

***In breve.** La crescita batterica nei sistemi idrici industriali porta alla formazione di biofilm, in cui il vive 90% dei batteri, protetto da una matrice di sostanze polimeriche extracellulari (EPS). Per controllarlo, i trattamenti di sanificazione utilizzano disperdenti per rompere l'EPS e biocidi per eliminare efficacemente i microrganismi, accompagnati dal monitoraggio del biofilm per verificarne i risultati. I biocidi sono sostanze chimiche regolamentate con caratteristiche ideali quali efficacia a basse dosi, ampio spettro d'azione e ridotto impatto ambientale. Si suddividono in due classi principali: biocidi ossidanti, che agiscono rapidamente tramite reazioni di ossidoriduzione e includono agenti a base di cloro e bromo, ozono, perossido di idrogeno e acido peracetico; e biocidi non ossidanti, che agiscono più lentamente attraverso meccanismi specifici sulle cellule, tendono a essere più stabili e comprendono composti di ammonio quaternario, BHAP, bronopol, DBNPA, glutaraldeide e isotiazolinoni. La combinazione di entrambi può ottimizzare il controllo del biofilm riducendo effetti indesiderati come corrosione o persistenza nelle acque reflue.*

In qualsiasi impianto industriale in cui si utilizzino acqua o altri liquidi è necessario adottare pratiche volte a tenere sotto controllo la crescita batterica, poiché in ambiente liquido i microrganismi possono proliferare con estrema velocità, causando numerose problematiche. Qualora le condizioni lo permettano (presenza di nutrienti, ridotta velocità di flusso, temperatura adatta, ecc.) la crescita di colonie batteriche sulle superfici interne delle tubazioni e delle cisterne avviene in maniera particolarmente favorevole. In questo caso ha luogo lo sviluppo del cosiddetto "biofilm". Esso costituisce un fenomeno di primaria importanza, in quanto il 90% dei batteri totali si trova sotto forma di biofilm, mentre solo il 10% vive libero nel liquido (Fig. 1). Inoltre, i batteri che vivono nel biofilm producono sostanze polimeriche extracellulari (EPS) che formano un rivestimento protettivo, che ne aumenta fino a 1000 volte la resistenza agli agenti esterni.

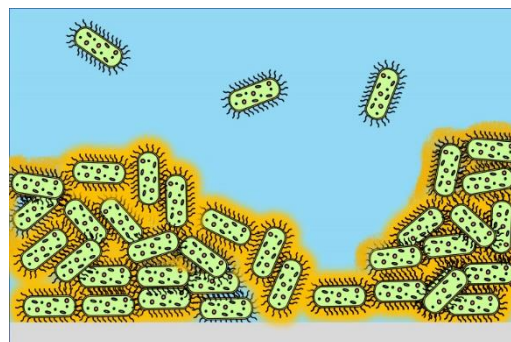


Figura 1: Le sostanze polimeriche extracellulari (in giallo) formano un rivestimento protettivo per i batteri del biofilm

Per eliminare le comunità di microrganismi che si sviluppano negli impianti, possono essere applicati trattamenti fisici (irraggiamento UV, ultrasuoni, ecc..) o chimici (agenti biocidi / sanificanti). Un trattamento di sanificazione ideale deve avere carattere:

- biodisperdente: eliminare lo strato protettivo di EPS, permettendo che l'agente biocida penetri più facilmente nel biofilm;
- microbiocida: ridurre la carica microbologica eliminando i batteri grazie all'azione chimica dei biocidi;
- batteriostatico: mantenere bassa nel tempo la concentrazione di microrganismi.

Biopenetranti

I biopenetranti, o biodisperdenti, sono composti che reagiscono selettivamente con il deposito che si forma sulla superficie delle tubature e con la matrice del biofilm, formata dalle sostanze polimeriche extracellulari. I biopenetranti aumentano l'efficacia dei trattamenti biocidi, poiché rompono la matrice polimerica e favoriscono la penetrazione dei biocidi all'interno del biofilm. Distruggendo lo "scudo protettivo" del biofilm, le cellule batteriche risultano direttamente esposte in soluzione all'attacco dei biocidi e, quindi, più facilmente eliminabili.

Inoltre, grazie all'azione dei biopenetranti, i biocidi non vengono consumati dalla reazione con le EPS e risultano completamente disponibili per agire contro i batteri; ciò consente di diminuire il dosaggio dei biocidi e il relativo costo.

Dal punto di vista della struttura chimica, i biodispersanti possono essere molto diversi tra loro: composti anionici o cationici, polimeri non ionici oppure enzimi. Questi ultimi stanno avendo un impiego sempre maggiore nel trattamento delle acque, grazie anche all'aumento di sensibilità riguardo l'impatto ambientale dei trattamenti biocidi. Gli enzimi infatti, essendo proteine, sono completamente biodegradabili, e non portano alla formazione di sottoprodotti tossici. Lo svantaggio dell'uso di enzimi è il costo, molto alto a causa dei processi biotecnologici necessari per produrli, e la suscettibilità a condizioni (pH estremi, temperature elevate, ambiente molto ossidante) che possono denaturarli.

Va ricordato, tuttavia, che i biopenetranti sono dei coadiuvanti, e non possono sostituire i biocidi per quanto riguarda l'azione battericida; solitamente vengono dosati nel sistema prima dei biocidi, in maniera tale che i batteri risultino esposti ed eliminabili più efficacemente dai biocidi. Se utilizzati nel modo scorretto, i biopenetranti possono anche avere un effetto controproducente, liberando in soluzione un enorme numero di batteri, provenienti dal biofilm.

Biocidi

I biocidi sono composti chimici impiegati nei trattamenti di sanificazione delle acque per eliminare o ridurre la carica batterica; essendo composti potenzialmente pericolosi, sono regolamentati da leggi stringenti, sia per quanto riguarda il dosaggio sia per la concentrazione massima consentita negli scarichi industriali. In Unione Europea l'uso corretto dei biocidi è descritto nel BPR (*Biocidal Products Regulation* - regolamento UE 528/2012) e l'autorizzazione per l'uso di biocidi in ogni specifica applicazione spetta all'autorità competente, ossia l'ECHA (*European Chemicals Agency*). Negli USA l'organo deputato è invece l'EPA (*Environmental Protection Agency*), che ha redatto il FIFRA (*Federal Insecticide Fungicide and Rodenticide Act*), un documento in cui sono contenute anche le regolamentazioni riguardo l'uso di biocidi, definiti "pesticidi antimicrobici". In generale, in tutti i paesi sono presenti regolamenti o leggi riguardo l'uso di biocidi; questi sono costantemente aggiornati e implementati dal momento che si tende a limitare il più possibile l'impiego di composti potenzialmente dannosi per l'ambiente.

Le proprietà di un biocida ideale sono molteplici:

- buona efficacia anche a basse concentrazioni;
- velocità d'azione;
- applicabilità in un ampio range di condizioni operative (pH, temperatura, ecc.);
- ampio spettro di attività (efficacia contro un elevato numero specie batteriche);
- basso impatto ambientale (assenza di solventi organici e metalli pesanti, ridotta formazione di sottoprodotti tossici, bassa persistenza nelle acque);
- sicurezza per gli operatori;
- basso costo.

Come si vedrà nel dettaglio (Tab. 2), nessun composto potrà mai soddisfare tutti i requisiti, così come nessun composto potrà funzionare ugualmente bene per ogni applicazione; la scelta del trattamento, infatti, deve essere sempre valutata in base all'applicazione specifica. A tale scopo, vanno considerati i seguenti fattori:

- frequenza e tempo di contatto del trattamento;
- uso di additivi o biopenetranti;
- velocità di flusso nel sistema;
- carica microbiologica;
- compatibilità con i sistemi e gli impianti;
- interferenza con altri composti come inibitori o contaminanti.

Anche tenendo in considerazione tutti gli aspetti sopra riportati per una scelta ponderata del biocida, va sottolineato che non è possibile prevedere con esattezza e sicurezza l'efficacia del protocollo applicato; per questo motivo il monitoraggio del biofilm è l'approccio migliore per verificare l'esito effettivo di un trattamento di sanificazione.

I Sensori sviluppati grazie alle tecnologie ALVIM danno la possibilità di monitorare in real-time la crescita e l'eliminazione i biofilm e valutare, quindi, se il protocollo di sanificazione sia applicato in maniera efficace ed ottimale.

I biocidi sono, generalmente, composti chimici molto reattivi che si degradano velocemente in sottoprodotti denominati DBP (*Disinfection By- Products*); sul mercato ne esistono un gran numero, in varie formulazioni, e si dividono in due macro-categorie: biocidi ossidanti e non ossidanti.

Biocidi ossidanti

I biocidi ossidanti (BO) sono i più largamente utilizzati per il trattamento delle acque, in ragione dei notevoli vantaggi offerti: sono poco costosi, agiscono rapidamente e sono efficaci anche a concentrazioni relativamente basse.

L'elevata reattività dei biocidi ossidanti e, di conseguenza, la loro scarsa selettività, li rende attivi contro un'ampia gamma di microrganismi, secondo numerose modalità d'azione; per questo motivo non inducono fenomeni di resistenza. Il principale meccanismo di disattivazione dell'attività microbica è una reazione di trasferimento elettronico: l'agente biocida si riduce, ossidando composti organici come proteine, lipidi o acidi grassi che sono costituenti essenziali della cellula. Secondo lo stesso meccanismo il biocida ossidante può reagire con le sostanze polimeriche extracellulari (EPS) che rivestono il biofilm e proteggono i batteri.

Alcuni biocidi ossidanti reagiscono preferenzialmente con lo strato di EPS, perciò vengono consumati prima di penetrare a fondo nel biofilm; altri biocidi, invece, risultano meno reattivi nei confronti dello strato di EPS e penetrano con maggior facilità, eliminando più efficacemente i batteri che costituiscono il biofilm. Si può affermare che la reattività verso le sostanze polimeriche extracellulari sia inversamente proporzionale alla capacità di penetrazione del biofilm (Fig. 2).

In genere, i BO sono molto reattivi e possono interagire anche con additivi, contaminanti o altri composti organici presenti nel sistema; essendo sensibili alla domanda ossidante totale del sistema, solitamente si utilizzano in eccesso, per assicurare nell'acqua un residuo attivo nel tempo.

Il principale svantaggio dei biocidi ossidanti, dovuto al loro potenziale ossidoriduttivo, è la tendenza a indurre corrosione nei materiali metallici; per tale motivo, vengono spesso utilizzati in combinazione con inibitori di corrosione, composti chimici che rallentano la degradazione elettrochimica dei metalli per inibizione catodica o anodica. I BO, inoltre, risentono delle variazioni di alcuni parametri come pH e temperatura, e sono quindi sensibili alle condizioni operative del sistema.

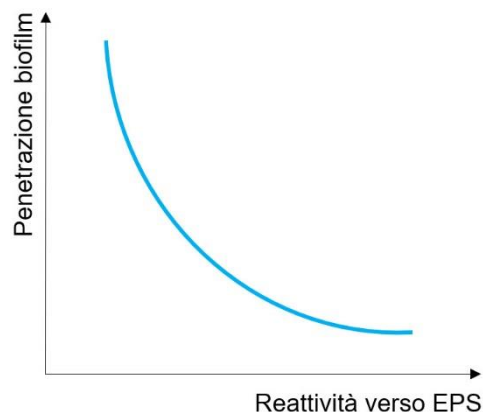


Figura 2: La capacità del biocida di penetrare il biofilm è inversamente proporzionale alla sua reattività nei confronti dello strato di EPS

I biocidi ossidanti più comunemente utilizzati sono i composti a base di cloro e bromo (Cl₂, acido ipocloroso, ipoclorito di sodio, biossido di cloro, acido ipobromoso, bromuri attivi, ecc), l'ozono, l'acqua ossigenata e l'acido peracetico.

Nella tabella che segue sono riportati alcuni BO in ordine decrescente di potere ossidante; il potenziale di ossido riduzione (ORP) è infatti una misura della tendenza ad acquistare elettroni. Un valore di ORP alto significa quindi che il composto si riduce facilmente, ossia ha un grande potere ossidante.

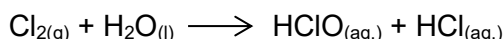
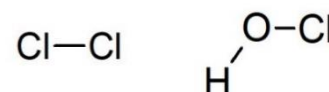
Un trattamento con biocidi ossidanti fa aumentare il valore di ORP del sistema, parametro che i Sensori ALVIM sono in grado di rilevare, permettendo di verificare il corretto dosaggio e la distribuzione del biocida in un impianto.

Tabella 1: Potenziale di riduzione

Composto	Formula	ORP (V)
Radicale idrossido	OH ·	2.80
Ozono	O ₃	2.07
Acqua ossigenata	H ₂ O ₂	1.78
Biossido di cloro	ClO ₂	1.57
Acido ipocloroso	HOCl	1.49
Cloro	Cl ₂	1.36
Ipclorito	OCl ⁻	0.94
Monoclorammina	NH ₂ Cl	0.75

Cloro

L'uso di cloro è il metodo più antico per la sanificazione chimica dell'acqua ed è tuttora utilizzato, poiché molto economico e con una buona efficacia. L'azione biocida del cloro non viene svolta direttamente dalla molecola gassosa di Cl₂, bensì dai composti che si formano quando idrolizza. Infatti il cloro in acqua subisce la reazione di idrolisi riportata di seguito, che porta alla formazione di acido ipocloroso e acido cloridrico.



Le reazioni di ossido-riduzione con effetto biocida avvengono, quindi, tra l'acido ipocloroso (in equilibrio tra le forme HClO e ClO⁻) e i componenti delle cellule batteriche. L'acido cloridrico invece è responsabile dell'abbassamento del pH del sistema; più è alto il pH, più cloro sarà necessario per eliminare i batteri presenti.

Essendo molto reattivo, il cloro reagisce con contaminanti, composti organici o altri additivi che possono essere presenti nel sistema, oltre che con le sostanze polimeriche extracellulari che ricoprono il biofilm. Il cloro è caratterizzato da cinetiche di reazione con altre molecole molto superiori rispetto a quelle di diffusione all'interno del biofilm, quindi tende a reagire preferenzialmente con le componenti abiotiche dell'EPS; affinché il trattamento penetri a fondo nel biofilm è necessario, perciò, che il

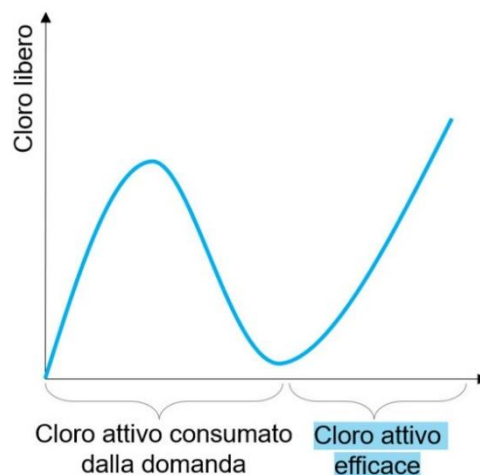
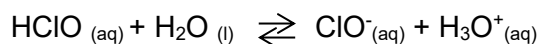


Figura 3: Curva di clorazione

dosaggio sia medio-alto. La clorazione, infatti, ha efficacia biocida solo se la concentrazione è superiore a quella della domanda di cloro attivo (Fig. 3).

L'acidità del sistema, causata dalla formazione di acido cloridrico, è associata ad una elevata velocità di corrosione, e questo è un indubbio svantaggio del cloro; in aggiunta, il cloro porta alla formazione di sottoprodotti come ad esempio alcuni alogenuri organici (AOX), il tetraalometano (THM) e l'acido aloacetico (HAA) che sono tossici in acqua e nocivi per l'ambiente. Le concentrazioni tollerate di cloro residuo sono strettamente regolamentate a causa della sua tossicità, e analogamente vi sono rigidi protocolli di sicurezza per i lavoratori che maneggiano e stoccano il cloro gassoso. La concentrazione massima consentita di cloro residuo nelle acque è dell'ordine di 0.2 mg/L nei paesi dell'UE mentre è di 4 mg/L negli USA.

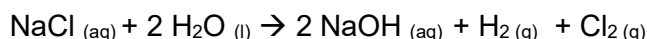
Per questi motivi, nonostante l'efficacia e il basso costo, Cl₂ non è oggi ampiamente impiegato nei trattamenti di sanificazione delle acque. Viene invece largamente utilizzato come biocida ossidante l'acido ipocloroso (HClO), che in acqua si trova in equilibrio con l'anione ipoclorito (ClO⁻), la sua base coniugata. Il rapporto tra le concentrazioni di queste due specie è determinato dalla costante di dissociazione acida pK_a = 7.5 relativa alla seguente reazione:



Questo equilibrio dipende dal pH, perciò al variare delle condizioni del sistema varierà anche il rapporto acido ipocloroso/ipoclorito, definito in totale come "cloro libero".

L'acido ipocloroso è più efficace dell'ipoclorito, poiché riesce a penetrare meglio la membrana cellulare essendo più piccolo e senza carica elettrica. Nel range di pH 6.5-7.5 la specie chimica preponderante è l'anione ClO⁻, fino a 100 volte meno efficace rispetto al suo acido coniugato, perciò un trattamento biocida in questo intervallo di pH non è ottimizzato.

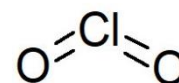
L'ipoclorito può essere addizionato in forma liquida (soluzioni concentrate di NaClO), in forma solida (tablet di Ca(ClO)₂) oppure può essere generato in-situ; esistono sistemi avanzati di OSHG (*On Site Hypochlorite Generation*) basati sull'elettrolisi di NaCl:



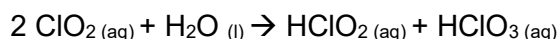
Il cloro gassoso generato in acqua si trasforma poi in acido ipocloroso, come precedentemente descritto. Lo svantaggio di questo approccio è la formazione di idrogeno come sottoprodotto, potenzialmente pericoloso in quanto esplosivo.

Biossido di cloro

A differenza del cloro molecolare, che in acqua dà reazione di idrolisi, il biossido di cloro (ClO₂) è un composto gassoso molto solubile in acqua:



La soluzione acquosa tuttavia non è molto stabile e, nel tempo, si verifica la reazione di disproporzionamento in cui si formano acido cloroso e clorico:

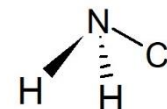


Il biossido di cloro è meno reattivo rispetto a Cl₂, in quanto reagisce selettivamente con i composti solforati ridotti, le ammine secondarie e terziarie e solo alcuni composti organici altamente ridotti. Non reagisce con i fenoli, derivanti dalla decomposizione di acidi umici, e non si generano quindi trialometani né altri DBP, composti solitamente ad alto impatto ambientale.

ClO_2 non reagisce nemmeno con i composti che costituiscono EPS, perciò non viene consumato e riesce a penetrare ed eliminare più efficacemente il biofilm. Di conseguenza, il biossido di cloro ha una elevata efficienza battericida ad ampio spettro, invariata nel range di pH 4-10.

Monoclorammina

L'uso di NH_2Cl per il trattamento delle acque potabili è testimoniato già un secolo fa e oggi viene sempre più utilizzata per la sanificazione di acqua calda sanitaria in ospedali, grandi strutture e impianti industriali. In Nord America, questo composto è comunemente impiegato anche per il trattamento delle reti idriche.



L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) afferma che la monoclorammina è tra i composti più indicati per la prevenzione del rischio Legionellosi e ha grande efficacia disinfettante. Rispetto al cloro libero, NH_2Cl è più stabile e persistente in acqua, assicurando una diffusione più efficace anche nelle zone stagnanti. La monoclorammina è ammessa nell'acqua potabile fino a 3 mg/L secondo l'OMS e 4 mg/L per l'EPA, concentrazioni superiori rispetto a quelle consentite per il cloro residuo in acqua.

Il prodotto della reazione di condensazione tra acido ipocloroso e ammoniaca è un'ammina clorurata, mono- bi- o tri- sostituita in base al pH e al rapporto stechiometrico dei precursori. Per assicurare la formazione quantitativa di monoclorammina, la reazione deve avvenire a $\text{pH} > 7.2$, mentre a pH inferiori si formeranno anche l'ammina secondaria e terziaria come indicato in Fig. 4 :

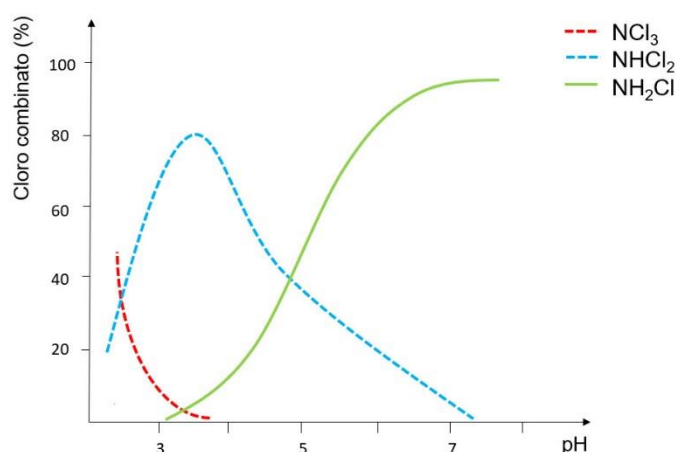
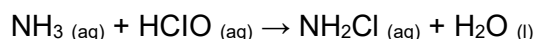


Figura 4: Stabilità delle ammine clorurate in funzione del pH

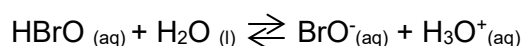
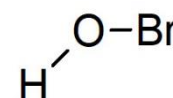
A confronto di altri disinfettati a base di cloro, la monoclorammina ha un minore potere ossidante (v. Tab. 1) ed è una molecola estremamente stabile; questo permette la massima penetrazione del biofilm, raggiungendo i batteri e i patogeni come la Legionella. Infatti, la sua minore reattività e la

Il motivo della minor reattività e maggior stabilità di questo composto rispetto ad altri biocidi a base di cloro (HOCl , ClO_2) risiede nella diversa struttura molecolare: la monoclorammina contiene un forte legame covalente N-Cl che non si rompe con facilità. Diverso è il legame O-Cl, in cui l'ossigeno, essendo molto elettronegativo, attira verso di sé la nuvola elettronica e polarizza il legame, rendendo il cloro più incline a reagire con altre molecole come ossidante. Il meccanismo con cui NH_2Cl agisce da biocida ossidante è la reazione specifica con i gruppi sulfidrilici delle cisteine delle proteine delle membrane batteriche, oppure di enzimi coinvolti in processi cellulari.

sua alta stabilità in acqua le permette di non venire completamente consumata nei primi strati organici, ma di raggiungere la parte più profonda del biofilm, dove esplica la sua azione battericida. La monoclorammina inoltre, essendo un blando ossidante, risulta compatibile con tutti i materiali presenti nelle tubature, sia di tipo metallico che plastico, che non vengono quindi corrosi.

Bromo

Il bromo molecolare Br₂ è un gas estremamente tossico e reattivo, con elevata efficienza biocida, ma non impiegato nei trattamenti di sanificazione poiché troppo pericoloso; vengono però impiegati altri composti derivati del bromo, come l'acido ipobromoso (HBrO) che risente del seguente equilibrio di dissociazione:



L'equilibrio acido ipobromoso/ipobromito ha una costante di dissociazione acida pK_a= 8.7, più alta rispetto a quella dell'analogo equilibrio per il cloro. Significa che l'acido ipobromoso ha una minor tendenza a dissociare rispetto all'acido ipocloroso; a parità di pH, infatti, la concentrazione della base coniugata per il bromo (BrO⁻) sarà minore rispetto a ClO⁻, come si evince dalla Fig.5. Un biocida a base di bromo sarà quindi più efficace di un analogo a base di cloro, essendo l'acido il composto con maggior azione biocida.

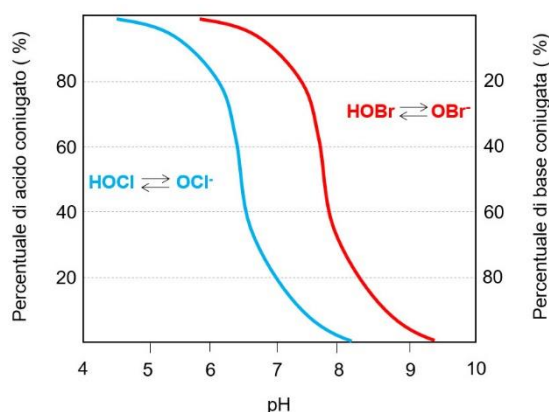


Figura 5: Curve di dissociazione acido-base coniugata in funzione del pH

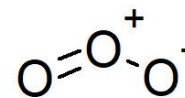
La reattività dei composti a base di bromo è elevata, e questo comporta una scarsa selettività verso i composti o contaminanti presenti in soluzione.

Analogamente al cloro, i biocidi a base di bromo reagiscono efficacemente con le sostanze polimeriche extracellulari (EPS) e causano quindi una scarsa capacità di penetrazione del biofilm.

I composti a base di bromo con azione biocida vengono in genere prodotti in situ a partire da precursori stabilizzati come il bromuro di sodio (NaBr), tramite elettrolisi, oppure per aggiunta di un agente attivante come O₃ o NaClO.

Ozono

L'ozono (O₃) è un gas dall'odore pungente, usato come disinfettante in un impianto industriale per la prima volta nel 1906. Ha un elevato potenziale di riduzione (2.07 V), che quantifica il suo forte potere ossidante.

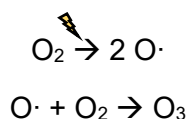


Per tale motivo, l'ozono reagisce velocemente anche con i metalli, accelerandone la corrosione. In acqua O₃ si decompone più velocemente che in aria, riducendosi a ossigeno molecolare O₂ alla fine del processo di disinfezione. È considerato un biocida sicuro perché non vengono generati composti tossici ad alto impatto ambientale (THM, HAA) e non lascia odori né sapori, a differenza di altri biocidi ossidanti, e viene perciò usato spesso nel settore alimentare.

La stabilità dell'ozono, inversamente proporzionale alla sua reattività, dipende da vari parametri come temperatura, pH, concentrazione carbonato, tipo di microrganismi, ecc. In condizioni standard (T = 25°C, p = 1 atm, acqua) ha un'emivita di 25 minuti, che diminuisce all'aumentare della temperatura e aumenta all'aumentare dei carbonati, che hanno un ruolo di inibitori delle reazioni radicaliche a catena.

L'azione biocida dell'ozono deriva dalla sua reazione di cicloadizione secondo meccanismo di Criegee con i doppi legami degli acidi grassi presenti nelle pareti cellulari dei batteri. In un solvente protico come l'acqua la reazione procederà con la rottura degli acidi grassi in residui carbossilici. L'ossidazione della coda apolare degli acidi grassi comporta un cambio nella permeabilità della membrana e un rilascio in soluzione del contenuto della cellula batterica, che viene perciò distrutta (lisi batterica). L'ozono reagisce anche con composti aromatici attivati da sostituenti elettron-donatori secondo addizione elettrofila e con altri composti organici, ossidandoli parzialmente.

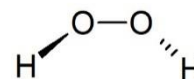
La reattività dell'ozono e la sua bassa solubilità in un liquido rendono quasi impossibile mantenere un residuo stabile e persistente in acqua. Per un trattamento biocida completo è necessario, quindi, effettuare ripetute aggiunte, ma è sufficiente una bassa concentrazione, in ragione dell'elevato potere ossidante. Essendo un ossidante molto reattivo, l'ozono è un gas instabile e non può essere conservato e utilizzato in quanto tale, ma deve essere generato *in situ*, mediante processi di ozonizzazione. Il metodo più ampiamente utilizzato è quello della scarica a corona: si sottopone l'aria a campi elettrici ad elevata frequenza, sufficientemente energetici per scindere il legame covalente O-O dell'ossigeno molecolare. Gli atomi di ossigeno radicalici ottenuti dallo splitting si ricombinano con un'altra molecola di ossigeno formando O₃, come descritto di seguito:



La concentrazione di ozono prodotto tramite generatori di scarica a corona è 0.5-3.0% in peso mentre raggiunge il 5.0% se si utilizza un fonte di ossigeno puro invece dell'aria. È, quindi, evidente come un trattamento di sanificazione con ozono sia più costoso rispetto all'uso di altri biocidi ossidanti quali l'ipoclorito.

Perossido di Idrogeno

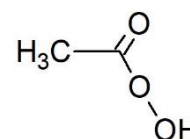
Il perossido di idrogeno (H₂O₂) comunemente chiamato "acqua ossigenata" è un biocida ossidante, usato quasi sempre in combinazione con altri agenti chimici più forti, il cui impiego principale è la disinfezione delle acque potabili.



Viene usato in ambito sanitario e alimentare poiché quando si decompone, non genera sotto-prodotti tossici. L'uso di H₂O₂ nei trattamenti di sanificazione è estensivo, nel 2019 aveva un mercato globale stimato di 4.8 miliardi di dollari.

Acido peracetico

L'acido peracetico (PAA) è un composto organico dalla formula CH₃COOOH ed è un biocida estremamente potente che agisce in tempi brevi. Si presenta come un liquido trasparente che può essere aggiunto direttamente alla soluzione oppure può essere ottenuto dalla reazione tra perossido di idrogeno e acido acetico in catalisi acida.

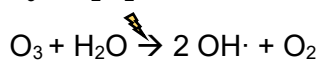
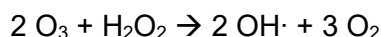


L'acido peracetico contiene un gruppo perossidico -O-O- che per scissione omolitica dà origine a radicali liberi altamente reattivi; la sua efficacia biocida tuttavia diminuisce all'aumentare del pH, perciò non è indicato per ambienti alcalini.

In ragione dell'assenza di sottoprodotti tossici e di sapore e odore residuo, risulta essere il biocida ossidante più ampiamente utilizzato negli impianti di produzione alimentare.

AOP

Un AOP (*Advanced Oxidation Process*) è un metodo chimico-fisico che sfrutta la reattività di composti ossidanti per generare in situ altre specie ad elevata efficacia biocida. Ne sono un esempio l'uso di ozono con perossido di idrogeno oppure sottoposto a irraggiamento UV, che porta alla formazione del radicale ossidrile (OH·), l'agente ossidante più forte usato per i trattamenti di sanificazione.



I radicali hanno un tempo di vita molto breve (ordine di grandezza dei millesimi di secondo) e reagiscono velocemente con quasi tutti i composti presenti in soluzione, secondo vari meccanismi come addizione radicalica, astrazione di idrogeno, trasferimento elettronico o combinazione radicalica. I meccanismi radicalici non sono mai selettivi e prevedono gli step di attivazione, propagazione a catena e terminazione. I radicali coinvolti in queste reazioni hanno un ruolo fondamentale nel processo di disinfezione dal momento che sono ossidanti più forti dei precursori che li hanno generati (ozono, perossido di idrogeno, ecc.)

Un vantaggio dei processi di ossidazione avanzata è che non si formano sottoprodotti nocivi e pericolosi né rifiuti solidi da trattare ulteriormente e smaltire, dal momento che i radicali portano alla completa ossidazione dei composti organici presenti.

Biocidi non-ossidanti

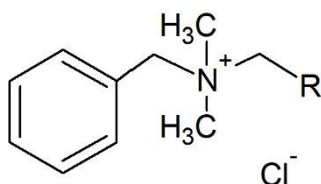
I biocidi non ossidanti (BNO) sono composti che agiscono contro i batteri mediante svariati meccanismi: impediscono la duplicazione, fermano il processo di respirazione cellulare, oppure rompono la parete cellulare. L'azione biocida viene esplicita secondo specifici meccanismi d'azione che rendono i BNO caratterizzati da una maggior tendenza ad indurre fenomeni di resistenza. Non agiscono tramite reazioni ossidoriduttive e sono in genere meno reattivi rispetto ai biocidi ossidanti; infatti, il tempo d'azione necessario per avere efficacia biocida è più lungo (da diverse ore fino a un giorno). Essendo meno reattivi, i biocidi non ossidanti si possono conservare per un tempo molto lungo e sono meno corrosivi verso i materiali. Un altro vantaggio dei BNO è la grande stabilità in soluzione: sono poco sensibili alle variazioni di temperatura e pH, hanno effetto duraturo nel tempo e hanno attività biocida facilmente controllabile.

Tuttavia, la stabilità dei biocidi non ossidanti ha anche un risvolto negativo, ossia la persistenza in soluzione e il rischio di accumulo nelle acque di scarico; ciò rappresenta un problema dal punto di vista ambientale, poiché i BNO in genere sono tossici e impattanti per l'ecosistema acquatico.

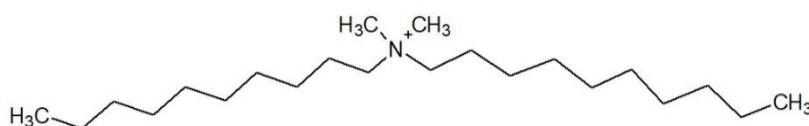
In genere sono molecole di piccole dimensioni, come i composti quaternari di ammonio e fosfonio (denominati QUATS), i composti organici contenenti bromo e gli isotiazolinoni. Sono solitamente compatibili con additivi e composti organici presenti in soluzione.

QUATS

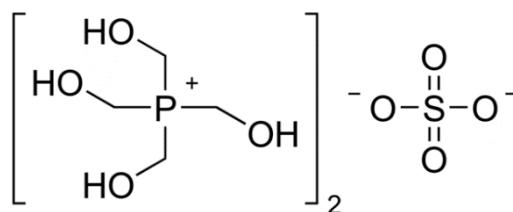
Tra i composti quaternari di ammonio più noti ci sono i cloruri di alchil dimetil benzil ammonio (ADBAC) che hanno la struttura riportata di seguito, con lunghezza variabile della catena alchilica.



Un altro composto simile è il cloruro di didecilmetilammonio (DDAC) che presenta una struttura simmetrica con due lunghe catene alchiliche, come si vede sotto:



Tra i composti quaternari di fosfonio il più noto è il tetrakis idrossimetilfosfonio solfato (THPS), utilizzato specialmente nel settore petrolifero.

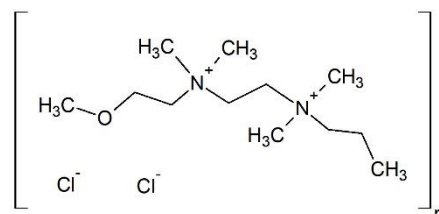


ci QUATS sono composti cationici dal costo moderato, con efficacia verso un ampio numero di microrganismi, compresi alghe, funghi e batteri. Sono attivi in un ampio range di pH, ma hanno la tendenza a formare schiuma a pH alcalini. Agiscono da biocidi in quanto si forma un legame elettrostatico tra l'azoto quaternario e le proteine che costituiscono la parete cellulare; quando queste proteine vengono denaturate, si modifica la permeabilità della cellula e si induce la lisi batterica.

Purtroppo i QUATS non sono efficaci contro tutti i microrganismi, ad esempio presentano uno scarso effetto batteriostatico contro Legionella.

PoliQUAT

Esistono dei materiali polimerici che hanno potere biocida formati da lunghe catene di QUATS, come ad esempio il poli[ossietilen(dimetiliminio)etilene-(dimetiliminio)etilene-dicloruro], commercialmente noto come WSCP.

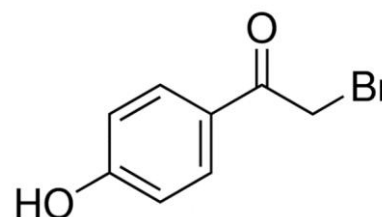


È efficace a tutti i valori di pH, con massima attività nel range 7.5-9.0, e combina un notevole potere antimicrobico con una bassissima tossicità e irritabilità cutanea; viene perciò usato spesso in applicazioni come piscine e sistemi di acqua sanitaria, ma anche in sistemi di raffreddamento industriale e nel settore metallurgico. Inoltre, è compatibile con quasi tutti gli altri composti che possono essere presenti nel sistema e solitamente viene usato in combinazione con biocidi ossidanti, come il cloro, per ridurre il dosaggio. Il tempo di contatto è di 6-8 ore e il meccanismo

biocida è simile a quello che si osserva con i composti quaternari di ammonio e fosfonio: si forma un legame elettrostatico tra l'azoto carico positivamente del poliQUAT e la parete cellulare, che si rompe e porta alla morte batterica.

BHAP

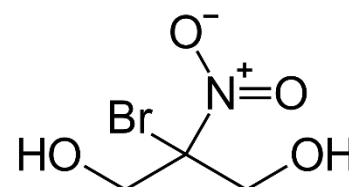
Un biocida non ossidante particolarmente efficace contro il biofilm è il 2-bromo-4-idrossiacetofenone (BHAP). Viene impiegato per applicazioni in cui si aggiunge il biocida in continuo ma a basso dosaggio (1-5 ppm), come i sistemi di raffreddamento *once-through*.



Il BHAP esplica l'azione biocida indipendentemente dal pH; la sua stabilità, caratterizzata da un'emivita di circa 200 ore, può essere limitante per quanto riguarda i valori massimi consentiti negli scarichi industriali.

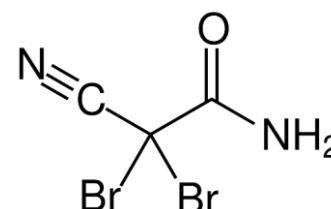
Bronopol

Il 2-bromo-2-nitropropan-1,3-diolo, comunemente chiamato bronopol, è un diolo con un sostituito bromo e un gruppo nitro, come si vede dalla sua struttura chimica. Viene considerato un biocida "generico", in quanto agisce contro funghi, alghe, microrganismi aerobici e anaerobici ed è compatibile con tutti gli altri biocidi non ossidanti. Ha maggior efficacia per pH < 8.0.



DBNPA

Il biocida non ossidante più ampiamente utilizzato è la 2,2-Dibromo-3-nitropropionammide (DBNPA), un'amide con due sostituenti al bromo e un gruppo nitrile, come si osserva dalla struttura chimica. Ha una buona azione battericida, anche in sistemi con un alto contenuto di composti organici, ed è efficace anche contro il biofilm. Tra i BNO è quello ad azione più rapida (tempo di contatto di circa un'ora) e viene spesso utilizzata in combinazione con il cloro in sistemi di raffreddamento *once-through*.



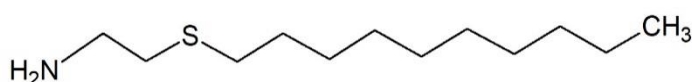
All'aumentare del pH e della temperatura diminuisce rapidamente il tempo di vita della DBNPA, che non è quindi persistente e permette di soddisfare le limitazioni imposte sugli scarichi ambientali. In condizioni alcaline (pH>8.0) l'amide idrolizza velocemente liberando ammoniaca; viene degradata anche per interazione con la luce solare, ma questa caratteristica non è un problema per l'uso della DBNPA nei trattamenti delle acque.

Il meccanismo d'azione è di tipo ossidativo, anche se di per sé la DBNPA non è un ossidante, dal momento che gli atomi di bromo si riducono per reazione con il substrato batterico. La DBNPA reagisce anche con alcuni componenti citoplasmatici come i gruppi tioli delle proteine e ha come esito l'inibizione del metabolismo cellulare.

La DBNPA può essere addizionata in forma liquida (soluzione attiva al 5%) oppure come tablets a lento rilascio (fino a tre settimane).

DTEA

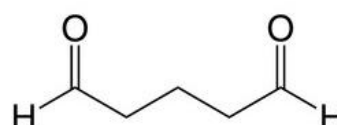
A destra è rappresentata la 2-(decil)etanamina (DTEA), un biocida non ossidante introdotto recentemente sul mercato e progettato per avere efficacia contro il biofilm in un ampio range di pH.



La DTEA forma in modo reversibile dei complessi chelati con gli ioni inorganici presenti nella matrice extracellulare del biofilm, la cui struttura viene indebolita e perde aderenza alla superficie. È utilizzata nei trattamenti di sanificazione in unione ad altri biocidi per l'effetto batteriostatico e per l'attività prevalentemente superficiale, la DTEA viene definita "sapone biocida".

Glutaraldeide

La glutaraldeide è un composto organico che presenta due gruppi aldeidici, come si vede dalla sua struttura chimica, e si presenta come un liquido quasi incolore e dal forte odore pungente.



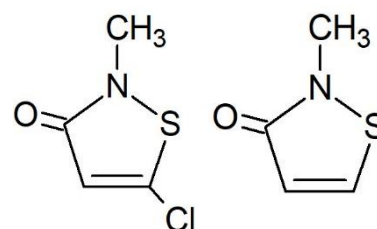
La glutaraldeide ha una forte azione biocida anche verso i microrganismi persistenti grazie alla buona capacità di penetrazione; tuttavia va utilizzato ad alte concentrazioni (ordine di grandezza 100 mg/L). Il meccanismo d'azione è il cross-linking irreversibile con le lipoproteine della membrana citoplasmatica, che modifica la permeabilità e induce la lisi cellulare. In aggiunta, anche l'inattivazione degli enzimi periplasmatici contribuisce alla rapida morte delle cellule batteriche.

È discretamente reattiva, e in ambiente acido si può osservare la reazione di addizione con i composti azotati che porta alla formazione di immine e la disattiva quindi come biocida. L'attività microbica e la rapidità di azione della glutaraldeide aumentano all'aumentare del pH, a causa anche della maggior penetrazione a pH alcalini. Le conseguenze della reattività della glutaraldeide sono la sua grande biodegradabilità, aspetto molto positivo dato che la sostanza è molto tossica per gli organismi acquatici, e il tempo di vita relativamente breve, 4-12 ore in base alle condizioni del sistema.

L'applicazione principale della glutaraldeide è la disinfezione di apparecchiature e dispositivi sanitari; viene impiegata poco in ambito industriale per il costo relativamente alto.

Isotiazolinoni

Gli isotiazolinoni sono una classe di composti organici ciclici e i più utilizzati, di solito in combinazione in miscela 3:1, sono il clorometilisotiazolinone (CMIT) e il metilisotiazolinone (MIT).



Agiscono in pochi minuti disattivando il metabolismo dei microrganismi tramite interruzione del trasporto transmembrana, ma l'azione battericida completa richiede un tempo assai maggiore (5-6 ore di contatto). Sono efficaci contro numerose specie batteriche nell'intervallo di pH 6.5-9.0 mentre hanno effetto fungicida e algicida solo a pH acidi.

Sono stabili in acqua e vengono ampiamente usati come antimicrobici e stabilizzanti nei prodotti cosmetici e nella detergenza, con attenzione alle possibili reazioni allergiche da contatto che possono dare, dal momento che ad alte concentrazioni sono altamente irritanti per pelle ed occhi.

Conclusioni

È evidente che i processi di disinfezione siano fondamentali, in primis per la salute e la sicurezza delle persone e per garantire standard igienici elevati atti a limitare il più possibile la diffusione di contaminazioni batteriche. In secondo luogo, i trattamenti di sanificazione sono importanti per limitare la corrosione microbiologica indotta (MIC) e tutte le altre problematiche connesse alla proliferazione batterica in tubature, impianti industriali e reti idriche in generale.

I trattamenti biocidi hanno un peso molto importante anche dal punto di vista economico: è stato stimato per il 2021 che il mercato globale dei biocidi sia di 12.8 miliardi di dollari (USD) e si prospetta che nel 2026 arriverà a 16.6 miliardi. Anche l'impatto economico che ha il biofilm, e i relativi fenomeni associati, è molto elevato: i problemi legati alla corrosione biologica hanno un costo annuo di 2720 miliardi di dollari e nel solo settore marino il biofilm causa danni che ammontano a 34 miliardi di dollari all'anno. Lo sviluppo di batteri e la crescita di biofilm è ubiquitaria e riguarda tutte le applicazioni in cui siano presenti liquidi: trattamento delle acque reflue, torri di raffreddamento, potabilizzazione, industrie alimentari, settore petrolifero, ecc.

Per contrastare il biofilm batterico che, ricordiamo, comprende il 90% dei batteri presenti in un sistema, bisognerebbe seguire l'approccio "*prevent-detect-manage-engineer*":

PREVENT: prevenire la formazione di biofilm è sicuramente la scelta migliore per non dover risolvere in seguito i problemi causati da esso, ma purtroppo non sempre è possibile. Si può però monitorare la crescita per intervenire il prima possibile ed evitare che il biofilm maturi; è molto più facile e meno costoso mantenere pulito un sistema pulito, piuttosto che eliminare lo sporco già accumulato in un sistema.

DETECT: il Sensore ALVIM risponde perfettamente alla necessità di uno strumento di rilevazione della crescita di biofilm batterico, permettendo non solo di monitorare la crescita di biofilm in real-time, fin dal primo strato batterico, ma anche di rilevare i biocidi ossidanti; questo consente perciò di verificare la corretta distribuzione del biocida, valutare la reale efficacia del trattamento applicato ed, eventualmente, di ottimizzarlo.

MANAGE: la scelta del trattamento di sanificazione deve essere specifica per ogni applicazione, dal momento che l'efficacia di un biocida dipende da un numero ampissimo di variabili del sistema. Alcuni programmi di disinfezione combinano biocidi ossidanti e non ossidanti per sfruttare al meglio le caratteristiche di entrambe le famiglie di composti chimici; altri metodi avanzati utilizzano, invece, l'azione sinergica di trattamenti fisici e chimici.

Come riportato nello schema riassuntivo (Tab. 2), i biocidi ossidanti possono essere estremamente efficaci nel distruggere le sostanze polimeriche extracellulari e, al tempo stesso, le cellule batteriche; è importante, però, che sia garantito un residuo sufficiente per ossidare completamente il biofilm. Lo svantaggio principale dei biocidi ossidanti è la loro corrosività nei confronti dei metalli, e la formazione di sottoprodotti di ossidazione ad alto impatto ambientale.

I biocidi non ossidanti sono generalmente molto meno efficaci contro le EPS, ma possono penetrare a fondo nel biofilm e uccidere i batteri, indebolendo la struttura del biofilm, senza però rimuoverlo completamente. Usare biocidi ossidanti e non ossidanti insieme è, quindi, un'ottima strategia per ottimizzare le performance di entrambe le tipologie, riducendo il dosaggio complessivo di prodotti chimici.

ENGINEER: vi sono applicazioni, quali ad esempio il trattamento delle acque reflue o i bioreattori, nelle quali il biofilm può avere un ruolo positivo. L'ingegnerizzazione di biofilm che forniscano i massimi risultati, per i fini specifici dell'applicazione, rappresenta una sfida che scienziati e tecnici stanno già affrontando in tutto il mondo.

Tabella 2: Pro e contro dei biocidi

	BIOCIDA	PRO	CONTRO
OSSIDANTI	Cl ₂	Molto economico Efficace	Molto reattivo verso EPS Corrosivo DBP tossici
	HClO	Efficace Economico	Reattivo verso EPS Formazione clorammine
	ClO ₂	Non si formano DBP tossici Non reagisce con EPS	Costoso
	NH ₂ Cl	Stabile e persistente in acqua Efficace Massima penetrazione del biofilm	Blando ossidante
	HBrO	Efficace	Bassa selettività Scarsa penetrazione del biofilm
	O ₃	Forte potere ossidante Non si formano DBP tossici	Corrosivo No residuo stabile in acqua Generato in situ
	H ₂ O ₂	Sicuro	Blando ossidante
	CH ₃ COOOH	Efficace in tempi brevi	Meno efficace a pH alcalini
	AOP	Altamente efficace Non si formano DBP pericolosi	No residuo stabile in acqua
NON OSSIDANTI	QUATS	Attivi a tutti i pH	Formano schiuma a pH alcalini
	poliQUAT	Compatibile con altri biocidi	Non compatibile con inibitori anionici
	BHAP	Molto efficace	Persistente nelle acque reflue
	Bronopol	Compatibile con altri biocidi	Attivo a pH <8.0
	DBNPA	Azione rapida	Limitata <i>shelf life</i> (6 mesi)
	DTEA	Attiva a tutti i pH	Attività superficiale
	Glutaraldeide	Forte azione biocida Biodegradabile	Va utilizzata ad alta concentrazione
	Isotiazolinoni	Stabili in acqua	Irritanti per pelle e occhi

Hai un problema simile con il biofilm? Contatta i nostri esperti e chiedi una consulenza gratuita su misura, riceverai maggiori informazioni riguardo i prodotti ed i servizi ALVIM.

Il sistema ALVIM per il Monitoraggio del Biofilm rappresenta uno strumento affidabile per la rilevazione precoce della crescita batterica sulle superfici, in linea ed in tempo reale, in impianti industriali, acque di raffreddamento, etc.

La Tecnologia ALVIM è stata sviluppata in collaborazione con il Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze Marine, ed è attualmente utilizzata in tutto il mondo, in svariati settori applicativi.

ALVIM Srl | +39 0108566345 | info@alvim.it | www.alvim.it | www.linkedin.com/company/alvimbiosensors