen kompleksin muodossa, jossa on yksi bentsisotiatsolinoniryhmä jokaista kvaternäärisen ammoniumyhdisteen kvaternääristä ammoniumryhmää kohti.

Keksinnön mukaiset kompleksit voidaan valmistaa sekoittamalla bentsisotiatsolinonin alkalimetallisuolan, mieluummin natriumsuolan vesiliuosta kvaternäärisen ammoniumyhdisteen vesiliuokseen stökiometrisissä suhteissa. Kompleksi erottuu ja se voidaan puhdistaa liuottamalla se orgaaniseen liuottimeen, erottamalla kaikki liukenemattomat epäpuhtaudet, pesemällä liuos vedellä, kuivaamalla liuos ja poistamalla liuotin haihduttamalla tai tislaamalla alipaineessa.

Tämän keksinnön biosidivalmisteille löytyy käyttöä bakteeri- ja sienimyrkkyinä erityisesti vesipitoisessa väliaineessa esimerkiksi vesiöljy-emulsiossa vesipohjaisten maalien ja liimojen tölkkisäilytyksessä ja jääähdytys-vesijärjestelmissä; niitä voidaan käyttää myös maalikalvojen sienimyrkkyinä ja estämään sienituhoja puutavarassa. Valmisteet ovat tehokkaita myös sellaisten

anionisten yhdisteiden, kuten saippuan läsnäollessa, jotka eivät sovi yhteen pelkkien kvaternäärisen ammoniumyhdisteiden kanssa.

Mikro-organismien kasvun estämiseksi vesipitoisissa väliaineissa niihin lisätään 1 - 1000 ppm keksinnön mukaista biosidivalmistetta.

Maalikalvojen suojaamiseksi sienituhoilta maaliin lisätään ennen sen levittämistä pinnalle 500 - 10 000 ppm biosidivalmistetta.

Puun suojaamiseksi sienituhoilta puuta käsitellään liuoksella, joka sisältää 50 - 20 000 ppm keksinnön mukaista valmistetta.

Puun käsittely voidaan suorittaa kastelemalla, sivelemällä tai ruiskuttamalla keksinnön mukaisen koostumuksen vesipitoista liuosta. Valmisteen 50-%:inen liuos propyleeniglykolissa voidaan esim. laimentaa vedellä halutunvahvuiseksi liuokseksi. Näin käsitelty puu saa sitten kuivua normaalilämpötilassa tai korotetussa lämpötilassa, esimerkiksi korkeintaan 50°C:ssa muutamia tunteja.

Vaihtoehtoisesti puuta voidaan käsitellä tyhjö- tai painekyllästyksellä, jossa tapauksessa valmiste voidaan levittää vedettömästä väliaineesta, esimerkiksi hiilivetyväliaineesta, kuten tolueenista, lakkabensiinistä tai niiden seoksesta.

Keksintöä kuvataan seuraavilla esimerkeillä, joissa osat ja prosentit on laskettu painon mukaan, ellei toisin mainita, paino-osien suhteen tilavuusosien ollessa kilon suhde litraan.

Esimerkki 1

6,06 osaan 1,2-bentsisotiatsolin-3-onia lisätään 40,62 osaa natriumhydroksidiliuosta, joka on valmistettu liuottamalla 2,056 osaa natriumhydroksidia 50 osaan vettä. Seosta lämmitetään liuoksen aikaansaamiseksi ja siihen lisätään sitten sekoittaen 28,10 osaa laurylibentsyyliidimetyyliammoniumkloridin 48,5 %:sta vesiliuosta. Tapahtuu välitön faasien erottuminen ja kaksifaasisysteemiä pidetään 2 tuntia 90-100°C:ssa.

Alempi kerros (20,09 osaa) erotetaan ja kuivataan yli yön tyhjöuunissa huoneen lämpötilassa. Tuote liuotetaan 250 osaan bentseeniä ja liuosta keitetään palautusjäähdyttämällä käyttäen Dean-Stark-erotinta veden poistamiseen seoksesta. Bentseeniliuos jäähdytetään ja suodatetaan. Suodos pestään neljällä erillisellä 50 osan erällä vettä ja kuivataan sitten vedettömällä magnesiumsulfaatilla. Kuivausaine poistetaan suodattamalla ja bentseeniliuos haihdutetaan kuiviin tyhjössä. Jäljelle jäävä tuote, 16,7 osaa sisältää 0,1 % kloori-ioneja, ja sen infrapunaspektri osoittaa läsnä olevan sekä bentsisotiatsolin-3-oni- että kvaternääristä ammoniumkomponenttia.

Esimerkki 2

Vertailu 1,2-bentsisotiatsolin-3-onin (BIT) ja viimeainitun yhdisteen ja

lauryyli-bentsyyli-dimetyyliammoniumkloridin (LBDAC) kompleksin bakteereja tappavan aktiivisuuden välillä.

Pseudomonas aeruginosa-bakteerin yhden yön ikäistä viljelmää lisätään 250 ml:n kartiopulloissa väkevyyksinä 1000, 500, 250 ja 100 ppm olevan koeliuoksen 100 ml:aan 1 ml.

Koeliuokset valmistetaan liuoksesta, jossa on 1,0 g biosidia 100 ml:ssa metanolin ja veden 1:1-seosta v/v laimentamalla liuos vedellä halutun vahvuiseksi. Näin ollen koeliuos, joka sisältää 1000 ppm biosidia, sisältää myös 5 % metanolia ja alhaisemmat väkevyydet suhteessa vähemmän metanolia. Jokaista viljelmää inkuboidaan sitten pyörivällä ravistimella 25°C:ssa, ja näytteet otetaan 2 ja 6 tunnin kuluttua eloonjääneiden solujen lukumäärän määrittämiseksi. Tulokset ovat seuraavat:

	Eliömyrkyt väkevyydet (ppm)	Eloonjääneitä soluja/ml	
		<u>2 tunnin</u> kuluttua	<u>6 tunnin</u>
BIT	1000	8.0×10^6	0
	500	$<3.0 \times 10^7$	0
	250	$<3.0 \times 10^7$	$<3.0 \times 10^7$
	100	$<3.0 \times 10^7$	$<3.0 \times 10^7$
Ekvimolaarinen BIT:n ja LBDAC:n kompleksi	1000	0	0
	500	0	0
	250	0	0
	100	1.0×10^3	0
Vertailu (ei eliömyrkyä)		$<3.0 \times 10^7$	$<3.0 \times 10^7$
Vertailu (5 % metanolin vesiliuos)		$<3.0 \times 10^7$	$<3.0 \times 10^7$

Ylläolevasta käy selvästi ilmi, että kompleksilla on suurempi bakteereja tappava aktiivisuus kuin samalla määrällä pelkkää 1,2-bentsisotiatsolin-3-onia.

Vertailuna käytetty 5 %:nen metanolivesiliuos edustaa metanolin suurinta väkevyyttä kaikissa kokeissa ja osoittaa, että metanolilla ei ole havaittavaa vaikutusta tuloksiin.

Esimerkki 3

1,2-bentsisotiatsolin-3-onin (BIT) ja viimeksimainitun yhdisteen ja lauryyli-bentsyyli-dimetyyliammoniumkloridin (LBDAC) kompleksin sienä tappavan

aktiivisuuden vertailu.

Neljä 1 cm²:n nylonverkkokappaletta, joilla on yhden yön ikäinen *Aspergillus niger*-viljelmä, lisätään 100 ml:n biosidikoeliuoksiin 250 ml:n kartiopulloissa, jotka on valmistettu esimerkissä 2 kuvatulla tavalla. Jokaista viljelmää inkuboidaan sitten 25°C:ssa pyörivällä ravistimella. Kaksi nylonverkkoa poistetaan kustakin pullosta 3 tunnin kosketusajan jälkeen ja jäljelle jäävät kaksi verkkoa 6 tunnin kuluttua. Liuoksesta poistettaessa jokaista nylonverkkoa ravistellaan voimakkaasti 10 ml:ssa steriiliä vettä 5 minuutin ajan ja siirretään petri-maljassa olevaan mallasagarväliaineeseen. Viimemainittua inkuboidaan 3 päivää 25°C:ssa, minkä jälkeen sienihuovaston mahdollinen kasvu todetaan mallasagarväliaineessa. Tulokset ovat seuraavat:

	Eliömyrkyn väkevyyden (ppm)	Sienien eloonjääminen	
		3 tunnin kosketusajan jälkeen	6 tunnin kosketusajan jälkeen
BIT	1000	-	-
	500	-	-
	250	-	-
	100	+++	+++
Kompleksi	1000	-	-
	500	-	-
	250	-	-
	100	-	-
Vertailu (ei eliömyrkkyä)		+++	+++
Vertailu (metanolin 5 %:nen vesiliuos)		+++	+++

Ylläolevassa kvalitatiivisessa määrittelyssä +++ osoittaa voimakasta kasvua, kun taas - osoittaa täydellistä kuolemista. Kompleksilla on selvästi suurempi sieniä tappava aktiivisuus kuin pelkällä 1,2-bentsisotiatsolin-3-onilla.

Esimerkki 4

1,2-bentsisotiatsolin-3-onin (BIT) ja sen ja lauryylibentsyyliidimetyyliammoniumkloridin (LBDAC) kompleksin bakteerien ja sienien kasvua ehkäisevän aktiivisuuden vertailu.

1,2-bentsisotiatsolin-3-onia ja kompleksia liuotetaan molempia 1:1 v/v metanoli/vesiliuotteeseen ja liuoksia lisätään ravintoagarille ja mallasagarille aktiivisen aineosan väkevyyksien 20, 40, 60, 80, 100 ja 200 ppm aikaansaamiseksi.

Koebakteereita *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ja *Pseudomonas aeruginosa* istutetaan sivelemällä petrimaljoissa olevien ravintoagarien pinnalle yllä ilmoitetut väkevyydet. Koesieniä *Altenaria tenuis*, *Pullularia pullulans*, *Chaetomium globosum*, *Polystictus versicolor*, *Trichoderma viride* ja *Aspergillus niger* istutetaan samalla tavoin (pisteistutus) mallasagarväliaineella. Ravintoagarlevyjä inkuboidaan 1 päivä 37°C:ssa ja mallasagarlevyjä 7 päivää 28°C:ssa, sitten tutkitaan, miten mikro-organismit ovat kasvaneet. Tulokset ovat seuraavat:

Pienin ehkäisevä väkevyys (ppm) lajeja

	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staph. aureus</i>
BIT	40	20	20
Kompleksi	100	20	20

Pienin ehkäisevä väkevyys (ppm) lajeja

	<i>A. tenuis</i> vastaan	<i>P.</i> pullulans	<i>Ch.</i> globosum	<i>P.</i> versicolor	<i>T.</i> viride	<i>A.</i> niger
BIT	< 20	60	40	< 20	40	200
Kompleksi	< 20	< 20	< 20	< 20	40	60
LBDAC	80	< 20	200	< 20	200	< 200

Ylläolevasta voidaan nähdä, että kompleksin sienien kasvua ehkäisevä aktiivisuus on yleensä jonkin verran suurempi kuin kummankaan kompleksin komponentin yksin käytettynä.

Esimerkki 5

Pelkän 1,2-bentsisotiatsolin-3-onin (BIT) ja sen ja kationisten yhdisteiden laurylibentsyyliidimetyyliammoniumkloridin (LBDAC), setyyliitrimetyyliammoniumbromidin (CTAB) ja setyyliipyridiniumkloridin (CPC) seosten, sekä sen ja ionitoman adduktin, jossa on 1 mooli nonyylifenolia ja 8 moolia etyleenioksidia, ja sen ja anionisen natriumdioktyylisulfosukkinaatin (SDSS) seosten sieniä tappavan aktiivisuuden vertailu.

Steriloiduille, mallasagarilla oleville 1 cm²:n nylonverkkokappaleille ympätään *Aspergillus-niger*-lajin itiösuspensiota ja inkuboidaan 24 tuntia 25°C:ssa, minkä ajan kuluttua verkko on sienihuovaston peitossa samalla kun itiönmuodostus jatkuu. Jokaisesta kokeiltavasta biosidivalmisteesta valmistetaan vaa-dittu väkevyys 100 ml:n vesitilavuuteen 250 ml:n kartiopulloon. Neljä sienillä ympättyä verkkoa siirretään jokaiseen pulloon ja pulloja pyöritetään sitten kiertoravistimella. Kaksi verkkoa poistetaan jokaisesta pullosta 3 tunnin kuluttua ja jäljellä olevat kaksi verkkoa 6 tunnin inkuboinnin jälkeen. Jokaista verkkoa ravistellaan voimakkaasti 15 ml:ssa steriiliä vettä, ennenkuin ne siirretään mallasagarlevylle. Viimemainittua inkuboidaan 3 päivää 25°C:ssa, minkä jälkeen

nylonverkkojen sienikasvu todetaan. Kasvun puuttuminen mallasagarlevyllä olevalta nylonverkolta tais sen ympäriltä osoittaa sienihuovaston täydellistä kuolemista.

Tulokset ovat seuraavat:

Eliömyrkky (ppm)	Sienien eloonjääminen	
	<u>3 tunnin</u> kosketusajan jälkeen	<u>6 tunnin</u> jälkeen
Vertailu (ei eliömyrkkyä)	+++	+++
BIT x (1000)	+++	+
BIT x (100)	+++	+++
BIT (100) + LBDAC (20)	-	-
BIT (100) + LBDAC (10)	+	-
BIT (100) + CTAB (20)	+	-
BIT (100) + CTAB (10)	++	-
BIT (100) + CPC (20)	++	-
BIT (100) + CPC (10)	++	+
BIT (100) + addukti (10)	+++	+++
BIT (100) + SDSS (10)	+++	+++
LBDAC (20)	+++	+++
CTAB (20)	+++	+++
CPC (20)	+++	+++
Addukti (10)	+++	+++
SDSS (10)	+++	+++

x Tässä tapauksessa BIT:a käytettiin liuoksen muodossa, jossa oli BIT (33,3 %), etyleenidiamiinia (24,0 %) ja vettä (42,7 %) (painoprosentteja).

Ylläolevassa taulukossa +++, ++ ja + tarkoittavat voimakasta kasvua, kohtalaista kasvua ja vähäistä kasvua tässä järjestyksessä ja - tarkoittaa täydellistä kuolemista.

Ylläolevat kokeet osoittavat, että kationisten yhdisteiden lauryyli-bentsyyliidimetyyliammoniumkloridin, setyyli(trimetyyli)ammoniumbromidin ja setyyli(pyridinium)kloridin läsnäollessa 1,2-bentsisotiatsolin-3-oni on tehokkaampi sienimyrkky kuin yksin käytettynä. On myös ilmeistä, että pinta-aktiivisilla ionittomalla nonyyli-fenolin ja etyleenioksidin adduktilla ja anionisella natriumdioktyyli-sulfosukkinaatilla ei ole samanlaista tehoa parantavaa vaikutusta 1,2-bentsisotiatsolin-3-oniin.

Seuraava koe esittää yksityiskohtaisemmin vaikutusta, joka saadaan käytettäessä 1,2-bentsisotiatsolin-3-onia ja laurylibentsyylidimetyyliammoniumkloridia yhdessä. Kaikki muut yksityiskohtat ovat samoja kuin edellä.

Sienien eloonjääminen kosketusajan

<u>Eliömyrkky (ppm)</u>		<u>1 tunti</u>	<u>2 tuntia</u> <u>jälkeen</u>	<u>4 tuntia</u>	<u>6 tuntia</u>
BIT*	1000	+++	+	+	-
	500	+++	+++	+++	+++
	100	+++	+++	+++	+++
	50	+++	+++	+++	+++
LBDAC	50	+++	+++	+++	+++
"	20	+++	+++	+++	+++
"	10	+++	+++	+++	+++
BIT(100) + LBDAC(20)		+++	+	-	-
BIT(100) + LBDAC(10)		+++	+++	-	-
BIT (50) + LBDAC(10)		+	+	+	-

x Tässä tapauksessa käytetty BIT oli vesipitoisen etyleenidiamiini-liuoksen muodossa, jollaista kuvattiin tämän esimerkin ensimmäisessä osassa.

Esimerkki 6

Pelkän 1,2-bentsisotiatsolin-3-onin (BIT) ja sen ja laurylibentsyylidimetyyliammoniumkloridin (LBDAC), nonyylifenolin ja 8 etyleenioksidimoolin adduktin sekä natriumdioktyylisulfosukkinaatin (SDSS) yhdistelmien bakteereja tappavan aktiivisuuden vertailu.

Valmistetaan kokeiltavat biosidiliuokset haluttuun väkevyyteen 100 ml:n vesitilavuuksiin 250 ml:n kartiopulloihin. Vertailu käsitte 100 ml steriiliä vettä. 1 ml 24 tunnin ikäisen *Pseudomonas aeruginosa*-viljelmän suspensiota siirretään jokaiseen pulloon ja pulloja inkuboidaan sitten 25°C:ssa kiertoravistimella. Eloonjääneiden bakteerien lukumäärät määritetään 1, 2 ja 6 tunnin kuluttua. Tulokset ovat seuraavat:

Eliömyrkky (ppm)	Eloonjääneitä bakteereja (lukum. /ml)		
	<u>1 tunnin</u>	<u>2 tunnin</u>	<u>6 tunnin kuluttua</u>
BIT* (1000)	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$	< 10
BIT* (100)	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$
LBDAC (10)	30×10^5	42×10^4	120×10^3
Addukti (10)	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$
SDSS (10)	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$
BIT(100) + LBDAC(10)	110×10^4	57×10^3	< 10
BIT(100) + addukti	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$
BIT(100) + SDSS (10)	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$
Vertailu	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$	$> 300 \times 10^5$

x Tässä tapauksessa BIT:a käytettiin vesipitoisen etyleenidiamiinin liuoksen muodossa, jollainen kuvattiin esimerkin 5 ensimmäisessä osassa.

Bentsisotiatsolinonin ja laurylibentsyyliidimetyyliammoniumkloridin yhdistelmällä suhteessa 100 ppm : 10 ppm on aktiivisuutta 6 tunnin kuluttua, kun taas muilla yhdistelmillä ei ole aktiivisuutta, ja se on yhtä aktiivinen kuin 1000 ppm pelkkää bentsisotiatsolinonia.

Esimerkki 7

1,2-bentsisotiatsolin-3-onin (BIT) ja sen laurylibentsyyliidimetyyliammoniumkloridin (LBDAC) kanssa muodostaman kompleksin vertailu maalikalvon sienimyrkkyinä.

Biosideja sekoitetaan emulsiomaaliin alla esitettyjen väkevyyksien (p/p) aikaansaamiseksi tuoreeseen maaliin. Kaupallisesti saatavaa sienimyrkkyä, 2-(4'-tiatsolyyli)-bentsimidatsolia käytetään vertailuna. Tölkissä olevaa maalia säilytetään sitten 50°C:ssa 2 viikkoa pidennetyn varastoinnin jäljittelemiseksi. Käsiteltyä maalia levitetään halkaisijaltaan 5,5 cm:n suodatinpaperin toiselle puolelle ja 24 tunnin kuluttua toinen maalikerros levitetään samalle puolelle.

Toiselle sarjalle suodatinpapereita, jotka on päällystetty kahdella käsitellyn maalin kerroksella, suoritetaan säänkestokoe, joka

käsittää 24 tunnin kasteluvaiheen standardisuihkukaapissa (BS 3900 F4) ja 24 tunnin kuumennuksen uunissa 65°C:ssa.

Suodatinpaperit siirretään sitten petrimaljassa olevalle mallasagarille (maalipinta ylöspäin) ja osalle niistä ympätään koestientä *Pullularia pullulans* ja toiselle osalle *Alternaria tenuis*-sientä. Ympäinä käytetään koeorganismien suspensiosta, jota ruiskutetaan petrimaljassa olevalle maalatulle suodatinpaperille ja ympäröivälle agarlevylle. Ympättyjä maalikalvoja inkuboidaan 25°C:ssa 5 päivää, minkä jälkeen suodatinpapereista tutkitaan esiintyvä sienikasvusto. Tulokset ovat seuraavat:

Yhdiste (ppm)	Eliömyrkyksen pienin ehkäisevä määrä maalikalvossa			
	Varastoinnin jälkeen		Sääkokeen jälkeen	
	Alt. tenuis	P. Pullulans	Alt. tenuis	P. Pullulans
BIT:n ja LBDAC:n kompleksi (1000,3000)	1000	1000	3000	1000
BIT (500,1000, 2000,3000)	500	500	3000	3000
2-(4'-tiatsolyyli)-bentsimidatsoli (1000,3000)	3000	1000	3000	1000

Koska vain kolmasosa kompleksin painosta on BIT:ia, on selvää, että BIT on aktiivisempi maalikalvon sienimyrkkinä ollessaan LBDAC:n kanssa muodostamansa kompleksin muodossa kuin yksin käytettynä.

Esimerkki 8

1,2-bentsisotiatsolin-3-oni (BIT/laurylibentsyyliidimetyyliammonium-kloridin (LBDAC)-kompleksin aktiivisuus sieniä tappavana aineena estettäessä selluloosaa hajottavien sienien kasvua puun pinnalla.

Mallasagarlevyjä ruiskutettiin *Polystictus versicolor*- tai *Chrysosporium lignorum*-lajin suspensiolla. Kolme kuutiomaista pyökkipuupalasta (särmä 1 cm) upotettiin 5 minuutiksi 0,3 %:seen p/v BIT/LBDAC-kompleksin vesiliuokseen, (so. joka sisälsi 0,3 g kompleksia 100 ml:ssa liuosta); valmistettu lisäämällä kompleksin 50 %:sta propyleeniglykoliliuosta veteen), kuivattiin 50°C:ssa 4 tuntia ja vakioitiin huoneen lämpötilassa 20 tuntia.

PV 900 (poly(vinyylidikloridi))-seulaverkko, joka oli edeltäkäsikin upotettu 70 %:seen etanoliin 36 tunniksi ja annettu kuivua, siirrettiin jokaisella levyllä olevan ympätyn agarin pinnalle. Kaikki kolme eliömyrkyllä käsiteltyä pyökkipuupalasta asetettiin seulaverkolla ja inkuboitiin 25°C:ssa kolme viikkoa. Palasista tutkittiin sitten sienikasvuston esiintyminen. Tulokset ovat seuraavat:

Käsittely

Polystictus versicolor- ja Chrysosporium
lignorum-lajin kasvu pyökkipalalla

Vertailu (ei eliömyrkkyä)

+++

++

BIT/LBDAC-kompleksin 0,3 %:nen
liuos

-

-

Avain: +++ osoittaa voimakasta kasvua

++ " kohtalaista kasvua

- " , että ei kasvua lainkaan (täydellinen kuoleminen)

Tuloksista käy selvästi ilmi, että BIT/LBDAC-kompleksi yllä mainitulla väkevyydellä estää sienien kasvua pyökkipuulla.

Esimerkki 9

BIT/LBDAC-kompleksin vaikutus nitrobakteerien aiheuttaman nitriittien hapettumisen hidastamiseen koejäähdytystornisysteemissä.

Rakennettiin koejäähdytystornisysteemi, joka koostui puisesta kehikosta, jota tuki kuusi puista poikkipienaa, kehikon ollessa asennettu säiliön yläpuolelle, jossa oli 10 litraa vettä, joka sisälsi natriumnitriittiä korroosionestoaineena. Veteen lisättiin sitten 1 g jäähdytystornilietettä, jonka tiedettiin sisältävän nitrobakteereja ja säiliössä oleva vesi suunnattiin puisten poikkipienojen huipulle Churchill-pumpun avulla niin, että vesi valui pienoja pitkin ja palasi säiliöön. Ellei eliömyrkkyä lisätä veteen, puiset poikkipienat peittyvät nitrobakteereja sisältävällä lietteellä, joka nopeasti hapettaa nitriitin nitraatiksi.

Aluksi nitriitin häviämisenopeus systeemistä määritettiin ilman eliömyrkkyä ottamalla vesinäytteitä ja analysoimalla niiden nitriittipitoisuus. Nitriitin määrä säädettiin sitten suurempaan väkevyyteen, ennenkuin 150 ppm BIT/LBDAC-kompleksia lisättiin veteen. "Jäähdytystorni"-vettä kiertettiin sitten tarvittava aika, kunnes nitriitin väkevyyks oli laskenut huomattavasti, systeemissä oleva vesi valutettiin pois ja tuoretta nitriittiä sisältävää vettä lisättiin. Ennenkuin seuraava eliömyrkky lisättiin koetta varten, nitriitin häviämisenopeus eliömyrkkyttömässä systeemissä tarkistettiin, jotta varmistettaisiin, että nitriittiä hapettava aktiivisuus oli normalisoitunut, so. kaikkia eliömyrkkyjä verrattiin peräkkäin samassa systeemissä. Tulokset ovat seuraavat:

56920

Eliömyrkky ja veteen alunperin lisätty väkevyys	Kiertoaika (päiviä)	Vedessä havaittu nitriit- timäärä (ppm)
Vertailu (ei eliömyrkkyä)	0	965
	2	450
	4	517
	8	316
LBDAC, 250 ppm.	0	494
	2	550
	3	496
	6	550
	7	470
	8	470
	10	522
	14	360
	17	317
Poly(heksametyleenibiguanidi)- hydrokloridi, 85 ppm.	0	840
	4	705
	11	260
	18	125
	25	0
BIT/LBDAC-kompleksi, 150 ppm.	0	690
	2	752
	5	710
	9	655
	16	580
	23	730
	51	538
	58	530

Nämä tulokset osoittavat, että koeolosuhteissa BIT/LBDAC-kompleksi on huomattavasti tehokkaampi kuin joko pelkkä LBDAC tai poly(heksametyleenibiguanidi)hydrokloridi (hyvin tunnettu bakteerimyrkky). Samalla kun nämä kaksi yhdistettä ylläpitävät nitriittiväkevyyden alkuperäistä tasoa edellinen n. 10 ja jälkimmäinen 4 päivää, mitään merkittävää nitriittimäärän alenemista ei tapahtunut 58 päivän kuluttua BIT/LBDAC-kompleksilla käsiteltyssä vedessä.

Esimerkki 10

BIT/LBDAC-kompleksin tehokkuus nitrobakteerien aiheuttaman nitriitin hapettumisen hidastamisessa jäähdytystornissa.

Tässä kokeessa käytettiin täyspuista jäähdytystornisysteemiä, jonka kapasiteetti oli 114 m^3 ja maksimilämpötila 32°C . Ennenkuin eliömyrkkyä lisättiin, jäähdytysvettä laskettiin pois niin, että lisättäessä nitriittiä 500 ppm:n väkevyyden aikaansaamiseksi kiinteiden aineiden koko-

naismäärä on korkeintaan 1000 ppm. Eliömyrkkyä (BIT/LBDAC-kompleksia) lisättiin jakoaukoista, jotka olivat tornin huipulla, aktiivisen aineosan 150 ppm:n alkuväkevyyden aikaansaamiseksi.

Yksi ainoa eliömyrkkyannos hillitsi mikrobiaktiivisuuden ja esti näin ol-
len nitriitin häviämisen systeemistä jopa kahdeksan viikon ajan. Vertailu kvater-
näärysten ammoniumyhdisteiden kanssa osoitti, että BIT/LBDAC-kompleksi saa aikaan
ainakin 7 kertaa pitempiaikaisen suojauksen kuin 250 ppm LBDAC yksin.

Esimerkki 11

Tässä kokeessa vertailtiin BIT:n ja LBDAC:n yhdistelmän bakteereja tappa-
vaa aktiivisuutta. Tulokset ovat seuraavat:

Eliömyrkky	Eloonjääneitä bakteereja (soluja/ml) 3 tunnin kosketusajan jälkeen
Vertailu (ei eliömyrkkyä)	$1,73 \times 10^7$
BIT, 200 ppm	$8,0 \times 10^8$
LBDAC, 20 ppm	$8,3 \times 10^3$
BIT (100) + LBDAC (10)	10

Kaikki väkevytydet tarkoittavat aktiivista aineosaa.

BIT:n ja LBDAC:n yhdessä toimiessaan osoittama synergismi nähdään
selvästi.

Esimerkki 12

Seuraavissa kokeissa on verrattu 1,2-bentsisotiatsolin-3-onin lauryyli-
bentsyyliidimetyyliammoniumsuolan bakteerien ja sienien kasvua estävää vaikutus-
ta lauryyllibentsyyliidimetyyliammoniumkloridin ja 1,2-bentsisotiatsolin-3-onin
vaikutukseen. Kokeet suoritettiin seuraavasti:

Koeyhdisteitä lisättiin kutakin erikseen ravintoagar- ja mallasagar-
kasvuväliaineeseen ilmoitettuina väkevyyksinä. Agarväliaineet valettiin petri-
maljoihin, joihin agarin jähmetyttyä ympättiin *Aerobacter aerogenes*-bakteerin
12 tunnin viljelmää (ravintoagar) tai vastaavasti sienien *Trichoderma viride*,
Aspergillus niger ja *Chaetomium globosum* itiösuspensiota (mallasager). Ravinto-
agarina inkuboitiin 2 vrk 30°C:ssa ja mallasagarina 5 vrk 25°C:ssa. Tulokset
nähdään seuraavissa taulukoissa:

TAULUKKO IAerobacter aerogenes - bakteerin kasvu eri biosidien läsnäollessa

1,2-bentsisotiatsolin-3-onin laurylibentsyylidimetyyli- ammoniumsuola	1,2-bentsisotiatsolin- 3-oni	Laurylibentsyyli- dimetyyliammonium- kloridi
100 ppm, -	66 ppm, -	132 ppm, -
50 ppm, -	33 ppm, +	66 ppm, +
25 ppm, -	16,5 ppm, +	33 ppm, +
12,5 ppm, +	8,25 ppm, +	16,5 ppm, +
6,25 ppm, +	4,12 ppm, +	8,25 ppm, +

- = bakteerikasvu täysin estynyt

+ = bakteerikasvu ei ole estynyt

TAULUKKO II

Sienien Trichoderma viride, Chaetomium globosum ja
Aspergillus niger kasvu

Pesäkkeen läpimitta, mm			
Käsittely	T. viride	Ch. globosum	Asp. niger
1,2-bentsisotiatsolin-3-onin laurylibentsyylidimetyyli ammoniumsuola			
100 ppm	0	0	13
50 ppm	0	0	17
25 ppm	10	0	22
17,5 ppm	71	0	30
6,25 ppm	85	65	33
1,2-bentsisotiatsolin-3-oni:			
66 ppm	60	16	40
33 ppm	75	40	50
16,5 ppm	80	40	58
8,25 ppm	80	60	58
4,12 ppm	85	65	50
Laurylibentsyylidimetyyli- ammoniumkloridi:			
132 ppm	0	0	22
66 ppm	30	20	26
33 ppm	45	35	30
16,5 ppm	70	35	34
8,25 ppm	85	39	43
Kontrolli (ei biosidia)	85	72	45

Edellä olevissa tuloksissa 1,2-bentsisotiatsolin-3-onin laurylibentsyyli-dimetyyliammoniumsuolaa väkevyydessä 100 ppm on verrattava 1,2-bentsisotiatsolin-3-oniin väkevyydessä 66 ppm ja laurylibentsyyli-dimetyyliammoniumkloridiin väkevyydessä 132 ppm, koska suolan komponenttien molekyyli-painot ovat sellaiset, että 100 ppm suolaa sisältää 33,3, ppm 1,2-bentsisotiatsolin-3-onin anionia ja 66,6 ppm laurylibentsyyli-dimetyyliammoniumkationia. Niin ollen jos 100 ppm suolaa estää kasvun, kun taas 66 ppm 1,2-bentsisotiatsolin-3-onia tai 132 ppm laurylibentsyyli-dimetyyliammoniumkloridia ei tee sitä, on kahden jälkimmäisen yhdisteen yhdistelmä tehokkaampi kuin kaksinkertainen määrä kumpaakin yhdistettä erikseen, mikä osoittaa suolan synergismin.

Mitä tulee bakteeriin *Aerobacter aerogenes* ja sieniin *Trichoderma viride* ja *Chaetomium globosum*, suolan synergismi verrattuna suolan yksittäisiin komponentteihin voidaan selvästi osoittaa. *Aspergillus niger*-sienen ollessa kysymyksessä synergistinen vaikutus on vielä selvä ja varma, joskaan ei yhtä selvä kuin yllä mainittujen organismien tapauksessa.

Patenttivaatimukset:

1. Biosidikoostumus, t u n n e t t u siitä, että se sisältää 1,2-bentsisotiatsolin-3-onia (I) ja kvaternääristä ammoniumyhdistettä (II), jolla on kaava



joissa kaavoissa R on $\text{C}_{10}\text{--}\text{C}_{22}$ -alkyyli-ryhmä, R_1 ja R_2 ovat $\text{C}_1\text{--}\text{C}_4$ -alkyyli-ryhmiä ja X^- on halogenidi-ioni, moolisuhteessa I:II 1,0:0,04 - 1,0:1,0.

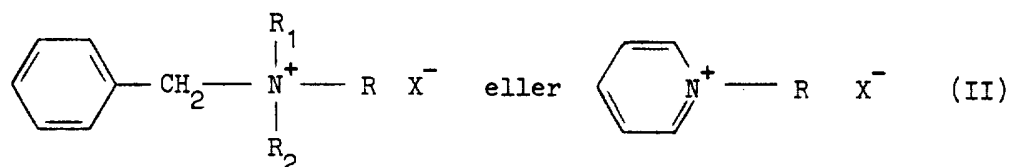
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen biosidikoostumus, t u n n e t t u siitä, että kvaternäärinen ammoniumyhdiste ja 1,2-bentsisotiatsolin-3-oni ovat näiden kahden yhdisteen kompleksin muodossa, jossa on yksi bentsisotiatsolinoniryhmä jokaista kvaternäärisen ammoniumyhdisteen kvaternääristä ammoniumryhmää kohti.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen biosidikoostumus, t u n n e t t u siitä, että kvaternäärinen ammoniumyhdiste on laurylibentsyyli-dimetyyli-ammoniumsuola.

4. Menetelmä patenttivaatimuksen 2 mukaisen biosidikoostumuksen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että sekoitetaan stökiometrisessä suhteessa 1,2-bentsisotiatsolin-3-onin alkalimetallisuolan vesiliuosta ja kvaternäärisen ammoniumyhdisteen vesiliuosta ja otetaan talteen erottunut kompleksi.

Patentkrav:

1. Biocidkomposition, k ä n n e t e c k n a d därav, att den innehåller 1,2-bensisotiazolin-3-on (I) och en kvaternär ammoniumförening (II) med formeln



i vilka formler R är en $\text{C}_{10}\text{-C}_{22}$ -alkylgrupp, R_1 och R_2 är $\text{C}_1\text{-C}_4$ -alkylgrupper och X^- är en halogenid-ion, i ett molförhållande av I:II 1,0:0,04 - 1,0:1,0.

2. Biocidkomposition enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att den kvaternära ammoniumföreningen och 1,2-bensisotiazolin-3-onet föreligger i form av ett komplex av dessa två föreningar, vilken innehåller en bensisotiazolinongrupp för varje kvaternär ammoniumgrupp i den kvaternära ammoniumföreningen.

3. Biocidkomposition enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a d därav, att den kvaternära ammoniumföreningen är ett laurylbensyldimetylammoniumsalt.

4. Förfarande för framställning av biocidkompositionen enligt patentkravet 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att en vattenhaltig lösning av 1,2-bensisotiazolin-3-onets alkalimetallsalt och en vattenhaltig lösning av den kvaternära ammoniumföreningen blandas med varandra i stökiometriskt förhållande och det avskilda komplexet tillvaratages.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

-