



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 319 470**

51 Int. Cl.:
C12N 9/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **98955079 .3**

96 Fecha de presentación : **23.10.1998**

97 Número de publicación de la solicitud: **1025194**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.08.2000**

54 Título: **Composiciones blanqueadoras que comprenden variantes de proteasa múltiplemente sustituidas.**

30 Prioridad: **23.10.1997 US 956323**
23.10.1997 US 956564
23.10.1997 US 956324

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.05.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.05.2009

73 Titular/es: **GENENCOR INTERNATIONAL, Inc.**
925 Page Mill Road
Palo Alto, California 94304-1013, US

72 Inventor/es: **Ghosh, Chanchal, Kumar;**
Baek, Andre, Cesar;
Ohtani, Ryohei;
Busch, Alfred;
Showell, Michael, Stanford;
Schellenberger, Volker;
Kellis, James, T., Jr.;
Paech, Christian;
Nadherny, Joanne;
Naki, Donald, P.;
Collier, Katherine, D.;
Caldwell, Robert, M. y
Poulose, Ayrookaran, J.

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 319 470 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

ES 2 319 470 T3

DESCRIPCIÓN

Composiciones blanqueadoras que comprenden variantes de proteasa múltiplemente sustituidas.

5 La presente invención se refiere a composiciones blanqueadoras, especialmente detergentes de lavandería, que comprende una o más enzimas proteasas que son variantes de proteasas con múltiples sustituciones y un sistema blanqueador con uno o más agentes blanqueadores, especialmente activadores de blanqueo, y métodos para usar estas composiciones blanqueadoras.

10 Antecedentes de la invención

Desde hace tiempo se han usado diversos tipos de enzimas en detergentes de lavandería para ayudar a la supresión de ciertas manchas de telas. Estas manchas están asociadas normalmente a suciedades de lípidos y proteínas. Sin embargo, las enzimas han demostrado ser menos eficaces contra otros tipos de suciedades y manchas.

15 La patente de EE.UU. nº 5.677.272 de Ghosh *et al.*, otorgada el 10 de octubre de 1997, describe composiciones blanqueadoras que comprenden: 1) una variante de proteasa que incluye sustituciones de residuos de aminoácidos con otros residuos de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 76 en combinación con una o más de las siguientes composiciones: 99, 101, 103, 104, 107, 123, 27, 105, 109, 126, 128, 135, 156, 166, 195, 200 197, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265 y/o 274 de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*; 2) un agente blanqueador; y 3) uno o más materiales de composiciones blanqueadoras compatibles con la variante de proteasa y el agente blanqueador.

25 El documento EP-A-405.901 describe composiciones detergentes enzimáticas que comprenden variantes de proteasas de subtilisina mutadas con un rendimiento de lavado mejorado, derivadas mediante delección, sustitución o inserción sencillas o múltiples de aminoácidos específicos en más de 100 posiciones específicas en una enzima parental de subtilisina.

30 El documento WO 99/20727 describe composiciones blanqueadoras que contienen variantes de proteasas como se describen en esta memoria descriptiva.

Sin embargo, existe todavía una necesidad de una supresión y/o limpieza de suciedades más eficaz para las composiciones blanqueadoras convencionales.

35 Mediante la presente invención, se ha encontrado que la combinación de las nuevas enzimas proteasas que son variantes de proteasas con múltiples sustituciones y agentes blanqueadores, especialmente activadores de blanqueo, proporcionan una supresión aumentada y mejorada de manchas y/o ventajas de limpieza a fondo sobre las composiciones blanqueadoras convencionales.

40 Consecuentemente, es un objeto de la presente invención proporcionar composiciones blanqueadoras, especialmente composiciones de detergentes de lavandería, que tengan ventajas mejoradas de supresión y/o limpieza a fondo de manchas y/o suciedades y/o ventajas de limpieza de telas y/o propiedades blanqueadoras.

Estos y otros objetos de la presente invención serán evidentes a partir de la descripción detallada que sigue.

45 Compendio de la invención

La presente invención proporciona una composición blanqueadora que comprende:

50 (a) una cantidad eficaz de una variante de proteasa en que dicha variante de proteasa incluye la sustitución de residuos de aminoácidos con otros residuos de aminoácidos que se producen de forma natural en las posiciones de residuos de aminoácidos correspondientes a las posiciones 101, 103, 104, 159, 232, 236, 245, 248 y 252 de subtilisina de *Bacillus amiloliquefaciens*;

55 (b) un agente blanqueador que es un peroxiácido orgánico o es una combinación de un activador de blanqueo y un compuesto de peróxígeno capaz de producir peróxido de hidrógeno, que puede reaccionar con el activador para formar un peroxiácido orgánico *in situ* en una solución blanqueadora formada a partir de la composición; y

(c) uno o más materiales adyuvantes de limpieza.

60 Preferentemente, la variante de proteasa deriva de una subtilisina de *Bacillus*, preferentemente subtilisina de *Bacillus lentos* o subtilisina 309.

La composición blanqueadora puede ser una composición blanqueadora de telas que comprende:

65 (a) de aproximadamente 0,0001% a aproximadamente 10% en peso de dicha variante de proteasa;

(b) de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 20% en peso de dicho agente blanqueador;

ES 2 319 470 T3

(c) al menos aproximadamente 5% en peso de un tensioactivo; y

(d) al menos aproximadamente 5% en peso de un mejorador de la detergencia.

5 La composición blanqueadora puede ser una composición blanqueadora lavavajillas, que comprende:

(a) de aproximadamente 0,0001% a aproximadamente 10% en peso de dicha variante de proteasa;

10 (b) de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 20% en peso de la composición blanqueadora lavavajillas de dicho agente blanqueador;

(c) de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 1% en peso de la composición blanqueadora lavavajillas de un tensioactivo.

15 La composición blanqueadora puede ser una composición de limpieza personal, que comprende:

(a) de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 5% en peso de la composición de limpieza personal de dicha variante de proteasa;

20 (b) de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 20% en peso de la composición de limpieza personal de dicho agente blanqueador;

(c) de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 95% en peso de la composición de limpieza personal de un sistema tensioactivo; y

25 (d) opcionalmente, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 50% en peso de la composición de limpieza personal de un estabilizador de enzimas.

30 Se proporcionan también métodos para limpiar telas, el pretratamiento de telas antes del lavado, limpieza de platos y limpieza personal, usando las composiciones de la invención.

Todos los porcentajes, relaciones y proporciones en la presente memoria descriptiva están en una base en peso salvo que se indique otra cosa.

35 **Breve descripción de los dibujos**

Las Figs. 1 A-C exponen el DNA y secuencia de aminoácidos para subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* y un mapa de restricción parcial de este gen.

40 La Fig. 2 expone los residuos de aminoácidos conservados entre subtilisinas de *Bacillus amyloliquefaciens* (BPN) y *Bacillus lentus* (tipo salvaje).

Las Figs. 3A y 3B exponen la secuencia de aminoácidos de cuatro subtilisinas. La línea superior representa la secuencia de aminoácidos de subtilisina para subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* (también denominada a veces subtilisina BPN). La segunda línea expone la secuencia de aminoácidos de subtilisina de *Bacillus subtilis*. La tercera línea expone la secuencia de aminoácidos de subtilisina de *B. licheniformis*. La cuarta línea expone la secuencia de aminoácidos de subtilisina de *Bacillus lentus* (también denominada subtilisina 309 en el documento PCT WO 89/06276). El símbolo * indica la ausencia de residuos de aminoácidos específicos en comparación con subtilisina BPN.

50

Descripción detallada de la invención

55 Las composiciones blanqueadoras empleadas en la presente invención proporcionan una limpieza mejorada y aumentada de telas, vajillas, utensilios de cocina, utensilios de mesa y otras superficies duras, como se describe más en detalle en la presente memoria descriptiva suprimiendo y/o reduciendo la formación de manchas y/o la formación de películas a partir de las vajillas y otras superficies duras.

60 Los sistemas blanqueadores en combinación con las enzimas proteasas de la presente invención son particularmente eficaces y efectivos para suprimir la mayoría de los tipos de suciedades de telas, incluidas suciedades de proteínas y lípidos, suciedades de maquinarias y suciedades intensas, especialmente suciedades nucleofílicas y corporales.

Las enzimas proteasas, agentes blanqueadores (incluidos peroxiácidos y sistemas blanqueadores) y materiales adyuvantes de limpieza útiles en la presente invención, incluidos los niveles preferidos, se describen en detalle con posterioridad.

65

1. *Proteasas* - Las proteasas son carbonil-hidrolasas que actúan generalmente para escindir enlaces péptidos de proteínas o péptidos. Como se usa en la presente memoria descriptiva, "proteasa" significa una proteasa producida de forma natural o proteasa recombinante. Las proteasas que se producen de forma natural incluyen α -aminoacilpéptido-

hidrolasa, peptidilamino-hidrolasa ácida, acilamino-hidrolasa, serina-carboxipeptidasa, metalocarboxipeptidasa, tiol-proteinasa, carboxilproteinasa y metaloproteinasa. Están incluidas las serina-, metalo-, tiol- y proteasa ácida, así como endo- y exo- proteasa.

5 La presente invención incluye enzimas proteasas que son variantes de carbonil-hidrolasas (variantes de proteasas) que no se producen de forma natural, que tienen una actividad proteolítica, estabilidad, especificidad por el sustrato, perfil de pH y/o características de rendimiento diferentes en comparación con la carbonil-hidrolasa precursora a partir de la que deriva la secuencia de aminoácidos de la variante. Específicamente, estas variantes de proteasas tienen una
10 secuencia de aminoácidos que no se encuentran en la naturaleza, que deriva de la sustitución de una pluralidad de residuos de aminoácidos de una proteasa precursora con aminoácidos diferentes. La proteasa precursora puede ser una proteasa que se produce de forma natural o una proteasa recombinante. Como se estableció con anterioridad las variantes de proteasas están diseñadas para tener una especificidad de tipo tripsina y, preferentemente, son también estables en el blanqueo.

15 Las variantes de proteasas útiles en la presente invención abarcan la sustitución de cualquiera de los diez y nueve L-aminoácidos que se producen de forma natural en las posiciones indicadas de los residuos de aminoácidos. Estas sustituciones se pueden hacer en cualquier subtilisina precursora (procariótica, eucariótica, de mamífero, etc.). A lo largo de esta solicitud se hace referencia a diversos aminoácidos a modo de códigos comunes de una y tres letras. Estos códigos están identificados en la publicación de Dale, M.W. (1989) *Molecular Genetics of Bacteria*, John Wiley
20 & Sons, Ltd., Appendix B.

Las variantes de proteasas útiles en la presente invención derivan preferentemente de una subtilisina de *Bacillus*. Más preferentemente, las variantes de proteasas derivan de subtilisina de *Bacillus lentus* y/o subtilisina 309.

25 *Carbonil-hidrolasas* - Las carbonil-hidrolasas son enzimas proteasas que hidrolizan compuestos que contienen



30 enlaces en los que X es oxígeno o nitrógeno. Incluyen carbonil-hidrolasas que se producen de forma natural y carbonil-hidrolasas recombinantes. Las carbonil-hidrolasas que se producen de forma natural incluyen principalmente hidrolasas, por ejemplo, péptido-hidrolasas como subtilisinas o metaloproteasas. Los péptido-hidrolasas incluyen α -aminoacilpéptido-hidrolasa, peptidilamino-hidrolasas ácida, acilamino-hidrolasa, serina-carboxipeptidasa, metalocarboxipeptidasa, tiol-proteinasa, carboxilproteinasa y metaloproteinasa. Están incluidas las serina-, metalo-, tiol- y proteasas ácidas, así como las endo- y exo-proteasas.
35

40 *Subtilisina* - Las subtilisinas son proteasas bacterianas o fúngicas que generalmente actúan para escindir enlaces péptidos de proteínas o péptidos. Como se usa en la presente memoria descriptiva, "subtilisina" significa una subtilisina que se produce de forma natural o una subtilisina recombinante. Se conoce que se produce una serie de subtilisinas que se producen de forma natural y que a menudo son secretadas por diversas especies microbianas. Las secuencias de aminoácidos de los miembros de esta serie no son completamente homólogas. Sin embargo, las subtilisinas en esta serie exhiben el mismo tipo o similar de actividad proteolítica. Esta clase de serina-proteasas comparten una secuencia de aminoácidos común que define una triada catalítica que las distingue de la clase relacionada de quimiotripsina de serina-proteasas. Las subtilisinas y las serina-proteasas relacionadas de quimiotripsina tienen ambas una triada catalítica que comprende aspartato, histidina y serina. En las proteasas relacionadas de subtilisina el orden relativo de estos aminoácidos, leyendo desde las terminaciones amino a carboxi, es aspartato-histidina-serina. En las proteasas relacionadas de quimiotripsina, sin embargo, el orden relativo es histidina-aspartato-serina. Por tanto, la subtilisina en la presente memoria descriptiva se refiere a una serina-proteasa que tiene la triada catalítica de las proteasas relacionadas de subtilisina. Ejemplos incluyen, pero sin limitación, las subtilisinas identificadas en la Fig. 3 de la presente memoria descriptiva. Generalmente, y para los fines de la presente invención, la numeración de los aminoácidos en las proteasas corresponde a los números asignados a la secuencia de subtilisina de *Bacillus amiloliquefaciens* madura presentada en la Fig. 1.
45
50
55

60 *Variantes de proteasas* - Una "variante de proteasa" tiene una secuencia de aminoácidos que deriva de la secuencia de aminoácidos de una "proteasa precursora". Las proteasas precursoras incluyen proteasas que se producen de forma natural y proteasas recombinantes. Las secuencias de aminoácidos de la variante de proteasas "deriva" de la secuencia de aminoácidos de la proteasa precursora por sustitución, delección o inserción de uno o más aminoácidos de la secuencia precursora de aminoácidos. Esta modificación es de la "secuencia precursora de DNA" que codifica la secuencia de aminoácidos de la proteasa precursora en lugar de la manipulación de la enzima de proteasa precursora por sí misma. Los métodos adecuados para esta manipulación de la secuencia precursora de DNA incluye los métodos descritos en la presente memoria descriptiva, así como métodos conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, el documento WO 89/06279 y las patentes y solicitudes de EE.UU. ya mencionadas en la presente memoria descriptiva).
65

ES 2 319 470 T3

En una realización preferida, las variantes de proteasas que son enzimas proteasas útiles en las composiciones blanqueadoras de la presente invención comprende variantes de proteasas que incluyen un conjunto de sustitución seleccionado entre el grupo que consiste en:

5 101/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/185/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/206/232/236/245/248/252;
10 101/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
101/102/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
101/103/104/130/159/232/236/245/248/252;
15 101/103/104/128/159/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/232/236/245/248/252/260;
20 101/103/104/131/159/232/236/245/248/252;
98/101/103/104/159/232/236/245/248/252;
99/101/103/104/159/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/212/232/236/245/248/252;
25 101/103/104/159/209/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/205/232/236/245/248/252;
30 101/103/104/159/194/232/236/245/248/252;
76/101/103/104/159/194/232/236/245/248/252; y
101/103/104/159/230/232/236/245/248/252.

35 Por ejemplo, la variante de proteasa puede incluir el conjunto de sustitución:

101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K.

40 La variante de proteasa puede incluir un conjunto de sustitución seleccionado entre el grupo que consiste en:

S101G/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101E/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101G/S103AV104I/G159D/N185D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
45 S101G/S103AV104I/G159D/Q206E/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101G/S103AV104I/G159D/T213Q/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101G/G102A/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
N62D/S101G/S103AV104I/G159D/S212G/T213R/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
50 S101G/S103AV104I/S130G/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101G/S103AV104I/S128G/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101G/S103AV104I/S128L/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
N62D S101G/S103AV104I/G159D/T213R/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
55 S101G/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K/T260A;
S101G/S103AV104I/P131V/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
A98V/S101G/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S99G/S101G/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101G/S103AV104I/G159D/S212G/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
60 S101G/S103AV104I/G159D/Y209W/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101G/S103AV104I/G159D/P210I/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101G/S103AV104I/G159D/N205I/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
S101G/S103AV104I/G159D/A194P/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
65 S101G/S103AV104I/G159D/A230V/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K; y
S101G/G102A/S103AV104I/G159D/S212G/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K.

ES 2 319 470 T3

Proteasas recombinantes/subtilisinas recombinantes - Una “proteasa recombinante” o “subtilisina recombinante” se refiere a una proteasa o subtilisina en la que la secuencia de DNA que codifica la proteasa o subtilisina que se produce de forma natural, respectivamente, es modificada para producir una secuencia de DNA mutante que codifica la sustitución, inserción o delección de uno o más aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de la proteasa o subtilisina. Métodos adecuados de modificación se describen en la presente memoria descriptiva y en las patentes de EE.UU. RE 34.606, 5.204.015 y 5.185.258.

Proteasas no humanas/subtilisinas no humanas - Las “proteasas no humanas” o “subtilisinas no humanas” y el DNA que las codifica pueden ser obtenidas a partir de muchos organismos procarióticos y eucarióticos. Ejemplos adecuados de organismos procarióticos incluyen organismos gram-negativos como *E. coli* o *seudomonas* y bacterias gram-positivas como *Micrococcus* o *Bacillus*. Ejemplos de organismos eucarióticos a partir de los cuales pueden ser obtenidos carbonil-hidrolasa y sus genes incluyen levaduras como *Sacchaomyces cerevisiae*, hongos como *Aspergillus* sp. Y fuentes de mamíferos no humanos, como, por ejemplo, bovinos a partir de los cuales puede ser obtenido el gen que codifica la quimosina de proteasa o quimosina de subtilisina. Se puede obtener una serie de proteasas y/o subtilisinas a partir de diversas especies relacionadas que tienen secuencias de aminoácidos que no son completamente homólogas entre los miembros de esa serie, pero que no obstante exhiben un tipo igual o similar de actividad biológica. Por tanto, proteasa no humana o subtilisina no humana como se usa en la presente memoria descriptiva tienen una definición funcional que se refiere a proteasas o subtilisinas, respectivamente, que están asociadas, directa o indirectamente, con fuentes procarióticas y eucarióticas.

Secuencias de DNA de variantes - Las secuencias de DNA de variantes que codifican estas variantes de proteasas o subtilisinas derivan de una secuencia precursora de DNA que codifica una enzima precursora que se produce de forma natural o recombinante.

En una realización preferida de la presente invención, las secuencias de DNA de variantes derivan al modificar la secuencia precursora de DNA para codificar las variantes de proteasas descritas en la presente memoria descriptiva.

Aunque los residuos de aminoácidos identificados para la modificación en la presente memoria descriptiva son identificados según la numeración aplicable a *B. amyloliquefaciens* (que se ha convertido en el método convencional para identificar posiciones de residuos en todas las subtilisinas), las secuencias precursoras de DNA preferidas útiles para la presente invención son la secuencia de DNA de *Bacillus Lentus*, como se muestra en la Fig. 3.

Estas secuencias de DNA recombinante codifican variantes de proteasas que tienen una nueva secuencia de aminoácidos y, en general, al menos una propiedad de las cuales es sustancialmente diferente de la misma propiedad de la enzima codificada por la secuencia de DNA de proteasa precursora. Estas propiedades incluyen actividad proteolítica, especificidad por el sustrato, estabilidad, perfil de pH alterado y/o características de rendimiento mejoradas.

Los números de las posiciones de los aminoácidos se refieren a los asignados a la secuencia de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* presentada en la Fig. 1. Sin embargo, la presente invención no está limitada al uso de la mutación de esta subtilisina particular, sino que se extiende a proteasas precursoras que contienen residuos de aminoácidos en posiciones que son “equivalentes” a los residuos particulares identificados en subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*. En una realización preferida de la presente invención, la proteasa precursora es subtilisina de *Bacillus lentus* y las sustituciones, delecciones o inserciones se hacen en el residuo de aminoácido equivalente en *B. lentus* correspondiente a los anteriormente citados.

Un residuo (aminoácido) de una proteasa precursora es equivalente a un residuo de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* si es homólogo (es decir, correspondiente en posición a cualquier estructura primaria o terciaria) o análogo a un residuo o parte específica de ese residuo en subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* (es decir, que tiene la capacidad funcional igual o similar para combinar, reaccionar o interactuar químicamente).

Con el fin de establecer la homología para la estructura primaria, la secuencia de aminoácidos de una proteasa precursora se compara directamente con la secuencia primaria de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* y particularmente con un conjunto de residuos que se conoce que es invariable en las subtilisinas para las que es conocida la secuencia. Por ejemplo, la Fig. 2 de la presente memoria descriptiva muestra los residuos conservados entre subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* y subtilisina de *B. lentus*. Después de alinear los residuos conservados, permitiendo las inserciones y delecciones necesarias con el fin de mantener la alineación (es decir, evitando la eliminación de residuos conservados a través de una delección e inserción arbitraria), se definen los residuos equivalentes para aminoácidos particulares en la secuencia primaria de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*. La alineación de los residuos conservados debe conservar preferentemente un 100% de estos residuos. Sin embargo, una alineación de más de un 75% o tan pequeña como 50% de residuos conservados es también adecuada para definir residuos equivalentes. Se debe mantener también la conservación de la triada catalítica, Asp32/His64/Ser221.

Por ejemplo, en la Fig. 3 la secuencia de aminoácidos de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* (Carlsbergensis) y *Bacillus lentus* está alineada para proporcionar la cantidad máxima de homología entre secuencias de aminoácidos. Una comparación de estas secuencias muestra que hay un número de residuos conservados contenidos en cada secuencia. Estos residuos conservados (como entre BPN y *B. lentus*) son identificados en la Fig. 2.

Por tanto, estos residuos conservados pueden ser usados para definir los correspondientes residuos de aminoácidos equivalentes de *Bacillus lentus* (publicación PCT n° WO 89/062979 publicada el 13 de julio de 1989), la enzima precursora de proteasa preferida en la presente invención o la subtilisina denominada PB92 (documento EP 0.328.299), que es altamente homóloga a la subtilisina de *Bacillus lentus* preferida. Las secuencias de aminoácidos de algunas de estas subtilisinas están alineadas en las Fig. 3A y 3B con la secuencia de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* para producir la homología máxima de residuos conservados. Como se puede observar, hay un cierto número de deleciones en la secuencia de *Bacillus lentus* en comparación con la subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*. Por tanto, por ejemplo, el aminoácido equivalente para VAL165 en subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* en las otras subtilisinas es isoleucina para *B. lentus* y *Bacillus amyloliquefaciens*. Por tanto, por ejemplo, el aminoácido en la posición +76 es asparagina (N) en las subtilisinas tanto de *Bacillus amyloliquefaciens* como de *B. lentus*. Sin embargo, en las variantes de proteasas de la invención, el aminoácido equivalente a +76 en subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* está sustituido con aspartato (D). Las abreviaturas y los códigos de una letra para todos los aminoácidos en la presente invención son según el manual Patentin User Manual (genBank, Mountain View, CA) 1990, p. 101.

Los “residuos equivalentes” pueden ser definidos también determinando la homología a nivel de la estructura terciaria de una proteasa precursora cuya estructura terciaria ha sido determinada mediante cristalografía de rayos X. Los residuos equivalentes son definidos como aquellos para los que las coordinaciones atómicas de dos o más de los átomos de la cadena principal de un residuo de aminoácidos particular de la proteasa precursora y subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* (N en N, CA en CA, C en C y O en O) están en 0,13 nm y preferentemente 0,1 nm después de la alineación. La alineación es conseguida después de que el mejor modelo ha sido orientado y colocado para proporcionar el solapamiento máxima de coordenados atómicos de átomos de proteínas que no son hidrógeno de la proteasa en cuestión para la subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*. El mejor modelo es el modelo cristalográfico que proporciona el factor R más bajo para datos de difracción experimentales a la mayor resolución posible.

$$\text{factor } R = \frac{\sum_h |F_o(h)| - |F_c(h)|}{\sum_h |F_o(h)|}$$

Los residuos equivalentes que son funcionalmente análogos a un residuo específico de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* son definidos como los aminoácidos de la proteasa precursora que puede adoptar una conformación tal que altere, modifique o contribuya a la estructura de la proteína, unión al sustrato o catálisis de una manera definida y atribuida a un residuo específico de la subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*. Además, son los residuos de la proteasa precursora (para la que ha sido obtenida una estructura terciaria mediante cristalografía de rayos X) que ocupa una posición análoga hasta un alcance que, aunque los átomos de la cadena principal del residuo dado puede que no satisfagan los criterios de equivalencia sobre la base de ocupar una posición homóloga, los coordenados atómicos de al menos dos de los átomos de las cadenas laterales del residuo se sitúan en 0,13 nm de los átomos correspondientes de las cadenas laterales de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*. Los coordenados de la estructura tridimensional de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* se exponen en la publicación de la EPO n° 0.251.446 (equivalente a la patente de EE.UU. 5.182.204) y pueden ser usados como se indicó anteriormente para determinar residuos equivalentes en el nivel de la estructura terciaria.

Algunos de los residuos identificados para la sustitución, inserción o deleción son residuos conservados, mientras que otros no lo son. En el caso de que los residuos no sean conservados, la sustitución de uno o más aminoácidos está limitada a sustituciones que producen una variante que tiene una secuencia de aminoácidos que no se corresponde a ninguna encontrada en la naturaleza. En el caso de residuos conservados, estas sustituciones no deben dar lugar a una secuencia que se produce de forma natural. Las variantes de proteasas de la presente invención incluyen las formas maduras de variantes de proteasas, así como las formas pro- y pre-pro- de estas variantes de proteasas. Las formas prepro- son la construcción preferida, ya que esto facilita la expresión, secreción y maduración de las variantes de proteasas.

“Prosecuencia” se refiere a una secuencia de aminoácidos unida a la parte N-terminal de la forma madura de una proteasa que, cuando es suprimida, da lugar a la aparición de la forma “madura” de la proteasa. Muchas enzimas proteolíticas se encuentran en la naturaleza como productos proenzimáticos transnacionales y, en ausencia de un tratamiento pro-translacional, son expresadas de esta forma. Una prosecuencia preferida para producir variantes de proteasas es la prosecuencia putativa de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*, aunque pueden ser usadas otras prosequencias de proteasas.

Una “secuencia de señal” o “presecuencia” se refiere a cualquier secuencia de aminoácidos unida a la parte N-terminal de una proteasa o a la parte N-terminal de una proproteasa que puede participar en la secreción de las formas maduras o pro de la proteasa. Esta definición de secuencia de señal es una funcional, que pretende incluir todas las amino-secuencias codificadas por la parte N-terminal del gen de proteasa que participa en la realización de la secreción de la proteasa bajo condiciones nativas. La presente invención utiliza estas secuencias para efectuar la secreción de las variantes de proteasas definidas en la presente memoria descriptiva. Una posible secuencia de señal comprende los siete primeros residuos de aminoácidos de la secuencia de señal de subtilisina de *Bacillus subtilis* fusionada al resto de la secuencia señal de la subtilisina de *Bacillus lentus* (ATCC 21536).

ES 2 319 470 T3

Una forma “prepro” de una variante de proteasa consiste en la forma madura de la proteasa que tiene una prosequencia funcionalmente conectada a la terminación amino de la proteasa y una secuencia “pre” o “señal” funcionalmente conectada a la terminación amino de la prosequencia.

5 “Vector de expresión” se refiere a un constructo de DNA que contiene una secuencia de DNA que está funcionalmente conectada a una secuencia testigo adecuada capaz de efectuar la expresión de dicho DNA en un hospedante adecuado. Estas secuencias testigos incluyen un promotor para efectuar la transcripción, una secuencia operadora opcional para controlar esta transcripción una secuencia que codifica sitios de unión de ribosomas de mRNA adecuados y secuencias que controlan la terminación de la transcripción y traducción. El vector puede ser un plásmido, una partícula de fago o simplemente un inserto genómico potencial. Una vez transformado en un hospedante adecuado, el vector se puede replicar y funcionar independientemente en el genoma hospedante, o puede, en algunos casos integrarse en el propio genoma. En la presente memoria descriptiva, “plásmido” y “vector” se usan algunas veces de forma intercambiable ya que el plásmido es la forma más comúnmente usada del vector en la actualidad. Sin embargo, la invención está destinada a incluir estas otras formas de vectores de expresión que desempeñan funciones equivalentes y que son o resultan conocidas en el estado de la técnica.

Las “células hospedantes” usadas en la presente invención son generalmente hospedantes procarióticos o eucarióticos que han sido preferentemente manipulados mediante los métodos descritos en la patente de EE.UU. RE 34.606 para hacerlas incapaces de secretar endoproteasa enzimáticamente activa. Una célula hospedante preferida para expresar proteasa es la cepa de *Bacillus* BG2036 que es deficiente en proteasa neutra enzimáticamente activa y proteasa alcalina (subtilisina). La construcción de la cepa BG2036 se describe en detalle en la patente de EE.UU. 5.264.366. Otras células hospedantes para expresar proteasa incluyen *Bacillus subtilis* 168 (también descrita en la patente de EE.UU. RE 34.606 y patente de EEUU 5.264.366, así como cualquier cepa de *Bacillus* adecuada como *B. licheniformis*, *B. lentus*, etc.).

Las células hospedantes son transformadas o transfectadas con vectores construidos usando técnicas de DNA recombinante. Estas células hospedantes transformadas son capaces de replicar vectores que codifican las variantes de proteasas o que expresan la variante de proteasa deseada. En el caso de vectores que codifican la forma pre o prepro de la variante de proteasa, estas variantes, cuando son expresadas, son normalmente secretadas a partir de la célula hospedante en el medio de la célula hospedante.

“Funcionalmente conectado”, cuando describe la relación entre dos regiones de DNA, significa simplemente que están funcionalmente relacionadas una con otra. Por ejemplo, una prosequencia está funcionalmente conectada a un péptido si funciona como una secuencia de señal, participando en la secreción de la forma madura de la proteína que incluye lo más probablemente la edición de la secuencia señal. Un promotor está funcionalmente conectado a una secuencia codificadora si controla la transcripción de la secuencia; un sitio de unión de ribosomas está funcionalmente conectado a una secuencia codificadora si está colocado de forma que permita la traducción.

Los genes que codifican la proteasa precursora que se produce de forma natural pueden ser obtenidos de acuerdo con los métodos generales conocidos por los expertos en la técnica. Los métodos comprenden generalmente sintetizar sondas marcadas que tienen secuencias putativas que codifican regiones de la proteasa de interés, preparar bibliotecas genómicas a partir de organismos que expresan la proteasa y seleccionar las bibliotecas en cuanto al gen de interés mediante hibridación de las sondas. Seguidamente son trazados y secuenciados clones de hibridación positiva.

La proteasa clonada se usa seguidamente para transformar una célula hospedante con el fin de expresar la proteasa. El gen de proteasa es seguidamente ligado en un plásmido con un número elevado de copias. Este plásmido se replica en hospedantes en el sentido de que contiene los elementos bien conocidos necesarios para la replicación de plásmidos: un promotor funcionalmente conectado al gen en cuestión (que puede ser suministrado como el promotor homólogo del propio gen si es reconocido, es decir, transcrito por el hospedante), una terminación de transcripción y una región de poliadenilación (necesaria para la estabilidad del mRNA transcrito por el hospedante a partir del gen de proteasa en ciertas células hospedantes eucarióticas) que es exógena o es suministrada por la región terminadora endógena del gen de proteasa y, deseablemente, un gen de selección como un gen de resistencia a los antibióticos que hace posible el mantenimiento del cultivo continuo de células hospedantes infectadas con plásmidos mediante crecimiento en medios que contienen antibióticos. Los plásmidos de número elevado de copias contienen también un origen de replicación para el hospedante, haciendo posible así que se generen grandes números de plásmidos en el citoplasma sin limitación cromosomal. Sin embargo, está dentro del alcance de la presente invención integrar múltiples copias del gen de proteasa en genoma hospedante. Esto está facilitado por organismos procarióticos y eucarióticos que son particularmente susceptibles a una recombinación homóloga. El gen puede ser un gen de *B. lentus* natural. Alternativamente, se puede producir un gen sintético que codifique una proteasa precursora que se produce de forma natural o mutante. En esta aproximación, se determina el DNA y/o la secuencia de aminoácidos de la proteasa precursora. Posteriormente se sintetizan múltiples fragmentos de DNA de cadena única sintéticos y solapantes, que tras una hibridación y ligadura producen un DNA sintético que codifica la proteasa precursora. Un ejemplo de construcción de gen sintético se expone en el ejemplo 3 de la patente de EE.UU. 5.204.105.

Una vez que ha sido clonado el gen de proteasa precursora que se produce de forma natural o sintético, se emprende un cierto número de modificaciones para mejorar el uso del gen más allá de la síntesis proteasa precursora que se produce de forma natural. Estas modificaciones incluyen la producción de proteasas recombinantes como se describe

ES 2 319 470 T3

en la patente de EE.UU. RE 34.606 y en la publicación de la EPO nº 0.251.446 y la producción de variantes de proteasas descritas en la presente memoria descriptiva.

El siguiente método de mutagénesis de cassette puede ser usado para facilitar la construcción de las variantes de proteasas de la presente invención, aunque se pueden usar otros métodos. En primer lugar, el gen que se produce de forma natural que codifica la proteasa es obtenido y secuenciado en su totalidad o en parte. Seguidamente la secuencia es explorada en cuanto a un punto en el que se desea una mutación (delección, inserción o sustitución) de uno o más aminoácidos en la enzima codificada. Las secuencias que flanquean este punto son evaluadas en cuanto a la presencia de sitios de restricción para sustituir un segmento corto del gen con una reunión de oligonucleótidos que cuando son expresados, codificarán diversos mutantes. Estos sitios de restricción son preferentemente sitios únicos en el gen de proteasa con el fin de facilitar la sustitución del segmento del gen. Sin embargo, se puede usar cualquier sitio de restricción conveniente que no sea excesivamente redundante en el gen de proteasa, con la condición de que los fragmentos del gen generados por la digestión de restricción puedan ser reagrupados en una secuencia apropiada. Si los sitios de restricción no están presentes en los lugares dentro de una distancia conveniente desde el punto seleccionado (de 10 a 15 nucleótidos), estos sitios son generados sustituyendo los nucleótidos en el gen de forma que ni el marco de lectura ni los aminoácidos codificados resulten cambiados en la construcción final. La mutación del gen con el fin de cambiar su secuencia para adaptarla a la secuencia deseada se realiza mediante extensión del cebador M13 de acuerdo con métodos generalmente conocidos. La tarea de colocar regiones flanqueadoras adecuadas y evaluar los cambios necesarios para llegar a dos secuencias de sitios de restricción convenientes se hace de forma rutinaria mediante la redundancia del código genético, un mapa de enzimas de restricción del gen y el gran número de diferentes enzimas de restricción. Debe apreciarse que si está disponible un sitio de restricción flanqueador conveniente, el método anterior solo necesita ser usado en relación con la región flanqueadora que no contiene un sitio.

Una vez que el DNA que se produce de forma natural o DNA sintético es clonado los sitios de restricción que flanquean las posiciones que van a ser mutadas son digeridos con las enzimas de restricción cognadas y un pluralidad de cassettes de oligonucleótidos complementarios en los extremos de terminaciones y ligados en el gen. La mutagénesis se simplifica mediante este método porque la totalidad de los oligonucleótidos puede ser sintetizada con el fin de tener los mismos sitios de restricción y no son necesarios conectores sintéticos para crear los sitios de restricción. Como se usa en la presente memoria descriptiva, la actividad proteolítica se define como la velocidad de hidrólisis de enlaces péptidos por miligramo de enzima activa. Existen muchos procedimientos bien conocidos para medir la actividad proteolítica (K.M. Kalisz, "Microbial Proteinase", *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, A. Fiechter ed., 1988). Además, o como una alternativa a la actividad proteolítica modificada, las variantes de enzimas de la presente invención pueden tener otras propiedades modificadas como K_m , K_{cat} , K_{cat} , relación K_{cat}/K_m y/o sustrato modificado específicamente y/o perfil de actividad del pH modificado. Estas enzimas pueden estar adaptadas para el sustrato particular que está anticipado que está presente, por ejemplo, en la preparación de péptidos o para procedimientos hidrolíticos como usos de lavandería.

En un aspecto de la invención, el objetivo es asegurar que una variante de proteasa tiene una actividad proteolítica alterada en comparación con la proteasa precursora, ya que el aumento de esta actividad (numéricamente mayor) hace posible que uso de la enzima actúe más eficazmente sobre un sustrato diana. Son también de interés las variantes de enzimas que tienen estabilidad térmica alterada y/o especificidad por el sustrato alterada en comparación con el precursor. En algunos casos, puede ser deseable una actividad proteolítica inferior, por ejemplo, una disminución de la actividad proteolítica sería útil cuando se desea la actividad sintética de la proteasa (como para sintetizar péptidos). Se puede desear disminuir esta actividad proteolítica, que es capaz de destruir el producto de esta síntesis. Inversamente, en algunos casos puede ser deseable aumentar la actividad proteolítica de variante de enzima frente a su precursor. Adicionalmente, los aumentos o disminuciones (alteración de la estabilidad de la variante, ya sea estabilidad alcalina o térmica pueden ser deseables. Los aumentos o disminuciones de K_{cat} , K_m o K_{cat}/K_m son específicos para el sustrato usado para determinar estos parámetros cinéticos.

Se ha determinado que las sustituciones en las posiciones correspondientes a 103 en combinación con una o más de las siguientes posiciones 1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 27, 33, 37, 38, 42, 43, 48, 55, 57, 58, 61, 62, 68, 72, 75, 76, 77, 78, 79, 86, 87, 89, 97, 98, 99, 101, 102, 104, 106, 107, 109, 111, 114, 116, 117, 119, 121, 123, 126, 128, 130, 131, 133, 134, 137, 140, 141, 142, 146, 147, 158, 159, 160, 166, 167, 170, 173, 174, 177, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 192, 194, 198, 203, 204, 205, 206, 209, 210, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 222, 224, 227, 228, 230, 232, 236, 237, 238, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 265, 268, 269, 270, 271, 272, 274 y 275 de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* son importantes para modular la estabilidad global y/o actividad proteolítica de la enzima.

Se ha determinado también que las sustituciones en una o más de las siguientes posiciones correspondientes a las posiciones 62, 212, 230, 232, 252 y 257 de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* son también importantes para modular la estabilidad global y/o actividad proteolítica de la enzima.

Estas sustituciones se hacen preferentemente en subtilisina de *Bacillus lentus* (de tipo recombinante o nativo), aunque las sustituciones se pueden hacer en cualquier proteasa de *Bacillus*.

Basándose en los resultados de selección obtenidos con las variantes de proteasas, las mutaciones apreciadas en subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens* son importantes para la actividad proteolítica, rendimiento y/o estabilidad de estas enzimas y el rendimiento de limpieza o lavado de estas variantes de enzimas.

ES 2 319 470 T3

Los métodos y procedimientos para preparar las enzimas usadas en las composiciones detergentes y blanqueadoras de la presente invención son conocidos y están descritos en la publicación PCT n° WO 95/10615.

Las enzimas de la presente invención tienen especificidad de tipo tripsina. Es decir, las enzimas de la presente invención hidrolizan proteínas escindiendo preferentemente los enlaces péptidos de residuos de aminoácidos con carga, más específicamente residuos como arginina y lisina en lugar de escindir preferentemente los enlaces péptidos de residuos de aminoácidos hidrófobos, más específicamente fenilalanina, triptófano y tirosina. Las enzimas que tienen este último perfil tienen una especificidad de tipo quimiotripsina. La especificidad de los sustratos como se expuso con anterioridad está ilustrada por la acción de la enzima sobre dos sustratos específicos. Las proteasas que tienen especificidad de tipo tripsina hidrolizan el sustrato sintético bVGR-pNA preferentemente sobre el sustrato sintético sucAAPF-pNA. Por el contrario, las enzimas proteasas de tipo quimiotripsina hidrolizan estos últimos de forma mucho más rápida que los primeros. Para los fines de la presente invención, se empleó el siguiente procedimiento para definir la especificidad de tipo tripsina de las enzimas proteasas de la presente invención:

Una cantidad fija de tampón de glicina a un pH de 10 y una temperatura de 25°C se añade a un tubo de ensayo estándar de 10 ml. Se añaden 0,5 ppm de la enzima activa que va a ser ensayada al tubo de ensayo. Se añaden aproximadamente 1,25 mg del sustrato sintético por ml de solución de tampón al tubo de ensayo. La mezcla se deja incubar durante 15 minutos a 25°C. Tras completar el período de incubación se añade un inhibidor enzimático, PMSF, a la mezcla a un nivel de 0,5 mg por ml de solución de tampón. Se lee la absorbancia o valor de OD de la mezcla a 410 nm de longitud de onda. La absorbancia indica seguidamente la actividad de la enzima sobre el sustrato sintético. Cuanto mayor es la absorbancia, mayor es el nivel de actividad frente a ese sustrato.

Para determinar seguidamente la especificidad de una enzima individual, la absorbancia sobre las dos proteínas de sustratos sintéticos puede ser convertida en una relación de especificidad. Para los fines de la presente invención, la relación se determina mediante la especificidad de fórmula:

$$[\text{actividad sobre AAPF-pNA}] / [\text{actividad sobre bVGR-pNA}]$$

Una enzima que tiene una relación de menos de aproximadamente 10, más preferentemente menos de aproximadamente 5 y lo más preferentemente menos de 2,5 se puede considerar entonces que muestra actividad de tipo tripsina.

Estas variantes tienen generalmente al menos una propiedad que es diferente de la misma propiedad del precursor de proteasa del que deriva la secuencia de aminoácidos de la variante.

Un aspecto de la invención son composiciones como composiciones detergentes y blanqueadoras, para el tratamiento de materias textiles, vajillas, artículos de mesa, artículos de cocina, artículos para cocinar y otros sustratos de superficies duras que incluyen una o más variantes de proteasas de la presente invención. Las composiciones que contienen proteasas pueden ser usadas para tratar, por ejemplo: seda o lana, así como otros tipos de telas, como se describe en publicaciones como RD 216.034, EP 134.267, US 4.533.359 y EP 344.259; y vajillas, artículos de mesa, artículos de cocina o artículos para cocinar y otros sustratos de superficies duras como se describe en publicaciones como los documentos US 5.478.742, US 5.346.822, US 5.679.630 y US 5.677.272.

II. *Agentes blanqueadores* - Las composiciones blanqueadoras de la presente invención contienen un agente blanqueador, que comprende preferentemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20% en peso de la composición. El agente blanqueador es un peroxiácido orgánico sustancialmente insoluble, preferentemente ácido, o un sistema blanqueador, que comprende un activador de blanqueo y un compuesto blanqueador de peroxígeno capaz de producir peróxido de hidrógeno, o una combinación de ambos. El perácido que está en la composición, o que se puede formar mediante la combinación del activador y el compuesto de peroxígeno, tiene preferentemente un correspondiente ácido carboxílico que tiene un valor del balance hidrófilo-lipófilo ("HLB") que varía en el intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 6,5. Por lo tanto, un método que puede ser usado para caracterizar los peroxiácidos preferidos (a partir de activadores o como peroxiácidos previamente formados) que son útiles en la presente invención es la "escala de HLB" como la descrita por Davies, J.T., *Proc 2nd Internat. Congr. Surface Activity* 1, 426, Butterworths, London (1957). Esta escala HLB (balance hidrófilo-lipófilo) ha sido usada en el estudio de agentes de actividad superficial (tensoactivos) como un medio para relacionar la distribución de un agente con actividad superficial entre una fase hidrófila (como agua) y una lipófila (como aceite). De esta manera, los valores de HLB pueden ser usados como una indicación del carácter lipófilo (hidrófobo) de la especie blanqueadora activa en el lavado (es decir, la capacidad del peroxiácido para dividir en partes el líquido de lavado y el concentrado en la superficie interfacial de la suciedad/tejidos).

Se exponen con posterioridad en la Tabla A los valores de HLB que han sido calculados para peroxiácidos seleccionados (como los correspondientes ácidos carboxílicos). La ecuación usada para calcular los valores de HLB puede ser expuesta como:

$$\text{HLB} = \text{Suma (números de grupos hidrófilos)} - \text{Suma (números de grupos hidrófobos)} + 7.$$

ES 2 319 470 T3

Los valores para los números de grupos hidrófilos son $[-C(O)OH \text{ \& } -N(H)C(O)- = 2,1]$ y los valores de los números de grupos hidrófobos son [átomos de carbono alifáticos/aromáticos = 0,475 y átomos de carbono alifáticos entre grupos polares son 1/2 del valor de un átomo de carbono alifático en una cadena carbonada = $(0,475)/2$]. Como una referencia, un valor del HLB > 7 indica que el material es preferentemente soluble en agua y un valor del HLB < 7 indica una actividad superficial e hidrofobicidad decrecientes.

TABLA A

Valores de HLB proporcionados por diversos peroxiácidos

<u>Activador/ peroxiácido prefor- mado</u>	<u>Abreviatura</u>	<u>Peroxiácido</u>	<u>HLB corresp. ácido carboxílico</u>
Tetraacetil-etilen- diamina	TAED	$CH_3C(O)OOH$	8,6
Ácido diperoxi- dodecanodioico	DPDDA	$HOO(O)C(CH_2)_{10}-C(O)OOH$	6,5
Nonil-amida de ácido peroxi- succínico	NAPSA	$CH_3(CH_2)_8N(H)-C(O)(CH_2)_2C(O)-OOH$	6,4
Benzoiloxi- benceno-sulfonato	BOBS	$C_6H_5C(O)OOH$	6,3
Nonil-amida de ácido peroxi- adípico	NAPAA	$CH_3(CH_2)_8N(H)-C(O)(CH_2)_4C(O)-OOH$	6,0
Nonanoiloxi- benceno-sulfonato	NOBS	$CH_3(CH_2)_7C(O)-OOH$	5,3
Decanoiloxi- benceno-sulfonato	DOBS	$CH_3(CH_2)_8C(O)-OOH$	4,8
Ácido perláurico	PLA	$CH_3(CH_2)_{10}C-(O)OOH$	3,9

Como se indicó anteriormente, un intervalo preferido de valores de HLB (del correspondiente ácido carboxílico) para los peroxiácidos de la presente invención (añadidos directamente o generados *in situ*) varía en el intervalo de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 6,5. Un intervalo más preferido de valores de HLB (como el ácido carboxílico) para los peroxiácidos útiles en la presente invención (añadidos directamente o generados *in situ*) varía en el intervalo de aproximadamente 4,0 a 6,5. El intervalo más preferido de valores de HLB (como el ácido carboxílico) para los peroxiácidos de la presente invención (añadidos directamente o generados *in situ*) varía en el intervalo de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 6,0.

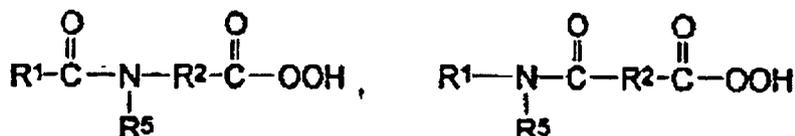
(a) *Peroxiácido*

La presente invención abarca composiciones detergentes que comprenden una cantidad eficaz de la enzima proteasa y un sistema blanqueador que comprende al menos aproximadamente 0,1%, preferentemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 50% en peso de un peroxiácido orgánico sustancialmente insoluble. El peroxiácido útil en la presente invención comprende preferentemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20, más preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10, lo más preferentemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 7% en peso de la composición.

ES 2 319 470 T3

Los peroxiácidos orgánicos preferidos se seleccionan entre el grupo que consiste en ácido 4-nonilamino-4-oxoperoxibutírico; ácido heptil-sulfonilperpropiónico; ácido decilsulfonil-perpropiónico y ácido heptil-, octil-, nonil-, decil-sulfonilperbutírico y sus mezclas.

De los peroxiácidos orgánicos, se prefieren los amidoperoxiácidos (ácidos peroxicarboxílicos amido-sustituídos). Los amidoperoxiácidos adecuados para ser usados en la presente invención se describen en las patentes de EE.UU. 4.634.551 y 4.686.063, ambas de Burns *et al.*, otorgadas el 6 de enero de 1987 y el 11 de agosto de 1987, respectivamente. Los amido-peroxiácidos son de fórmula:



en las que R¹ es un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono (preferentemente, R¹ es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 átomos de carbono), R² es un grupo alquileno, arileno o alcarileno que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono (preferentemente, R² es un grupo alquileno que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono) y R⁵ es H o un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono (preferentemente R⁵ es H). Más preferentemente, R¹ es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 átomos de carbono y R² es un grupo alquileno que contiene de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 átomos de carbono.

Otro perácido previamente formado preferido incluye ácido E-ftalimido-peroxicapropico ("PAP"). Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n° 5.847.818, 5.310.934, 5.246.620, 5.279.757 y 5.132.431.

Otros ácidos peroxicaproicos adecuados incluyen, pero sin limitación, N,N'-tereftaloil-di-(ácido 6-aminoperoxica-proico) ("TPCAP") y otros descritos en la patente de EE.UU. 5.770.551. Adicionalmente, se puede usar también ácido N-nonanoil-6-amino-peroxicapropico ("NAPCA") como un perácido. Véanse las patentes de EE.UU. n° 5.523.434, 4.634.551 y 4.852.989.

Son también adecuados para ser usados en la presente invención los peroxifumaratos, que se describen en la patente de EE.UU. 4.852.989, de Burns *et al.*, otorgada el 1 de agosto de 1989 y los sulfona-peroxiácidos (ácidos sulfona-peroxicarboxílicos), que se describen en las patentes de EE.UU. 4.758.369, 4.824.591 y 5.004.558, todas de Dryoff *et al.*, otorgadas el 19 de julio de 1988, 25 de abril de 1989 y 2 de abril de 1991, respectivamente.

El ejemplo I de la patente de EE.UU. 4.686.063 contiene una descripción de la síntesis de NAPSA, desde la columna 8, línea 40 hasta la columna 9, línea 5, y NAPAA, desde la columna 9, línea 15 hasta la columna 9, línea 55. Al final de la síntesis del amido-peroxiácido, la reacción se inactiva con agua, se filtra, se lava con agua para separar algún ácido sulfúrico en exceso (u otro ácido fuerte con el que se preparó el peroxiácido) y se filtra nuevamente.

La torta húmeda del amido-peroxiácido así obtenida se puede poner en contacto con una solución de tampón de fosfato a un pH entre aproximadamente 3,5 y 6, preferentemente entre aproximadamente 4 y 5, según la patente de EE.UU. 4.909.953, de Sadlowski *et al.*, otorgada el 20 de marzo de 1990.

Se pueden añadir otros agentes para la estabilización del almacenamiento o control de la exotermia al amido-peroxiácido antes de la incorporación en el producto final. Por ejemplo, el ácido bórico, un agente de control de la exotermia descrito en la patente de EE.UU. 4.686.063, de Burns, otorgada el 11 de agosto de 1987, se puede mezclar con el amido-peroxiácido (que ha sido lavado en tampón de fosfato) en una relación de perácido: ácido bórico de aproximadamente 2:1. El amido-peroxiácido lavado con tampón de fosfato puede ser mezclado también con cantidades apropiadas de ácido dipicolínico y pirofosfato de tetrasodio, un sistema de estabilización quelante. Pueden ser incluidos opcionalmente quelantes en el tampón de fosfato antes del contacto con la torta húmeda.

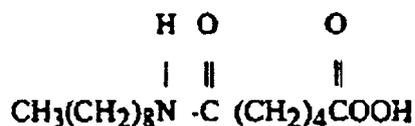
La torta húmeda está constituida preferentemente por partículas con un diámetro medio de partículas de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 260 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 micrómetros y lo más preferentemente de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 micrómetros. Son deseados cristales de NAPAA de un tamaño de partículas pequeño en la presente invención. Véase la patente de EE.UU. 5.055.218 de Getty *et al.*, otorgada el 8 de octubre de 1991.

La torta de filtración de NAPAA se lava preferentemente dos veces en tampón de fosfato. Se ha encontrado que dos lavados sucesivos con tampón de fosfato conducen a una estabilidad óptima del NAPAA.

Son preferidos peroxiácidos orgánicos en forma de partículas (sólidas) con un AvO (oxígeno disponible) entre aproximadamente 3 y aproximadamente 12, lo más preferentemente entre 5 y 7.

ES 2 319 470 T3

El más preferido para ser usado en la presente invención es el NAPAA. Otro nombre para la nonilamida de ácido peroxiadípico ("NAPAA") ES ÁCIDO 6-(nonilamino)-6-oxoperoxicaprico. La fórmula química para el NAPAA es:



El peso molecular del NAPAA es 287,4.

Las composiciones detergentes y composiciones blanqueadoras que contienen NAPAA proporcionan un blanqueo superficial extremadamente efectivo y eficaz de materias textiles. Las manchas y/o suciedades son suprimidas de las materias textiles. Estas composiciones son particularmente eficaces para suprimir suciedades de maquinarias en materias textiles.

La amida polar o amida sustituida de la NAPAA da lugar a un peroxiácido que tiene una presión de vapor muy baja y, por tanto, posee un bajo perfil de olor así como un excelente rendimiento blanqueador. Se cree que la polaridad del grupo amido da lugar a una reducción de la presión de vapor del peroxiácido y a un aumento del punto de fusión.

El NAPAA puede ser usado directamente como un agente blanqueador. Tiene una presión de vapor reducida y un buen perfil de olor en aplicaciones de lavandería.

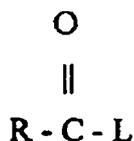
El NAPAA puede ser preparado, por ejemplo, haciendo reaccionar en primer lugar NAAA (monononil-amida de ácido adípico), ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno. El producto de reacción es inactivado mediante adición a hielo-agua seguido de filtración, lavado con agua destilada y filtración con succión final para recuperar la torta húmeda. El lavado se puede continuar hasta que el pH del filtrado sea neutro.

Es preferido también que el pH del NAPAA (10% de sólidos en agua) sea entre aproximadamente 4,2 y 4,8. Sorprendentemente, este pH da lugar a partículas con mayor estabilidad térmica.

(b) Sistemas blanqueadores - Activador de blanqueo y compuesto blanqueador de peróxigeno

(i) Activadores de blanqueo

El activador de blanqueo para los sistemas blanqueadores útiles en la presente invención tiene preferentemente la siguiente estructura:

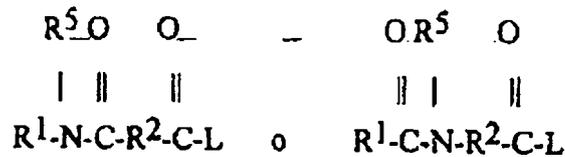


en la que R es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 18 átomos de carbono en el que la cadena de alquilo lineal más larga que se extiende a partir del átomo de carbono de carbonilo y que lo incluye contiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 10 átomos de carbono y L es un grupo lábil, cuyo ácido conjugado tiene un pKa en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 13, preferentemente de aproximadamente 6 a aproximadamente 11, lo más preferentemente de aproximadamente 8 a aproximadamente 11.

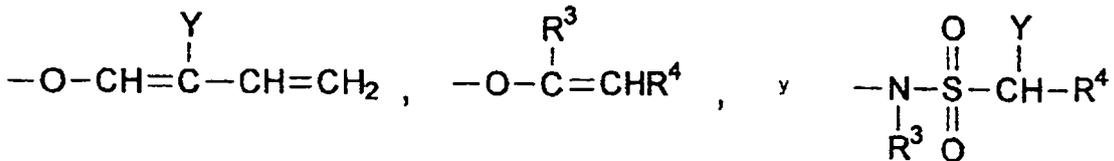
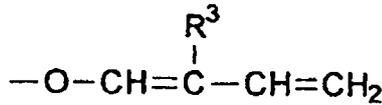
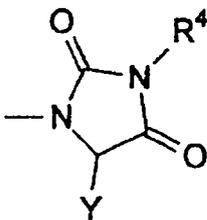
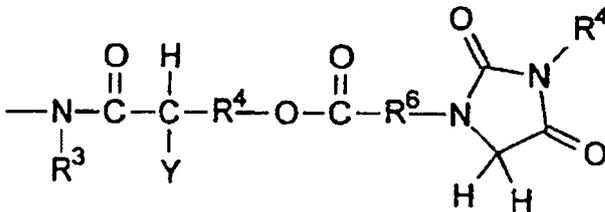
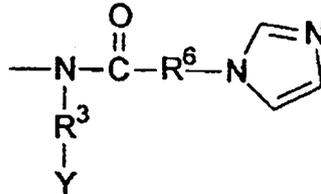
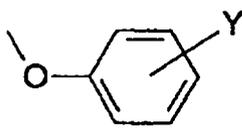
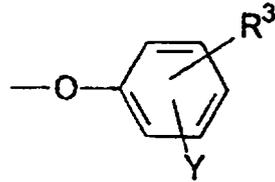
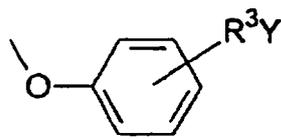
L puede ser esencialmente cualquier grupo lábil adecuado. Un grupo lábil es cualquier grupo que sea desplazado del activador de blanqueo como consecuencia del ataque nucleofílico sobre el activador de blanqueo por el anión de perhidróxido. Es decir, la reacción de perhidrólisis da lugar a la formación del ácido percarboxílico. Generalmente, para que un grupo sea un grupo lábil adecuado, debe ejercer un efecto de atracción de electrones. Esto facilita el ataque nucleofílico por el anión perhidróxido.

El grupo L debe ser suficientemente reactivo para que la reacción se produzca en el marco de tiempo óptimo (por ejemplo, un ciclo de lavado). Sin embargo, si L es demasiado reactivo, este activador será difícil de estabilizar. Estas características son generalmente paralelas al pKa del ácido conjugado del grupo lábil, aunque son conocidas excepciones a este criterio.

Los activadores de blanqueo preferidos son los de fórmula general:



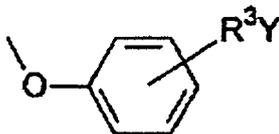
en la que R¹ es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 átomos de carbono, R² es un alquileo que contiene de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono, R⁵ es H o alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 átomo de carbono y L se selecciona entre el grupo que consiste en:



en las que R⁶ es un grupo alquileo, arileno o alcarileno que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono, R³ es una cadena alquílica que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, R⁴ es H o R³ e Y es H o un grupo solubilizante. Y se selecciona preferentemente entre el grupo que consiste en -SO₃-M+, -COO-M+, -SO₄-M+, (-N+R'₃)X- y O←N(R'₃), en los que R' es una cadena alquílica que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 átomos de carbono, M es un catión que proporciona solubilidad al activador de blanqueo y X es un anión que proporciona solubilidad al activador de blanqueo. Preferentemente, M es

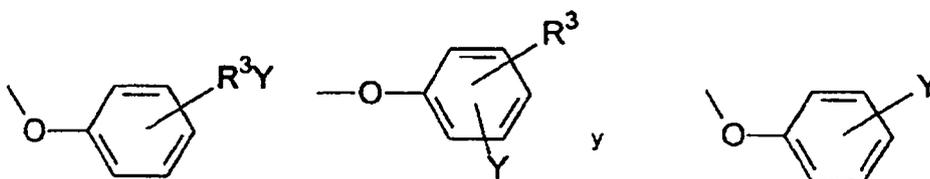
ES 2 319 470 T3

un metal alcalino, amonio o un catión amonio sustituido, siendo sodio y potasio los más preferidos, y X es un anión seleccionado entre el grupo que consiste en los aniones haluro, hidróxido, metilsulfato y acetato. Más preferentemente, Y es $-\text{SO}_3\text{-M}^+$ y $-\text{COO-M}^+$. Debe apreciarse que los activadores de blanqueo con un grupo lábil que no contiene un grupo solubilizante deben estar bien dispersados en la solución de blanqueo con el fin de ayudar a su disolución. Es preferido:



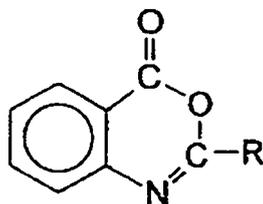
en el que R^3 es como se definió anteriormente e Y es $-\text{SO}_3\text{-M}^+$ o $-\text{COO-M}^+$ en los que M es como se definió anteriormente.

Son especialmente preferidos los activadores de blanqueo en lo que R^1 es una cadena de alquilo lineal que contiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 átomos de carbono, R^2 es una cadena de alqueno lineal que contiene de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono, R^3 es H y L se selecciona entre el grupo que consiste en:



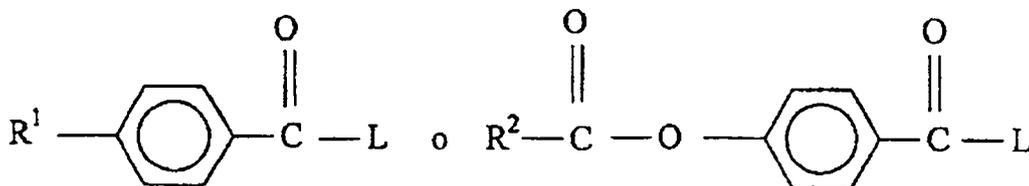
en los que R^3 es como se definió anteriormente, Y es $-\text{SO}_3\text{-M}^+$ o $-\text{COO-M}^+$ y M es como se definió anteriormente.

Un activador de blanqueo preferido es:



en el que R es H, alquilo, arilo o aralquilo. Este se describe en la patente de EE.UU. 4.966.723, de Hodge *et al.*, incorporada como referencia a la presente memoria descriptiva.

Los activadores de blanqueo preferidos son:



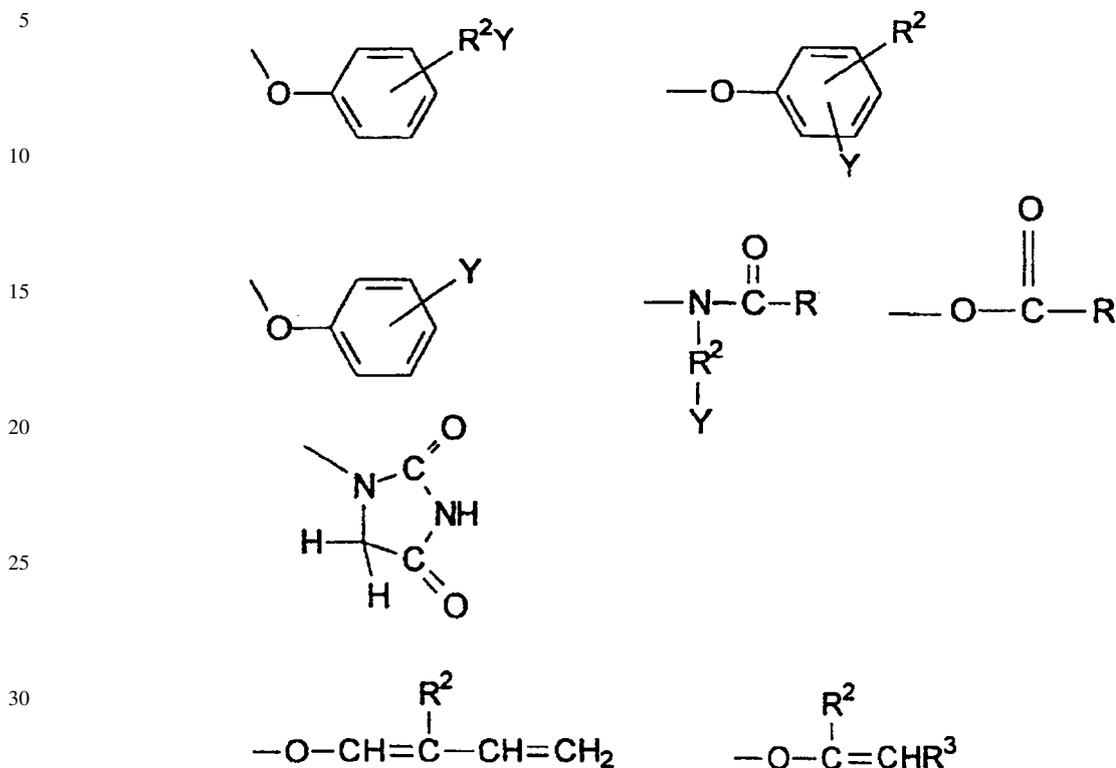
en los que R^1 es H o un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono y R^2 es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono y L es como se definió con anterioridad.

Los activadores de blanqueo preferidos son también los de la fórmula general anterior en la que L es como se definió en la fórmula general y R^1 es H o un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 átomos de carbono.

Incluso más preferidos son los activadores de blanqueo de la fórmula general anterior en los que L es como se definió en la fórmula general y R^1 es un H.

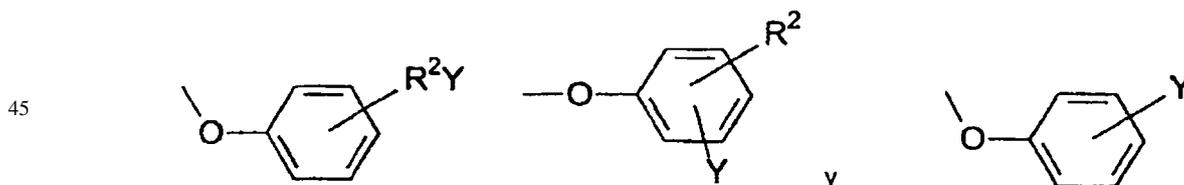
ES 2 319 470 T3

Son más preferidos los activadores de blanqueo de la fórmula general anterior en la que R es una cadena de alquilo lineal que contiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 9 y, preferentemente, de aproximadamente 6 a aproximadamente 8 átomos de carbono y L se selecciona entre el grupo que consiste en:



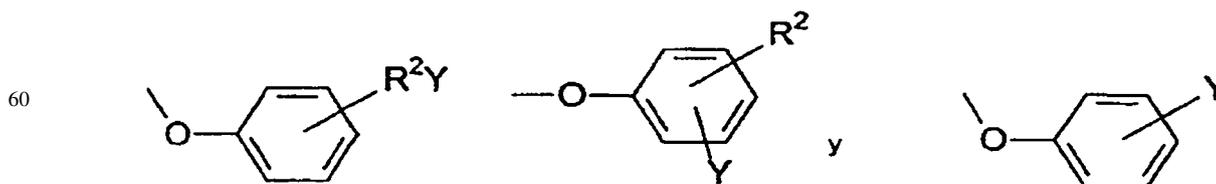
35 en los que R, R², R³ e Y son como se definieron anteriormente.

40 Los activadores de blanqueo particularmente preferidos son los de la fórmula general anterior en la que R es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 átomos de carbono en el que la parte lineal más larga de la cadena alquílica que se extiende desde el átomo de carbono del grupo carbonilo y que incluye el mismo tiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 10 átomos de carbono, y L se selecciona entre el grupo que consiste en:



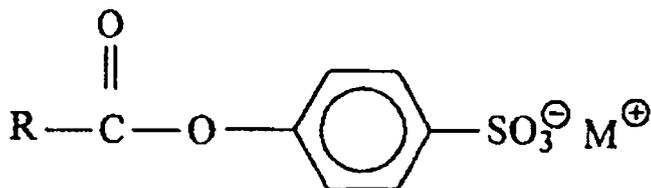
50 en los que R² es una cadena alquílica que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono e Y es SO₃M⁺ o -COO-M⁺ en los que M es un metal alcalino, amonio o un catión de amonio sustituido.

55 Los activadores de blanqueo especialmente preferidos son los de la fórmula general anterior en la que R es una cadena de alquilo lineal que contiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 9 y, preferentemente, de aproximadamente 6 a aproximadamente 8 átomos de carbono y L se selecciona entre el grupo que consiste en:



65 en los que R² es como se definió anteriormente e Y es -SO₃M⁺ o -COO-M⁺ en los que M es como se definió anteriormente.

Los activadores de blanqueo más preferidos tienen la fórmula:

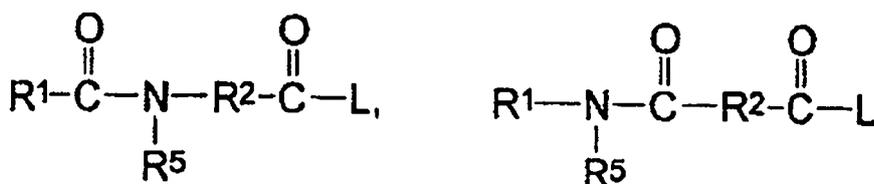


en la que R es una cadena de alquilo lineal que contiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 9 y, preferentemente, de aproximadamente 6 a aproximadamente 8 átomos de carbono y M es sodio o potasio.

Preferentemente, el activador de blanqueo de la presente invención es nonanoiloxibencenosulfonato de sodio (NOBS) o benzoiloxibencenosulfonato de sodio (BOBS).

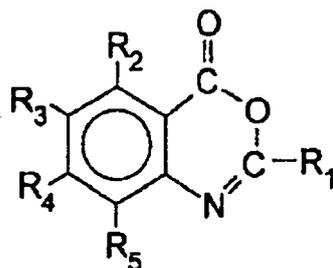
Adicionalmente, son particularmente preferidos para ser usadas en las composiciones blanqueadoras de la presente invención los siguientes activadores de blanqueo, que son particularmente seguros para ser usados con máquinas que tengan partes de caucho natural. Esto se cree que es el resultado de no producir especies de diacilperóxido aceitosas (DAP) mediante la reacción de perhidrólisis de estos activadores de blanqueo derivados de amidoácidos, sino en su lugar formar DAP's sólidos cristalinos insolubles. Estos sólidos se cree que no forman una película de revestimiento y, por tanto, las partes de caucho natural no son expuestas a DAP's durante períodos de tiempo prolongados. Estos activadores de blanqueo preferidos son miembros seleccionados entre el grupo que consiste en:

a) un activador de blanqueo de fórmula general:



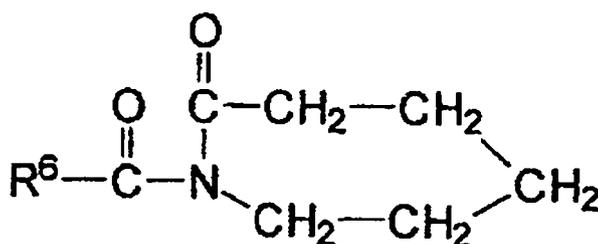
o sus mezclas, en las que R¹ es un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono, R² es un grupo alquilenilo, arilenilo o alcarilenilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono, R⁵ es H o un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono y L es un grupo lábil;

b) activadores de blanqueo de tipo benzoxazina de fórmula general:



en la que R₁ es H, alquilo, alcarilo, arilo, arilalquilo y en la que R₂, R₃, R₄ y R₅ pueden ser sustituyentes iguales o diferentes seleccionados entre H, halógeno, alquilo, alquilenilo, arilo, hidroxilo, alcoxilo, amino, alquilamino, COOR₆ (en el que R₆ es H o un grupo alquilo) y funciones carbonilo;

c) activadores de blanqueo de N-acil-caprolactama de fórmula:



en la que R⁶ es H o un grupo alquilo, arilo, alcoxiarilo o alcarilo que contiene de 1 a 12 átomos de carbono; y

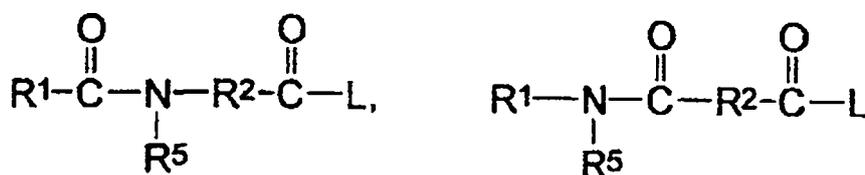
d) mezclas de los apartados a), b) y c).

Los activadores de blanqueo preferidos de tipo a) son aquellos en los que R¹ es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 átomos de carbono; R² contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono y R⁵ es H o metilo. Los activadores de blanqueo particularmente preferidos son los de las fórmulas generales anteriores en las que R¹ es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 7 a aproximadamente 10 átomos de carbono y R² contiene de aproximadamente 4 a aproximadamente 5 átomos de carbono.

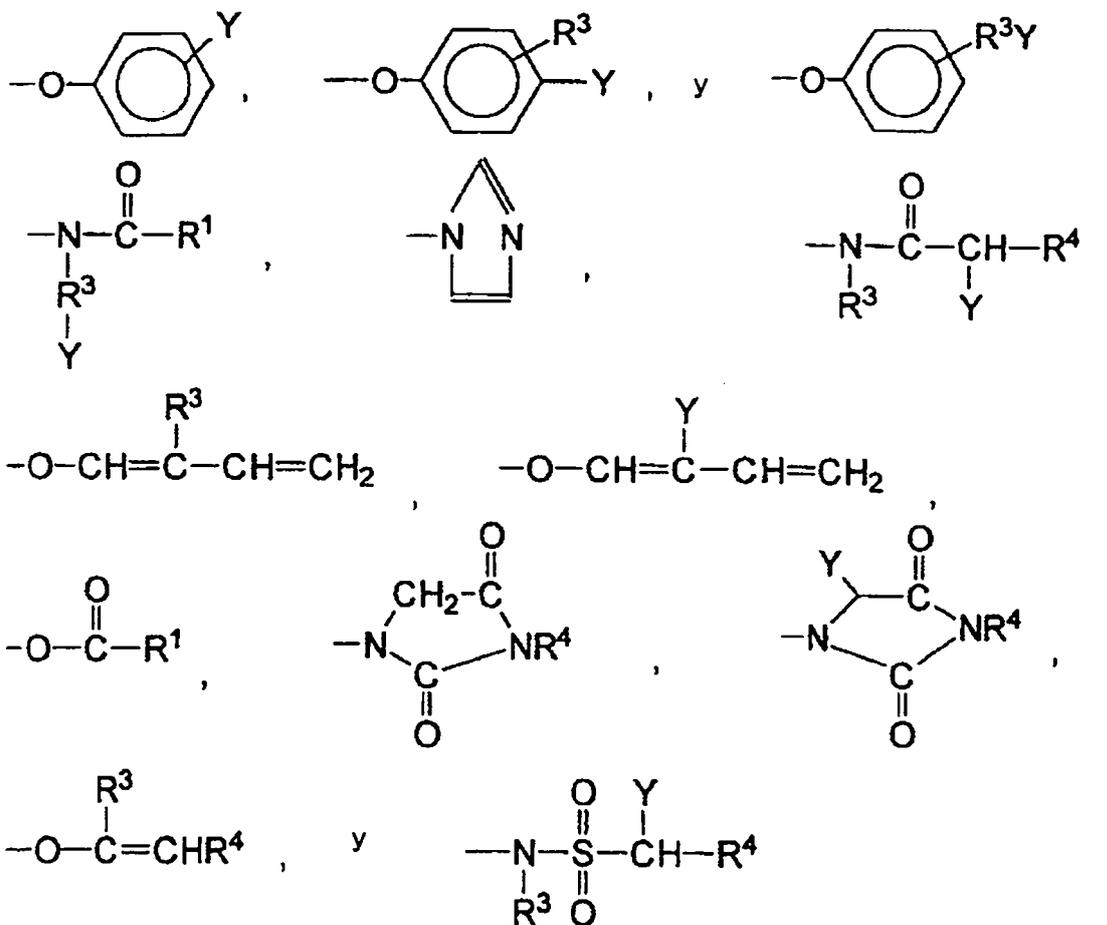
Los activadores de blanqueo preferidos de tipo b) son aquellos en los que R₂, R₃, R₄ y R₅ son H y R₁ es un grupo fenilo.

Los resto acilo preferidos de dichos activadores de blanqueo de N-acil-caprolactama de tipo c) tienen la fórmula R⁶-CO- en la que R⁶ es H o un grupo alquilo, arilo, alcoxiarilo o alcarilo que contiene de 1 a 12 átomos de carbono, preferentemente de 6 a 12 átomos de carbono. En realizaciones altamente preferidas, R⁶ es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en fenilo, heptilo, octilo, nonilo, 2,4,4-trimetilfenilo, decenilo y sus mezclas.

Activadores de blanqueo derivados de amido - Los activadores de blanqueo de tipo a) empleados en la presente invención son compuestos amido-sustituídos de fórmulas generales:



o sus mezclas, en los que R¹, R² y R⁵ son como se definieron anteriormente y L puede ser esencialmente cualquier grupo lábil adecuado. Los activadores de blanqueo preferidos son los de la fórmula general anterior en la que R¹, R² y R⁵ son como se definieron para el peroxiacido y L se selecciona entre el grupo que consiste en:

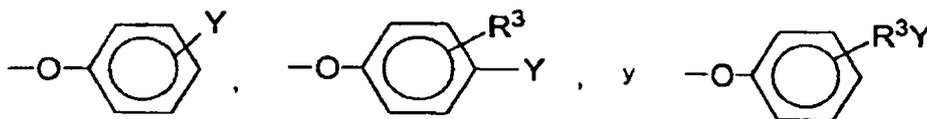


y sus mezclas, en los que R¹ es un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono, R³ es una cadena alquílica que contiene de 1 a 8 átomos de carbono, R⁴ es H o R³ e Y es H o un grupo solubilizante.

ES 2 319 470 T3

Los grupos solubilizantes preferidos son $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$, $-\text{CO}_2^-\text{M}^+$, $-\text{SO}_4^-\text{M}^+$, $-\text{N}^+(\text{R}^3)_4\text{X}^-$ y $\text{O} < \text{N}(\text{R}^3)_3$ y lo más preferentemente $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ y $-\text{CO}_2^-\text{M}^+$ en los que R^3 es una cadena alquílica que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 átomos de carbono, M es un catión que proporciona solubilidad al activador de blanqueo y X es un anión que proporciona solubilidad al activador de blanqueo. Preferentemente, M es un metal alcalino, amonio o un catión de amonio sustituido, siendo sodio y potasio los más preferidos, y X es un ion haluro, hidróxido, metilsulfato o acetato. Debe apreciarse que los activadores de blanqueo con un grupo lábil que no contiene grupos solubilizantes deben estar bien dispersados en la solución blanqueadora con el fin de ayudar a su disolución.

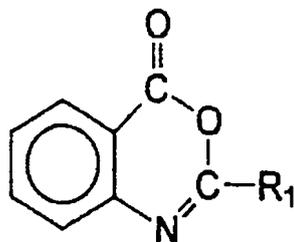
Los activadores de blanqueo preferidos son los de la fórmula general anterior en la que L se selecciona entre el grupo que consiste en:



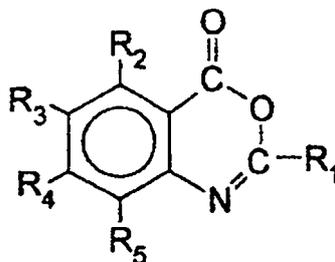
en el que R^3 es como se definió anteriormente e Y es $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ o $-\text{CO}_2^-\text{M}^+$ en los que M es como se definió anteriormente.

Otra clase importante de activadores de blanqueo, que incluye las de tipo b) y tipo c), proporcionan perácidos orgánicos como se describe en la presente memoria descriptiva mediante abertura del anillo como consecuencia del ataque nucleofílico sobre el átomo de carbono de carbonilo del anillo cíclico mediante el anión perhidróxido. Por ejemplo, esta reacción de abertura del anillo en los activadores de tipo c) incluye en ataque en el átomo de carbonilo del anillo de caprolactama mediante peróxido de hidrógeno o su anión. Como el ataque de una acil-caprolactama por peróxido de hidrógeno o su anión se produce preferentemente en el átomo de carbonilo exocíclico, la obtención de una fracción significativa de abertura del anillo puede requerir un catalizador. Otro ejemplo de activadores de blanqueo de abertura del anillo se puede encontrar en los activadores de tipo b), como los descritos en la patente de EE.UU. 4.966.723, de Hodge *et al.*, otorgada el 30 de octubre de 1990.

Activadores de blanqueo de tipo benzoxazina - Estos compuestos activadores descritos por Hodge incluyen los activadores de tipo benzoxazina, que tienen la fórmula:

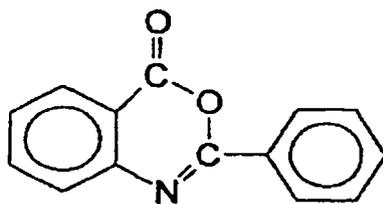


que incluyen las benzoxazinas del tipo



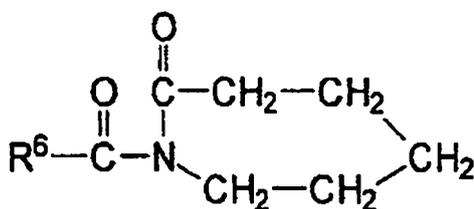
en la que R_1 es H, alquilo, alcarilo, arilo, arilalquilo y en la que R_2 , R_3 , R_4 y R_5 pueden ser sustituyentes iguales o diferentes seleccionados entre las funciones H, halógeno, alquilo, alquenoilo, arilo, hidroxilo, alcoxilo, amino, alquil-amino, COOR_6 (en el que R_6 es H o un grupo alquilo) y carbonilo.

Un activador preferido del tipo benzoxazina es:



Quando se usan los activadores, el rendimiento óptimo de blanqueo superficial se obtiene con soluciones de lavado en las que el pH de esta solución está entre aproximadamente 8,5 y 10,5 y preferentemente entre 9,5 y 10,5, con el fin de facilitar la reacción de perhidrólisis. Este pH puede ser obtenido con sustancias comúnmente conocidas como agentes tamponantes, que son componentes óptimos de los sistemas blanqueadores de la presente invención.

Activadores de blanqueo de N-acil-caprolactama - Los activadores de blanqueo de N-acil-caprolactama de tipo c) empleados en la presente invención tienen la fórmula:



en la que R⁶ es H o un grupo alquilo, arilo, alcoxiarilo o aralquilo que contiene de 1 a 12 átomos de carbono. Los activadores de caprolactama en los que el resto R⁶ contiene al menos aproximadamente 6, preferentemente de 6 a aproximadamente 12 átomos de carbono proporcionan un blanqueo hidrófobo que suministra una limpieza de suciedad nucleofílica de suciedad corporal, como se indicó anteriormente. Los activadores de caprolactama en los que R⁶ comprende de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono proporcionan especies blanqueadoras hidrofílicas que son particularmente eficaces para blanquear manchas de bebidas. Pueden ser usadas mezclas de caprolactamas hidrófobas e hidrófilas, normalmente a relaciones en peso de 1:5 a 5:1, preferentemente 1:1, para obtener ventajas de supresión de manchas mixtas.

Las N-acil-caprolactamas altamente preferidas son seleccionadas a partir del grupo que consiste en benzoil-caprolactama, octanoil-caprolactama, nonanoil-caprolactama, 3,5,5-trimetilhexanoil-caprolactama, decanoil-caprolactama, undecenoil-caprolactama y sus mezclas. Los métodos para preparar N-acil-caprolactamas son bien conocidos en la técnica.

Contrariamente a las explicaciones de la patente de EE.UU. 4.545.784, el activador de blanqueo preferentemente no es absorbido en el compuesto blanqueador de peróxigeno. Hacer esto en presencia de otros ingredientes detergentes orgánicos podría provocar problemas de seguridad.

Los activadores de blanqueo de tipo a), b) o c) comprenderán al menos aproximadamente 0,01%, preferentemente desde aproximadamente 0,1, más preferentemente desde aproximadamente 1%, lo más preferentemente desde aproximadamente 3% hasta aproximadamente 50%, preferentemente hasta aproximadamente 30%, más preferentemente hasta aproximadamente 15%, todavía más preferentemente hasta aproximadamente 10%, lo más preferentemente hasta aproximadamente 8% en peso del sistema blanqueador o composición blanqueadora.

Los activadores de blanqueo derivados de amino y caprolactama preferidos en la presente invención pueden ser usados también en combinación con activadores hidrófilos, seguros para las enzimas y seguros para el caucho como TAED, normalmente a relaciones en peso de activadores derivados de amido o caprolactama:TAED en el intervalo de 1:5 a 5:1, preferentemente de aproximadamente 1:1.

Los activadores de blanqueo altamente preferidos se seleccionan entre el grupo que consiste en tetraacetil-etilendiamina (TAED), benzoilcaprolactama (BzCL), 4-nitrobenzoilcaprolactama, 3-clorobenzoilcaprolactama, benzoiloxibencenosulfonato (BOBS), nonanoiloxibencenosulfonato (NOBS), benzoato de fenilo (PhBz), decanoiloxibencenosulfonato (C₁₀-OBS), benzoilvalerolactama (BZVL), octanoiloxibencenosulfonato (C₈-OBS), ésteres perhidrolizables y sus mezclas, lo más preferentemente benzoilcaprolactama y benzoilvalerolactama. Los activadores de blanqueo particularmente preferidos en el intervalo de pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 9,5 son los que se seleccionan teniendo un grupo lábil de OBS o VL.

ES 2 319 470 T3

Se describen activadores de blanqueo preferidos adicionales en los documentos US 5.698.504 de Christie *et al.*, otorgado el 16 de diciembre de 1997; US 5.695.679 de Christie *et al.*, otorgado el 9 de diciembre de 1997; US 5.686.401 de Willey *et al.*, otorgado el 11 de noviembre de 1997; US 5.686.014 de Hartshorn *et al.*, otorgado el 11 de noviembre de 1997; US 5.405.412 de Willey *et al.*, otorgado el 11 de abril de 1995; US 5.405.413 de Willey *et al.*, otorgado el 11 de abril de 1995; US 5.130.045 de Mitcher *et al.*, otorgado el 14 de julio de 1992 y US 4.412.934 de Chung *et al.*, otorgada el 1 de noviembre de 1983, y solicitudes de patentes en trámite n° de series de EE.UU. 08/709.072 y 08/064.564.

Los activadores de blanqueo hidrófobos preferidos incluyen, pero sin limitación, nonanoiloxibencenosulfonato (NOBS), sal de sodio de 4-[N-(nonanoil)amino-hexanoiloxi]-benceno-sulfonato (NACA-OBS), un ejemplo del cual se describe en la patente de EE.UU. n° 5.523.434, dodecanoiloxibencenosulfonato (LOBS o C₁₂-OBS), 10-undecanoiloxibencenosulfonato (UDOBS o C₁₁-OBS con insaturación en la posición 10) y ácido decanoiloxibenzoico (DOBA).

Pueden ser incluidos también activadores de blanqueo con sustitución cuaternaria. Las presentes composiciones blanqueadoras comprenden preferentemente un activador de blanqueo con sustitución cuaternaria (QSBA) o un perácido con sustitución cuaternaria (QSP); más preferentemente el primero. Las estructuras preferidas de QSBA se describen adicionalmente en los documentos US 5.686.015 de Willey *et al.*, otorgado el 11 de noviembre de 1997; US 5.654.421 de Taylor *et al.*, otorgado el 5 de agosto de 1997; US 5.460.747 de Gosselink *et al.*, otorgado el 24 de octubre de 1995; US 5.584.888 de Miracle *et al.*, otorgado el 17 de diciembre de 1996 y US 5.578.136 de Taylor *et al.*, otorgado el 26 de noviembre de 1996.

Los activadores de blanqueo altamente preferidos útiles en la presente invención están sustituidos con amidas como se describe en los documentos US 5.698.504, US 5.695.679 y US 5.686.014, cada uno de los cuales se cita con anterioridad en la presente memoria descriptiva. Ejemplos preferidos de estos activadores de blanqueo incluyen: (6-octanamidocaproil)-oxibencenosulfonato, (6-nonanamidocaproil)oxibencenosulfonato, (6-decanamidocaproil)oxibencenosulfonato y sus mezclas.

Otros activadores útiles, expuestos en los documentos US 5.698.504, US 5.695.679, US 5.686.014, cada uno de los cuales es citado con anterioridad en la presente memoria descriptiva y US 4.966.723 de Hodge *et al.*, otorgado el 30 de octubre de 1990, incluyen activadores de tipo benzoxazina, como un anillo de C₆H₄ que está condensado en las posiciones 1,2 a un resto -C(O)OC(R¹)=N-.

Dependiendo del activador y la aplicación precisa se pueden obtener buenos resultados de blanqueo a partir de sistemas blanqueadores que tengan un pH en uso de aproximadamente 6 a aproximadamente 13, preferentemente de aproximadamente 9,0 a aproximadamente 10,5. Normalmente, por ejemplo, se usan activadores con restos supresores de electrones para intervalos de pH próximos al neutro o por debajo del neutro. Se pueden usar álcalis y agentes tamponantes para asegurar este pH.

Los activadores de acil-lactama, como los descritos en los documentos US 5.698.504, US 5.695.679 y US 5.686.014, cada uno de los cuales se cita con anterioridad en la presente memoria descriptiva, son muy útiles en la presente invención, especialmente las acil-caprolactamas (véase, por ejemplo, el documento WO 94-28102 A) y las acil-valerolactamas (véase, por ejemplo, el documento US 5.503.639 de Willey *et al.*, otorgado el 2 de abril de 1996).

El mecanismo blanqueador en general, y el mecanismo blanqueador de la superficie en particular, no están completamente comprendidos. Sin embargo, generalmente se cree que el activador de blanqueo experimenta un ataque nucleofílico por un anión perhidróxido, que es generado a partir del peróxido de hidrógeno desprendido por el blanqueador de peroxígeno, para formar un ácido peroxicarboxílico. Esta reacción se denomina comúnmente perhidrólisis.

Cuando se usan los activadores, se obtiene un rendimiento óptimo de blanqueo de superficies con soluciones de lavado en las que el pH de tal solución es entre aproximadamente 8,5 y 10,5 y, preferentemente, entre 9,5 y 10,5 con el fin de facilitar la reacción de perhidrólisis. Este pH puede ser obtenido con sustancias comúnmente conocidas como agentes tamponantes, que son componentes opcionales de los sistemas blanqueadores de la presente invención.

(ii) El compuesto blanqueador de peroxígeno

Los sistemas blanqueadores de peroxígeno útiles en la presente invención son los capaces de producir peróxido de hidrógeno en un líquido acuoso. Estos compuestos son bien conocidos en la técnica e incluyen peróxido de hidrógeno y los peróxidos de metales alcalinos, compuestos blanqueadores de peróxidos orgánicos como peróxido de urea y compuestos blanqueadores de persales inorgánicas, como perboratos, percarbonatos, perfosfatos de metales alcalinos y similares. Se pueden usar también mezclas de dos o más de estos compuestos blanqueadores, si se desea.

Las fuentes de peróxidos de hidrógeno se describen en la Encyclopedia of Chemical Technology de Othmer Kird, 4th Ed (1992, John Wiley & Sons), Vol 4, pag. 271-300 "Bleaching Agents (Survey)" e incluyen las diversas formas de perborato de sodio y percarbonato de sodio, que incluyen diversas formas revestidas y modificadas.

Los compuestos blanqueadores de peroxígeno preferidos incluyen perborato de sodio, disponible en el comercio en la forma de mono-, tri- y tetra-hidrato, peroxihidrato de pirofosfato de sodio, peroxihidrato de urea, percarbonato de sodio y peróxido de sodio. Son particularmente preferidos tetrahidrato de perborato de sodio, monohidrato de

ES 2 319 470 T3

perborato de sodio y percarbonato de sodio. El percarbonato es especialmente preferido porque es muy estable durante el almacenamiento y, sin embargo, todavía se disuelve muy rápidamente en el líquido blanqueador. Se cree que esta disolución rápida da lugar a la formación de niveles superiores de ácido percarboxílico y, por tanto, un rendimiento mejorado de blanqueo de superficies.

El percarbonato altamente preferido puede estar en una forma sin revestir o revestida. El tamaño medio de partículas del percarbonato sin revestir varía en el intervalo de aproximadamente 400 a aproximadamente 1200 micrómetros, lo más preferentemente de aproximadamente 400 a aproximadamente 600 micrómetros. Si se usa percarbonato revestido, los materiales de revestimiento preferidos incluyen mezclas de carbonato y sulfato, silicato, borosilicato o ácidos carboxílicos grasos.

El compuesto blanqueador de peróxígeno comprenderá al menos aproximadamente 0,1%, preferentemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 75%, más preferentemente de aproximadamente 3% a aproximadamente 40%, lo más preferentemente de aproximadamente 3% a aproximadamente 25% en peso del sistema blanqueador o composición blanqueadora.

La relación en peso de activador de blanqueo a compuesto blanqueador de peróxígeno en el sistema blanqueador varía normalmente en el intervalo de aproximadamente 2:1 a 1:5. Las relaciones preferidas varían en el intervalo de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:3.

La relación en moles de compuesto blanqueador de peróxígeno (como AvO) a activador de blanqueo en la presente invención varía generalmente en el intervalo de al menos 1:1, preferentemente de al menos 1,5:1, lo más preferentemente de al menos 1:1 a aproximadamente 20:1, preferentemente a aproximadamente 10:1, más preferentemente a aproximadamente 3:1. Preferentemente, las composiciones blanqueadoras de la presente invención comprenden de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20, lo más preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10% en peso del compuesto blanqueador de peróxígeno.

Los sistemas de compuestos activadores de blanqueo/blanqueadores de la presente invención son útiles por sí mismos como blanqueadores. Sin embargo, estos sistemas blanqueadores son especialmente útiles en composiciones que pueden comprender diversos adyuvantes detergentes como tensioactivos, mejoradores de la detergencia y similares.

Catalizadores de blanqueo - Las composiciones de la presente invención pueden comprender adicionalmente uno o más catalizadores de blanqueo. Los catalizadores de blanqueo preferidos son catalizadores de blanqueo de iones híbridos, que se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.576.282 y 5.817.614 (especialmente 3-(3,4-dihidroisoquinolinio) propano-sulfonato. Otros catalizadores de blanqueo incluyen catalizadores de blanqueo catiónicos que se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.360.569, 5.442.066, 5.478.357, 5.370.826, 5.482.515, 5.550.256 y WO 95/13351, WO 95/13352 y WO 95/13353.

40 *Composiciones blanqueadoras*

Las composiciones blanqueadoras de la presente invención comprenden también, además de una o más variantes de proteasas y uno o más agentes blanqueadores descritos con anterioridad, uno o más materiales adyuvantes de limpieza, preferentemente compatibles con la(s) variante(s) de proteasa(s) y agente(s) blanqueador(es). El término "compatible", como se usa en la presente memoria descriptiva, significa que los materiales de las composiciones blanqueadoras no reducen la actividad proteolítica de la enzima proteasa hasta un alcance tal que la proteasa no sea eficaz, como se desea durante situaciones de uso normal. La expresión "materiales adyuvantes de limpieza", como se usa en la presente memoria descriptiva, significa cualquier material líquido, sólido o gaseoso seleccionado para el tipo particular de composición blanqueadora deseada y la forma del producto (por ejemplo, líquido, gránulo, polvo, barra, pasta, pulverización, comprimido, gel, composición de espuma), materiales que son también preferentemente compatibles con la(s) enzima(s) proteasa(s) y agente(s) blanqueador(es) usado(s) en la composición. Las composiciones granulares pueden estar también en forma "compacta" y las composiciones líquidas pueden estar también en una forma "concentrada".

La selección específica de los materiales adyuvantes de limpieza se hace fácilmente considerando la superficie, objeto o tela que va a ser limpiado y la forma deseada de la composición para las condiciones de limpieza durante el uso (por ejemplo, a través del uso del detergente de lavado). Ejemplos de materiales adyuvantes de limpieza adecuados incluyen, pero sin limitación, tensioactivos, mejoradores de la detergencia, blanqueadores, activadores de blanqueo, catalizadores de blanqueo, otras enzimas, sistemas estabilizadores de enzimas, quelantes, abrillantadores ópticos, polímeros supresores de la suciedad, agentes de transferencia de colorantes, dispersantes, supresores de la formación de espuma, tintes, perfumes, colorantes, sales de materiales de carga, hidrotropos, fotoactivadores, agentes de contraste, acondicionadores de telas, tensioactivos hidrolizables, conservantes, anti-oxidantes, agentes anti-encogimiento, agentes anti-arrugas, germicidas, fungicidas, partículas coloreadas, limpiadores de plata, agentes anti-empañamiento y/o anti-corrosión, fuentes de alcalinidad, agentes solubilizantes, materiales portadores, adyuvantes de tratamiento, pigmentos y agentes de control del pH como se describe en las patentes de EE.UU. n° 5.705.464, 5.710.115, 5.698.504, 5.695.679, 5.686.014 y 5.646.101. Los materiales específicos de las composiciones blanqueadoras se ilustran en detalle con posterioridad.

ES 2 319 470 T3

Si los materiales adyuvantes de limpieza no son compatibles con la(s) variante(s) de proteasa(s) en las composiciones blanqueadoras, entonces se pueden usar, si es apropiado, métodos adecuados para mantener los materiales adyuvantes de limpieza y la(s) variante(s) de proteasa(s) separados (no en contacto unos con otros) hasta la combinación de los dos componentes. Los métodos adecuados pueden ser cualquier método conocido en la técnica, como cápsulas de gelatina, encapsulación, comprimidos, separación física. etc.

Preferentemente, se incluye una cantidad eficaz de una o más variantes de proteasas anteriormente descritas en composiciones útiles para limpiar una diversidad de superficies que necesitan la supresión de manchas proteínicas. Estas composiciones blanqueadoras incluyen composiciones detergentes para limpiar superficies duras, sin límite en la forma (por ejemplo, líquido, granular, pasta, espuma, pulverización, etc.); composiciones detergentes para limpiar telas, sin límite en la forma (por ejemplo, granular, líquida, formulaciones de barras, etc.); composiciones lavavajillas (sin límite en la forma y que incluyen lavavajillas automáticos granulares y líquidos); composiciones blanqueadoras orales, sin límite en la forma (por ejemplo, dentífrico, pasta de dientes y formulaciones de enjuague bucal) y composiciones blanqueadoras de dentaduras, sin límite en la forma (por ejemplo, líquido, pastilla).

Las composiciones blanqueadoras de telas de la presente invención están destinadas principalmente a ser usadas en el ciclo de lavado de una máquina lavadora; sin embargo, pueden estar contemplados otros usos, como producto de pretratamiento para telas con suciedad intensa o un producto de remojo; el uso no está limitado necesariamente al contexto de máquinas lavadoras, y las composiciones de la presente invención pueden ser usadas solas o en combinación con composiciones compatibles de lavado a mano.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, “cantidad eficaz de variante de proteasa” se refiere a la cantidad de variante de proteasa anteriormente descrita necesaria para conseguir la actividad enzimática necesaria en la composición blanqueadora específica. Estas cantidades eficaces se determinan fácilmente por un experto ordinario en la técnica y están basadas en muchos factores, como la variante particular usada, la aplicación de limpieza, la composición específica de la composición blanqueadora y si se requiere una composición líquida o seca (por ejemplo, granular, barra) y similares.

Preferentemente, las composiciones blanqueadoras comprenden de aproximadamente 0,0001%, preferentemente desde aproximadamente 0,001%, más preferentemente desde aproximadamente 0,01% en peso de las composiciones blanqueadoras de una o más variantes de proteasas de la presente invención, hasta aproximadamente 10%, preferentemente hasta aproximadamente 1%, más preferentemente hasta a aproximadamente 0,1%. También preferentemente, la variante de proteasa de la presente invención está presente en las composiciones en una cantidad suficiente para proporcionar una relación de mg de proteasa activa por 100 gramos de composición para ppm teóricas disponibles de O₂ (“AvO₂”) de cualquier peroxiácido en el líquido de lavado, denominado en la presente memoria descriptiva la relación de enzima a blanqueador (relación E/B) que varía en el intervalo de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 20:1. Se pueden emplear diversos ejemplos de varias composiciones blanqueadoras en las que las que pueden ser empleadas las variantes de proteasas de la presente invención como se expone en detalle con posterioridad. También, las composiciones blanqueadoras pueden incluir de aproximadamente 1% a aproximadamente 99,9% en peso de la composición de los materiales adyuvantes de limpieza.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, “composiciones blanqueadoras que no son para telas” incluyen composiciones blanqueadoras de superficies duras, composiciones detergentes lavavajillas, composiciones blanqueadoras orales, composiciones blanqueadoras de dentaduras y composiciones de limpieza personal.

Cuando las composiciones de limpieza de la presente invención son formuladas como composiciones adecuadas para ser usadas en un método de lavado en una máquina de lavandería, las composiciones de la presente invención contienen preferentemente tanto un tensioactivo como un compuesto mejorador de la detergencia y adicionalmente uno o más materiales adyuvantes de limpieza, seleccionados preferentemente entre compuestos polímeros orgánicos, agentes blanqueadores, enzimas adicionales, supresores de la espuma, dispersantes, dispersantes de cal-jabón, agentes suspensores de la suciedad y anti-redepósito e inhibidores de la corrosión. Las composiciones de lavandería pueden contener también agentes suavizantes, como materiales adyuvantes de limpieza adicionales.

Las composiciones de la presente invención pueden ser usadas también como productos aditivos de detergentes en forma sólida o líquida. Estos productos aditivos están destinados a complementar o mejorar el rendimiento de las composiciones detergentes convencionales y pueden ser añadidos en cualquier fase del procedimiento de limpieza.

Cuando son formuladas como composiciones para ser usadas en métodos de lavado a mano de vajillas, las composiciones de la invención contienen preferentemente un tensioactivo y preferentemente otros materiales adyuvantes seleccionados entre compuestos polímeros orgánicos, agentes para mejorar la formación de espuma, iones de metales del grupo II, disolventes, hidrotropos y enzimas adicionales.

Si es necesario, la densidad de las composiciones detergentes de lavandería de la presente invención varía en el intervalo de 400 a 1.200 g/litro, preferentemente 500 a 950 g/litro de composición medida a 20°C.

La forma “compacta” de las composiciones blanqueadoras de la presente invención se refleja mejor mediante la densidad y, en términos de composición, mediante la cantidad de sal de material de carga inorgánico; las sales de materiales de carga inorgánicos son ingredientes convencionales en las composiciones detergentes en forma de

ES 2 319 470 T3

polvo; en las composiciones detergentes convencionales, las sales de materiales de carga están presentes en cantidades sustanciales, normalmente 17-35% en peso de la composición total. En las composiciones compactas, la sal de material de carga está presente en cantidades que no sobrepasan un 15% de la composición total, preferentemente no sobrepasan un 10%, lo más preferentemente no sobrepasan un 5% en peso de la composición. Las sales de materiales de carga inorgánicos, como se conciben en las presentes composiciones, se seleccionan a partir de las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos de sulfatos y cloruros. Una sal de material de carga preferida es sulfato de sodio.

Las composiciones blanqueadoras líquidas según la presente invención pueden estar también en una “forma concentrada”, en este caso, las composiciones blanqueadoras líquidas según la presente invención contendrán una cantidad inferior de agua en comparación con los detergentes líquidos convencionales. Normalmente, el contenido de agua de la composición blanqueadora líquida concentrada es preferentemente menor que 40%, más preferentemente menor que 30%, lo más preferentemente menor que 20% en peso de la composición blanqueadora.

15 *Materiales adyuvantes de limpieza*

Sistema tensioactivo - Los tensioactivos detergentes incluidos en las composiciones blanqueadoras completamente formuladas suministradas por la presente invención comprenden al menos 0,01% preferentemente al menos aproximadamente 0,1%, más preferentemente al menos aproximadamente 0,5%, lo más preferentemente al menos aproximadamente 1% hasta aproximadamente 60%, más preferentemente hasta aproximadamente 35%, lo más preferentemente hasta 30% en peso de composición blanqueadora, dependiendo de los tensioactivos particulares usados y los efectos deseados.

El tensioactivo detergente puede ser no iónico, aniónico, anfótero, de iones híbridos, catiónico, ni iónico semipolar y sus mezclas, de los que son ejemplos no limitativos los descritos en las patentes de EE.UU. n° 5.707.950 y 5.576.282. Las composiciones detergentes y blanqueadoras preferidas comprende tensioactivos detergentes aniónicos o mezclas de tensioactivos aniónicos con otros tensioactivos, especialmente tensioactivos no iónicos.

Ejemplos no limitativos de tensioactivos útiles en la presente invención incluyen los alquil C₁₁-C₁₈-benceno-sulfonatos y alquil-sulfatos primarios, secundarios y al azar, los alquil C₁₀-C₁₈-alcoxi-sulfatos, los alquil C₁₀-C₁₈-poliglicósidos y sus correspondientes poliglicósidos sulfatados, ésteres de ácidos grasos alfa-sulfonados de C₁₂-C₁₈, alquil C₁₂-C₁₈- y alquil-fenol-alcoxilatos (especialmente etoxilatos y etoxi/propoxi), betaínas de C₁₂-C₁₈ y sulfobetaínas (“sultaínas”), óxidos de aminas de C₁₀-C₁₈ y similares. Otros tensioactivos convencionales útiles se citan en textos estándar.

El tensioactivo es formulado preferentemente para que sea compatible con los componentes enzimáticos presentes en la composición. En composiciones líquidas o de gel, el tensioactivo es formulado lo más preferentemente de forma que favorezca o al menos no degrade la estabilidad de cualquier enzima en estas composiciones.

Tensioactivos no iónicos - Los condensados de polietileno, polipropileno y poli(óxido de butileno) y alquil-fenoles son adecuados para ser usados como el tensioactivo no iónico de los sistemas tensioactivos de la presente invención, siendo preferidos los condensados de poli(óxido de etileno). Los tensioactivos no iónicos disponibles en el comercio de este tipo incluyen Igepal® CO-630, comercializado por la empresa GAF Corporation y Triton® X-45, X-114, X-100 y X-102, todos comercializados por la empresa Rohm & Haas Company. Estos tensioactivos son comúnmente denominados alcoxilatos de alquilfenol (por ejemplo, etoxilatos de alquil-fenol).

Los productos de condensación de alcoholes alifáticos primarios y secundarios con aproximadamente 1 a aproximadamente 25 moles de óxido de etileno son adecuados para ser usados como el tensioactivo no iónico de los sistemas tensioactivos no iónicos de la presente invención. Ejemplos de tensioactivos no iónicos disponibles en el comercio de este tipo incluyen Tergitol® 15-S-9 (El producto de condensación de un alcohol lineal de C₁₁-C₁₅ con 9 moles de óxido de etileno), Tegitol® 24-L-6 NMW (el producto de condensación de un alcohol de C₁₂-C₁₄ con 6 moles de óxido de etileno, con una estrecha distribución de pesos moleculares), ambos comercializados por la empresa Union Carbide Corporation; Neodol® 45-9 (el producto de condensación de un alcohol lineal C₁₄-C₁₅ con 9 moles de óxido de etileno), Neodol® 23-3 (el producto de condensación de un alcohol lineal de C₁₂-C₁₃ con 3,0 moles de óxido de etileno), Neodol® 45-7 (el producto de condensación de un alcohol lineal de C₁₄-C₁₅ con 7 moles de óxido de etileno), Neodol® 45-5 (el producto de condensación de un alcohol lineal de C₁₄-C₁₅ con 5 moles de óxido de etileno), comercializado por la empresa Shell Chemical Company, Kyro® EOB (El producto de condensación de un alcohol de C₁₃-C₁₅ con 9 moles de óxido de etileno), comercializado por la empresa The Procter & Gamble Company y Genapol LA O3O o O5O (el producto de condensación de un alcohol de C₁₂-C₁₄ con 3 o 5 moles de óxido de etileno) comercializado por la empresa Hoechst. El intervalo preferido de valores de HLB (balance hidrófilo-lipófilo) en estos productos es de 8-11 y lo más preferido de 8-10.

También son útiles como el tensioactivo no iónico de los sistemas tensioactivos de la presente invención los alquil-polisacáridos descritos en la patente de EE.UU. n° 4.565.647.

Los alquil-poliglicósidos preferidos tienen la fórmula R²O(C_nH_{2n}O)_t(glicocilo)_x en la que R² se selecciona entre el grupo que consiste en alquilo, alquilfenilo, hidroxialquilo, hidroxialquilfenilo y mezcla de estos en los que los grupos alquilo contienen de aproximadamente 10 a aproximadamente 18, preferentemente de aproximadamente 12 a aproximadamente 14 átomos de carbono; n es 2 o 3, preferentemente 2; t es de 0 a aproximadamente 10, preferentemente 0;

ES 2 319 470 T3

y x es de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 10, preferentemente de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 3, lo más preferentemente de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 2,7.

5 Los productos de condensación de óxido de etileno con una base hidrófoba formada mediante la condensación de óxido de propileno con propilenglicol son también adecuados para ser usados como los sistemas tensioactivos no iónicos adicionales de la presente invención. Ejemplos de compuestos de este tipo incluyen algunos de los tensioactivos disponibles en el comercio Plurafac® LF404 y Pluronic®, comercializados por la empresa BASF.

10 Son también adecuados para ser usados como el tensioactivo ni iónico del sistema tensioactivo no iónico de la presente invención los productos de condensación de óxido de etileno con el producto que resulta de la reacción de óxido de propileno y etilendiamina. Ejemplo de este tipo de tensioactivo no iónico incluyen algunos de los compuestos Tetric® disponibles en el comercio, comercializados por la empresa BASF.

15 Son preferidos para ser usados como el tensioactivo no iónico de los sistemas tensioactivos de la presente invención los condensados de poli(óxido de etileno) y alquil-fenoles, productos de condensación de alcoholes alifáticos primarios y secundarios con aproximadamente 1 a aproximadamente 25 moles de óxido de etileno, alquil-polisacáridos y sus mezclas. Los más preferidos son etoxilatos de alquil C₈-C₁₄-fenol que tienen de 3 a 15 grupos etoxi y etoxilatos de alcoholes de C₈-C₁₈ (preferentemente C₁₀ de media) que tienen de 2 a 10 grupos etoxi, y sus mezclas.

20 Los tensioactivos no iónicos altamente preferidos son tensioactivos de amidas de ácidos grasos polihidroxilados de fórmula R²-C(O)-N(R¹)-Z en la que R¹ es H o R¹ es hidrocarbilo C₁₋₄, 2-hidroxi-etilo, 2-hidroxi-propilo o una mezcla de los mismos, R² es hidrocarbilo C₅₋₃₁ y Z es un polihidroxi-hidrocarbilo que tiene una cadena de hidrocarbilo lineal con al menos 3 grupos hidroxilo directamente conectados a la cadena o un derivado alcoxilado de los mismos. Preferentemente, R¹ es metilo R² es un alquilo C₁₁₋₁₅ lineal o alquilo C₁₆₋₁₈ o una cadena de alqueno como coco-
25 alquilo o sus mezclas y Z deriva de un azúcar reductor como glucosa, fructosa, maltosa, lactosa, en una reacción de afinación reductora.

30 *Tensioactivos aniónicos* - Los tensioactivos aniónicos adecuados para ser usados son alquilo lineal-benceno-sulfonato, tensioactivos de sulfonatos de ésteres alquílicos que incluyen ésteres lineales de ácidos carboxílicos de C₈-C₂₀ (es decir, ácidos grasos) que son sulfonados con SO₃ gaseoso según la publicación "The Journal of The American Oil Chemists Society", 52 (1975), pag. 323-329. Los materiales de partida adecuados incluirían sustancias grasas naturales como las derivadas de sebo, aceite de palma etc.

35 El tensioactivo de sulfonato de éster alquílico preferido, especialmente para aplicaciones de lavandería, comprende tensioactivos de sulfonatos de ésteres alquílicos de fórmula estructural:



40 En la que R³ es un hidrocarbilo C₈-C₂₀, preferentemente un alquilo o una combinación de los mismos, R⁴ es un hidrocarbilo C₁-C₆, preferentemente un alquilo, o una combinación de los mismos y M es un catión que forma una sal soluble en agua con el sulfonato de éster alquílico. Los cationes formadores de sales adecuadas incluyen metales como sodio, potasio y litio y cationes de amonio sustituido o sin sustituir, como monoetanolamina, dietanolamina y trietanolamina. Preferentemente, R³ es alquilo C₁₀-C₁₆ y R⁴ es metilo, etilo o isopropilo. Son especialmente preferidos los sulfonatos de ésteres metílicos en los que R³ es alquilo C₁₀-C₁₆.

55 Otros tensioactivos aniónicos adecuados incluyen los tensioactivos de alquil-sulfato que son sales o ácidos solubles en agua de fórmula ROSO₃M en la que R es preferentemente un hidrocarbilo C₁₀-C₂₄, preferentemente un alquilo o hidroxialquilo que tiene un componente de alquilo C₁₀-C₂₀, más preferentemente un alquilo o hidroxialquilo C₁₂-C₁₈ y M es H o un catión. Normalmente, las cadenas alquílicas de C₁₂-C₁₆ son preferidas para temperaturas de lavado inferiores (por ejemplo, por debajo de aproximadamente 50°C) y las cadenas de alquilo C₁₆₋₁₈ son preferidas para
60 temperaturas de lavado superiores (por ejemplo, por encima de aproximadamente 50°C).

65 Otros tensioactivos aniónicos útiles para los fines de detergencia incluyen sales de jabón, alcanosulfonatos primarios o secundarios de C₈-C₂₂, olefinos-sulfonatos de C₈-C₂₄, ácidos policarboxílicos sulfonados preparados mediante sulfonación del producto pirrolizado de citratos de metales alcalinotérreos como se describe, por ejemplo, en la memoria descriptiva de la patente Británica n° 1.082.179, alquil C₈-C₂₄-poliglicoletersulfatos (que contienen hasta 10 moles de óxido de etileno); alquil-glicerol-sulfonatos, acil-glicerol-sulfonatos grasos, oleil-glicerol-sulfatos grasos, alquil-fenol-etileno-óxido-éter-sulfatos, parafino-sulfonatos, alquil-fosfatos isetionatos como los acil-isetionatos, N-acil-tauratos, alquil-succinamatos y sulfosuccinatos, monoésteres de sulfosuccinatos (especialmente monoésteres de

ES 2 319 470 T3

C₁₂-C₁₈ saturados e insaturados) y diésteres de sulfosuccinatos (especialmente diésteres de C₆-C₁₂ saturados e insaturados), acil-sarcositanos, sulfatos o alquil-polisacáridos como los sulfatos de alquil-polglicósido (siendo descritos con posterioridad los compuestos no sulfatados y no iónicos), alquil primario ramificado-sulfatos y alquil-polietoxi-carboxilatos como los de fórmula RO(CH₂CH₂O)_k-CH₂COO-M⁺ en la que R es un alquilo C₈-C₂₂, k es un número entero de 1 a 10 y M es un catión formador de sales solubles. Los ácidos resínicos y ácidos resínicos hidrogenados son también adecuados como colofonia, colofonia hidrogenada y ácidos resínicos y ácidos resínicos hidrogenados presentes o derivados de aceite de sebo.

Ejemplos adicionales se describen en la publicación "Surface Active Agents and Detergents" (Vol. I) y II de Schwartz, Perry y Berch). Una variedad de estos tensioactivos se describe también de forma general en la patente de EEUU 3.929.678, otorgada el 30 de diciembre de 1975 a Laughlin *et al.* En la columna 23, línea 58 a columna 29, línea 23.

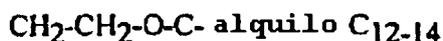
Los tensioactivos aniónicos altamente preferidos incluyen tensioactivos de alquil-sulfato alcoxilado que en la presente memoria descriptiva son sales o ácidos solubles en agua de fórmula RO(A)_mSO₃M en la que R es un grupo alquilo o hidroxialquilo de C₁₀-C₂₄ sin sustituir que tiene un componente de alquilo C₁₀-C₂₄, preferentemente un alquilo o hidroxialquilo de C₁₂-C₂₀, más preferentemente alquilo o hidroxialquilo de C₁₂-C₁₈, A es una unidad etoxi o propoxi, m es mayor que cero, normalmente entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 6, más preferentemente entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 3 y M es H o un catión que puede ser, por ejemplo, un catión metálico (por ejemplo, sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, etc.), un catión de amonio o amonio sustituido. Los alquil-sulfatos etoxilados así como los alquil-sulfatos propoxilados están contemplados en la presente invención. Ejemplos específicos de cationes de amonios sustituido incluyen cationes de metil-, dimetil- o trimetil-amonio y cationes de amonio cuaternario como cationes de tetrametil-amonio y dimetil-piperidinio, y los derivados de alquilaminas como etilamina, dietilamina, trietilamina, sus mezclas y similares. Ejemplos de tensioactivos son alquil C₁₂-C₁₈-polietoxilato(1.0)-sulfato (C₁₂-C₁₈E(1.0)M), alquil C₁₂-C₁₈-polietoxilato (2.25)-sulfato (C₁₂-C₁₈E(2.25)M), alquil C₁₂-C₁₈-polietoxilato (3.0)-sulfato(C₁₂-C₁₈E(3.0)M) y alquil C₁₂-C₁₈-polietoxilato(4.0)-sulfato (C₁₂-C₁₈E(4.0)M) en las que M se selecciona convenientemente entre sodio y potasio.

Cuando se incluyen en la presente memoria descriptiva, las composiciones blanqueadoras de la presente invención comprenden normalmente de aproximadamente 1%, preferentemente de 3% a aproximadamente 40%, preferentemente aproximadamente 20% en peso de estos tensioactivos aniónicos.

Tensioactivos catiónicos - Los tensioactivos detergentes catiónicos adecuados para ser usados en las composiciones blanqueadoras de la presente invención son los que tienen un grupo hidrocarbilo de cadena larga. Ejemplos de estos tensioactivos catiónicos incluyen los tensioactivos de amonio como halogenuros de alquiltrimetilamonio y los tensioactivos que tienen la fórmula [R²(OR³)_y][R⁴(OR³)_y]₂R⁵N⁺X⁻ en la que R² es un grupo alquilo o alquil-bencilo que tiene de aproximadamente 8 a aproximadamente 18 átomos de carbono en la cadena de alquilo, cada R³ se selecciona entre el grupo que consiste en -CH₂CH₂-, -CH₂CH(CH₃)-, -CH₂CH(CH₂OH)-, -CH₂CH₂CH₂- y sus mezclas; cada R⁴ se selecciona entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₄, hidroxialquilo C₁-C₄, estructuras de anillos de bencilo formadas uniendo los dos grupos R⁴, -CH₂CHOH-CHOHCOR⁶CHOHCH₂OH en la que R⁶ es cualquier hexosa o polímero de hexosa que tiene un peso molecular menor que 1000 e hidrógeno cuando y no es cero; R⁵ es igual que R⁴ o es una cadena de alquilo en la que el número total de átomos de carbono de R²+R⁵ no es de más de aproximadamente 18; cada y es de cero aproximadamente 10 y la suma de los valores de y es de cero a aproximadamente 15 y X es cualquier anión compatible.

Los tensioactivos catiónicos altamente preferidos son los compuestos de amonio cuaternario solubles en agua útiles en la presente invención que tienen la fórmula (i): R₁R₂R₃R₄N⁺X⁻ en la que R₁ es alquilo C₈-C₁₆, cada uno de R², R³ y R⁴ es independientemente alquilo C₁-C₄, hidroxi-alquilo C₁-C₄, bencilo y -(C₂H₄₀)_xH en la que x tiene un valor de 2 a 5 y X es un anión. No más de uno de R₂, R₃ o R₄ debe ser bencilo. La longitud preferida de la cadena alquílica para R₁ es C₁₂-C₁₅, particularmente cuando el grupo alquilo es una mezcla de longitudes de cadena derivada de grasa de coco o nuez de palma o deriva por vía sintética de una olefina constituida por síntesis de alcoholes OXO. Los grupos preferidos para R₂, R₃ y R₄ son grupos metilo e hidroxietilo y el anión X se puede seleccionar entre iones de haluro, metasulfato, acetato y fosfato.

Ejemplos de compuestos de amonio cuaternario adecuados de fórmula (i) para ser usados en la presente invención incluyen, ero sin limitación: cloruro o bromuro de coco-trimetil-amonio, cloruro o bromuro de coco-metil-dihidroxietil-amonio; cloruro de decil-trietil-amonio; cloruro o bromuro de decil-dimetil-hidroxietil-amonio, cloruro o bromuro de dimetil-hidroxietil-amonio C₁₂₋₁₅; cloruro o bromuro de coco-dimetil-hidroxietil-amonio, metil-sulfato de miristil-trimetil-amonio; cloruro o bromuro de laurel-dimetil-bencil-amonio; cloruro o bromuro de laurel-dimetil-(etenoxi)₄-amonio; ésteres de colina (compuestos de fórmula (i))



||

O

en la que R₁ es y R₂, R₃ y R₄ son metilo) y di-alquil-imidazolinias [(i)].

ES 2 319 470 T3

Otros tensioactivos catiónicos útiles en la presente invención se describen también en la patente de EE.UU. 4.228.044 de Cambre, otorgada el 14 de octubre de 1980 y en la solicitud de patente Europea EP 000.224.

Cuando se incluyen en las mismas, las composiciones blanqueadoras de la presente invención comprenden normalmente desde aproximadamente 0,2%, preferentemente desde aproximadamente 1% hasta aproximadamente 25%, preferentemente hasta aproximadamente 8% en peso de estos tensioactivos catiónicos.

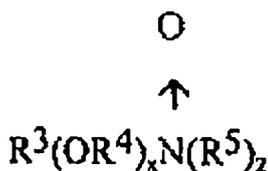
Tensioactivos anfóliticos - Los tensioactivos anfóliticos, de los que se describen ejemplos en la patente de EE.UU. n° 3.929.678, son también adecuados para ser usados en las composiciones blanqueadoras de la presente invención.

Cuando se incluyen en las mismas, las composiciones blanqueadoras de la presente invención comprenden normalmente desde aproximadamente 0,2%, preferentemente desde aproximadamente 1% hasta aproximadamente 15%, preferentemente hasta aproximadamente 10% en peso de estos tensioactivos anfóliticos.

Tensioactivos de iones híbridos - Los tensioactivos de iones híbridos, de los que se describen ejemplos en la patente de EE.UU. n° 3.929.678, son también adecuados para ser usados en composiciones blanqueadoras.

Cuando son incluidos, las composiciones blanqueadoras de la presente invención comprenden normalmente desde aproximadamente 0,2%, preferentemente desde aproximadamente 1% hasta aproximadamente 15%, preferentemente hasta 10% en peso de estos tensioactivos de iones híbridos.

Tensioactivos no iónicos semipolares - Los tensioactivos no iónicos semipolares son una categoría especial de tensioactivos no iónicos que incluyen óxidos de aminas solubles en agua que tienen la fórmula:



en la que R³ es un grupo alquilo, hidroxialquilo o alquil-fenilo o sus mezclas, que contiene desde aproximadamente 8 hasta aproximadamente 22 átomos de carbono; R⁴ es un grupo alquilenol o hidroxialquilenol que contiene desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 3 átomos de carbono o sus mezclas; x es de 0 a aproximadamente 3; y cada R⁵ es un grupo alquilo o hidroxialquilo que contiene desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 3 átomos de carbono o un grupo poli(óxido de etileno) que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 grupos de óxido de etileno (los grupos R⁵ pueden estar unidos unos a otros, por ejemplo, a través de un átomo de oxígeno o nitrógeno, para formar una estructura de anillo); óxidos de fosfinas solubles en agua que contienen un resto alquilo de aproximadamente 10 a aproximadamente 18 átomos de carbono y 2 restos seleccionados entre el grupo que consiste en grupos alquilo y grupos hidroxialquilo que contienen de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 átomos de carbono; y sulfóxidos solubles en agua que contienen un resto alquilo de aproximadamente 10 a aproximadamente 18 átomos de carbono y un resto seleccionado entre el grupo que consiste en restos alquilo e hidroxialquilo de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 átomos de carbono.

Los tensioactivos de óxidos de aminas incluyen en particular óxidos de alquil C₁₀-C₁₈-dimetil-amina y óxidos de alcoxi C₈-C₁₂-etil-dihidroxi-etil-amina.

Cuando son incluidos, las composiciones blanqueadoras de la presente invención comprenden normalmente desde aproximadamente 0,2%, preferentemente desde aproximadamente 1% hasta aproximadamente 15%, preferentemente hasta aproximadamente 10% en peso de estos tensioactivos no iónicos semi-polares.

Co-tensioactivos - Las composiciones blanqueadoras de la presente invención pueden comprender adicionalmente un cotensioactivo seleccionado entre el grupo de aminas primarias o terciarias. Las aminas primarias adecuadas para ser usadas en la presente invención incluyen aminas según la fórmula R₁NH₂ en la que R₁ es una cadena de alquilo C₆-C₁₂, preferentemente C₆-C₁₀ o R₄X(CH₂)_n, X es -O-, -C(O)NH- o -NH-, R₄ es una cadena de alquilo C₆-C₁₂, n es entre 1 y 5, preferentemente 3. Las cadenas alquílicas de R₁ pueden ser lineales o ramificadas y pueden estar interrumpidas con hasta 12, preferentemente menos de 5 restos de óxido de etileno.

Las aminas preferidas según la fórmula anterior de la presente memoria descriptiva son n-alquil-aminas. Las aminas adecuadas para ser usadas en la presente invención se pueden seleccionar entre 1-hexilamina, 1-octilamina, 1-decilamina y laurilamina. Otras aminas primarias preferidas incluyen oxipropilamina C₈-C₁₀, octiloxipropilamina, 2-etilhexil-oxipropilamina, laurel-amido-propilamina y amido-propilamina. Las aminas más preferidas para ser usadas en las composiciones de la presente invención son 1-hexilamina, 1-octilamina, 1-decilamina o 1-dodecilamina. Son especialmente deseables n-dodecildimetilamina y bishidroxietilcocoalquilamina y oleilamina siete veces etoxilada, buril-amido-propilamina y cocoamido-propilamina.

ES 2 319 470 T3

5 *LFNI* - Los tensioactivos particularmente preferidos en las composiciones de lavavajillas automáticos (ADD) de la presente invención son tensioactivos no iónicos con baja formación de espuma (LFNI) que se describen en las patentes de EE.UU. n° 5705.464 y 5.710.115. Los LFNI pueden estar presentes en cantidades de 0,01% a aproximadamente 10% en peso, preferentemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% y lo más preferentemente de aproximadamente 0,25% a aproximadamente 4%. Los LFNI son más normalmente usados en ADD debido a la acción mejorada de formación de láminas acuosas (especialmente a partir de vidrio) que confieren al producto de ADD. Abarcan también los materiales polímeros que no son de siliconas y no son de fosfatos, adicionalmente ilustrados con posterioridad, que se conoce que suprimen la espuma de las suciedades de alimentos encontradas en los lavavajillas automáticos.

10 Los LFNI preferidos incluyen tensioactivos alcoxilados no iónicos, especialmente etoxilatos derivados de alcoholes primarios, y las combinaciones de los mismos con tensioactivos más sofisticados, como los polímeros de bloques invertidos de polioxipropileno/polioxietileno/polioxipropileno (PO/EO/PO) como se describe en las patentes de EE.UU. n° 5.705.464 y 5.710.115.

15 Los LFNI que pueden ser usados también incluyen los tensioactivos no iónicos POLY-TERGENT® SLF-18 de la empresa Olin Corp., y cualquier LFNI biodegradable que tenga las propiedades de puntos de fusión expuestas con anterioridad.

20 Estos y otros tensioactivos no iónicos son bien conocidos en la técnica, y se describen más en detalle en la enciclopedia Kirk Othmer's Enciclopedia of Chemical Technology, 3rd ED., Vol. 22, pag. 360-369, "Surfactants and Detergent Systems".

25 *Agentes blanqueadores* - Las composiciones de la presente invención comprenden opcionalmente, además del sistema blanqueador anteriormente descrito, agentes blanqueadores opcionales como blanqueadores de cloro (aunque menos preferidos para composiciones que comprenden enzimas), de los que son conocidos ejemplos en la técnica, e incluyen dicloroisocianurato de sodio (NaDCC) y catalizadores de blanqueo. Cuando están presentes, estos otros agentes blanqueadores están normalmente a niveles de aproximadamente 1%, preferentemente de aproximadamente 5% a aproximadamente 30%, preferentemente a aproximadamente 20% por peso de la composición.

30 (a) *Peróxidos orgánicos, especialmente peróxidos de diacilo* - Estos son ampliamente ilustrados en la enciclopedia de Kirk Othmer, Enciclopedia of Chemical Technology, Vol. 17, John Wiley and Sons, 1982 en las páginas 27-90 y especialmente en las páginas 63-72. Si se usa un peróxido de diacilo, será preferentemente uno que ejerza una influencia adversa mínima sobre la formación de manchas/formación de películas.

35 (b) *Catalizadores de blanqueo que contienen metales* - Las composiciones y métodos de la presente invención pueden utilizar catalizadores de blanqueo que contienen metales que son eficaces para ser usados en composiciones blanqueadoras. Son preferidos los catalizadores de blanqueo que contienen manganeso y cobalto.

40 Un tipo de catalizador de blanqueo que contiene metales es un sistema catalizador que comprende un catión de metal de transición de actividad catalítica blanqueadora definida, como cationes de cobre, hierro, titanio, rutenio, Wolframio, molibdeno o manganeso, un catión metálico auxiliar que tenga poca o ninguna actividad catalítica blanqueadora, como cationes de zinc o aluminio y un secuestrante que tenga constantes de estabilidad definidas para los cationes metálicos catalíticos y auxiliares, particularmente ácido etilendiaminotetraacético, etilendiaminotetra(ácido metileno-fosfónico) y sus sales solubles en agua. Estos catalizadores se describen en el documento US 4.430.243 de Bragg, otorgado el 2 de febrero de 1982.

45 *Complejos metálicos de manganeso* - Si se desea, las composiciones de la presente invención pueden ser catalizadas por medio de un compuesto de manganeso. Estos compuestos y los niveles de uso son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, los catalizadores basados en manganeso descritos en las patentes de EE.UU. n° 5.576.282, 5.246.621, 5.244.594, 5.194.416 y 5.114.606 y en las publicaciones de solicitudes de patentes europeas n° 549.271 A1, 549.272 A1, 544.440 A2 y 544.490 A1. Ejemplos preferidos de estos catalizadores incluyen $Mn^{IV}_2(u-O)_3(1,4,7-trimetil-1,4,7-triazacilononano)_2(PF_6)_2$, $Mn^{III}_2(u-O)_1(u-OAc)_2(1,4,7-trimetil-1,4,7-triazacilononano)_2(ClO_4)_2$, $Mn^{IV}_4(u-O)_6(1,4,7-triazacilononano)_4(ClO_4)_4$, $Mn^{III}Mn^{IV}_4(u-O)_1(u-OAc)_2(1,4,7-trimetil-1,4,7-triazacilononano)_2(ClO_4)_3$, $Mn^{IV}(1,4,7-trimetil-1,4,7-triazacilononano)-(OCH_3)_3(PF_6)$ y sus mezclas. Otros catalizadores de blanqueo basados en metales incluyen los descritos en las patentes de EE.UU. n° 4.430.243 y US 5.114.611. El uso de manganeso con diversos ligandos complejos para mejorar el blanqueo se describe también en las siguientes patentes de EE.UU. n° 4.728.455, 5.284.944, 5.246.612, 5.256.779, 5.280.117, 5.274.147, 5.153.161 y 5.227.084.

60 *Complejos metálicos de cobalto* - Los catalizadores de blanqueo de cobalto útiles en la presente invención son conocidos y se describen, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. n° 5.597.936, 5.595.967 y 5.703.030; y en la publicación M.L. Tobe "Base Hydrolysis of Transition-Metal Complex", *Adv. Inorg. Bioinorg. Mech.*, (1983), 2, páginas 1-94. El catalizador de cobalto más preferido útil en la presente invención son las sales de pentamino-acetato de cobalto que tienen la fórmula $[Co(NH_3)_5OAc]T_y$, en las que "OAc" representa un resto acetato y "T_y" es un anión, y especialmente pentamino-acetato-cloruro de cobalto, $[Co(NH_3)_5OAc]Cl_2$; así como $[Co(NH_3)_5OAc](OAc)_2$; $[Co(NH_3)_5OAc](PF_6)_2$, $[Co(NH_3)_5OAc](SO_4)$, $[Co(NH_3)_5OAc](BF_4)_2$ y $[Co(NH_3)_5OAc](NO_3)_2$ (en la presente memoria descriptiva "PAC").

ES 2 319 470 T3

Estos catalizadores de cobalto se preparan fácilmente mediante procedimientos conocidos, como se expone, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. n° 5.597.936, 5.595.967 y 5.703.030 y en el artículo de Tobe y las referencias citadas en el mismo y en la patente de EE.UU. 4.810.410; *J. Chem. Ed.*(1989) **66** (12), 1043-45; *The Synthesis and Characterization of Inorganic Compounds*, W.L. Jolly (Prentice-Hall; 1970), páginas 461-3, *Inorg. Chem* **18**, 1497-1502 (1979); *Inorg. Chem*, **21**, 2881-2885 (1982); *Inorg. Chem.*, **18** 2023-2025 (1979); *Inorg. Synthesis*, 173-176 (1960); y *Journal of Physical Chemistry*, **56**, 22-25 (1952).

Complejos de metales de transición de ligandos rígidos macropolicíclicos - Las composiciones de la presente invención pueden incluir también adecuadamente como catalizador de blanqueo un complejo de metal de transición de un ligando rígido macropolicíclico. La expresión "ligando rígido macropolicíclico" se abrevia a veces como "MRL" en la exposición que sigue. La cantidad usada es una cantidad catalíticamente eficaz, adecuadamente de aproximadamente 1 ppb o más, por ejemplo, hasta aproximadamente 99,9%, más normalmente de aproximadamente 0,001 ppm o más, preferentemente de aproximadamente 0,05 ppm a aproximadamente 500 ppm (en donde "ppb" indica partes por mil millones en peso y "ppm" indica partes por millón en peso).

Los metales de transición adecuados, por ejemplo, Mn, se ilustran con posterioridad. "macropolicíclico" indica un MRL que es tanto un macrociclo como un policiclo. "Policíclico" significa al menos bicíclico. El término "rígido", como se usa en la presente memoria descriptiva, incluye "que tiene una superestructura" y "trans-punteado". "rígido" ha sido definido como lo inverso restringido de flexibilidad: véase la publicación de D-H. Busch., *Chemical Reviews*, (1993), **93**, 847-860. Más particularmente, "rígido", como se usa en la presente memoria descriptiva, significa que el MRL debe ser claramente más rígido que un macrociclo ("macrociclo parental") que por lo demás es igual (teniendo el mismo tamaño de anillos y tipo y número de átomos en el anillo principal) pero que carece de una superestructura (especialmente restos conectores o preferentemente restos de puentes transversales) encontrados en los MRL. En la determinación de la rigidez comparativa de macrociclos con y sin superestructuras, el facultativo usará la forma libre, No la forma unida a metales) de los macrociclos. La rigidez es bien conocido que es útil para comparar macrociclos; las herramientas adecuadas para determinar, medir o comparar la rigidez incluyen métodos informáticos (véase, por ejemplo, Zimmer, *Chemical Reviews*, (1995) **95**(38), 9628-2648 or Hancock *et al.*, *Inorganica Chimica Acta* (1989)164-73-84).

Los MRL preferidos en la presente invención son de un tipo especial de ligando ultra-rígido que está transversalmente punteado. Un "puente transversal" está ilustrado de forma limitativa en 1.11 con posterioridad. En 1.11, el puente transversal es un resto -CH₂CH₂-. Conecta mediante un puente N1 y N8 en la estructura ilustrada. A modo de comparación un puente del "mismo lado", por ejemplo, si se introdujera uno a través de N1 y N12 en 1.11, no sería suficiente para constituir un "puente transversal" y como, consecuentemente, no sería preferido.

Los metales adecuados en los complejos de ligandos rígidos incluyen Mn(II), Mn(III), Mn(IV), Mn(V), Fe(II), Fe(III), Fe(IV), Co(I), Co(II), Co(III), Ni(I), Ni(II), Ni(III), Cu(I), Cu(II), Cu(III), Cr(II), Cr(III), Cr(IV), V(III), V(IV), V(V), Mo(IV), Mo(V), Mo(VI), W(IV), W(V), W(VI), Pd(II), Ru(II), Ru(III) y Ru(IV). Los metales de transición preferidos en el presente catalizador de blanqueo de metales de transición incluyen manganeso, hierro y cromo.

Más generalmente, los MRL (y los correspondientes catalizadores de metales de transición) en la presente invención comprenden adecuadamente:

(a) al menos un anillo principal de macrociclos que comprende cuatro o más heteroátomos; y

(b) una superestructura no metálica covalentemente unida capaz de aumentar la rigidez del macrociclo, preferentemente seleccionada entre

(i) una superestructura de puente como un resto conector;

(ii) una superestructura de puente transversal, como un resto conector de puente transversal; y

(iii) sus combinaciones.

El término "superestructura" se usa en la presente memoria descriptiva como se define en la bibliografía por Busch *et al.*, véase, por ejemplo los artículos de Busch en "Chemical Reviews".

Las superestructuras preferidas en la presente invención no solamente mejoran la rigidez del macrociclo parental, sino que favorecen también el plegado del macrociclo de forma de que se coordine a un metal en una hendidura. Las superestructuras adecuadas pueden ser considerablemente sencillas, por ejemplo, se puede usar un resto conector como cualquiera de los ilustrados en la Fig. 1 y Fig. 2 siguientes.

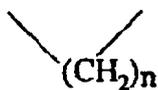


Fig. 1

en la que n es un número entero, por ejemplo de 2 a 8, preferentemente menos de 6, normalmente 2 a 4, o

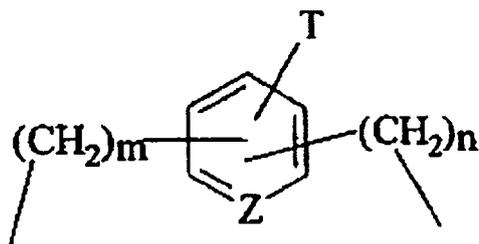


Fig. 2

en la que m y n son número enteros de aproximadamente 1 a 8, más preferentemente de 1 a 3; Z es N o CH y T es un sustituyente compatible, por ejemplo H, alquilo, trialkilamonio, halógeno, nitro, sulfonato o similar. El anillo aromático en 1.10 puede ser sustituido con un anillo saturado, en el que el átomo en Z que conecta en el anillo puede contener N, O, S o C.

Los MRL adecuados están adicionalmente ilustrados de forma no limitativa por el siguiente compuesto

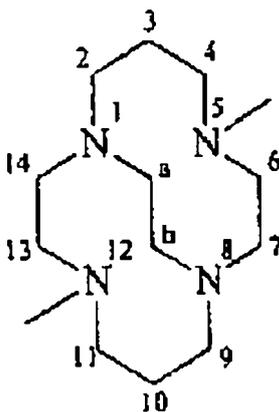


Fig. 3

Este es un MRL de acuerdo con la invención que es un derivado de ciclamo sustituido con metilo (todos los átomos de nitrógeno son terciarios), con un puente transversal y altamente preferido. Formalmente, el ligando se denomina 5,12-dimetil-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecano usando el sistema extendido de von Baeyer. Véase la publicación "A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds: Recommendations 1993" R. Panico, W.H. Powell y J-C Richer (Eds.) Blackwell Scientific Publications, Boston, 1993; véase especialmente la sección R-2.4.2.1.

Los catalizadores de blanqueo de metales de transición de ligandos rígidos macrocíclicos que son adecuados para ser usados en las composiciones de la invención pueden incluir en general compuestos conocidos que se adaptan a la definición de la presente memoria descriptiva así como, más preferentemente, cualquiera de un gran número de compuestos nuevos expresamente diseñados para los presentes usos de lavandería o limpieza, e ilustrados de forma no limitativa por cualquiera de los siguientes:

Dicloro-5,12-dimetil-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]-hexadecano-manganeso(II)

Hexafluorofosfato de diacuo-5,12-dimetil-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecano-manganeso(II)

Hexafluorofosfato de acuo-hidroxi-5,12-dimetil-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]-hexadecano-manganeso(III)

Tetrafluoroborato de diacuo-5,12-dimetil-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]-hexadecano-manganeso(II)

Hexafluorofosfato de dicloro-5,12-dimetil-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]-hexadecano-manganeso(III)

ES 2 319 470 T3

Dicloro-5,12-di-n-butyl-1,5,8,12-tetraazabicyclo-[6.6.2]-hexadecano-manganeso(II)

Dicloro-5,12-dibencil-1,5,8,12-tetraazabicyclo[6.6.2]-hexadecano-manganeso(II)

5 Dicloro-5-n-butyl-12-metil-1,5,8,12-tetraazabicyclo-[6.6.2]-hexadecano-manganeso(II)

Dicloro-5-n-octil-12-metil-1,5,8,12-tetraazabicyclo-[6.6.2]-hexadecano-manganeso(II)

10 Dicloro-5-n-butyl-12-metil-1,5,8,12-tetraazabicyclo-pri[6.6.2]-hexadecano-manganeso(II).

Como un aspecto particular, y no a modo de limitación, las composiciones y procedimientos de limpieza de la presente invención pueden ser ajustados para proporcionar del orden de al menos una parte por cien millones de la especie activa del catalizador de blanqueo en el medio de lavado acuoso, y preferentemente proporcionarán de aproximadamente 0,01 ppm a aproximadamente 25 ppm, más preferentemente de aproximadamente 0,05 ppm a aproximadamente 10 ppm y lo más preferentemente de aproximadamente 0,1 ppm a aproximadamente 5 ppm de la especie de catalizador de blanqueo en el líquido de lavado. Con el fin de obtener estos niveles en el líquido de lavado de un procedimiento de lavado automático, las composiciones típicas de la presente invención comprenderán desde aproximadamente 0,0005% a aproximadamente 0,2%, más preferentemente de aproximadamente 0,004% a aproximadamente 0,08% de catalizador de blanqueo, especialmente catalizadores de manganeso o cobalto por peso de las composiciones blanqueadoras.

(d) *Otros catalizadores de blanqueo* - Las composiciones de la presente invención pueden comprender uno o más de otros catalizadores de blanqueo. Los catalizadores de blanqueo preferidos son catalizadores de blanqueo de iones híbridos, que se describen en la patente de EE.UU. n° 5.576.282 (especialmente propano-sulfonato de 3-(3,4-dihidroisoquinolinio)). Otros catalizadores de blanqueo incluyen catalizadores de blanqueo catiónicos que se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.360.569, 5.442.066, 5.478.357, 5.370.826, 5.482.515, 5.550.256 y WO 95/13351, WO 95/13352 y WO 95/13353.

Enzimas detergentes opcionales - Las composiciones detergentes y blanqueadoras de la presente invención pueden contener también opcionalmente uno o más tipos de enzimas detergentes. Estas enzimas pueden incluir otras proteasas, amilasas, celulasas y lipasas. Estos materiales son conocidos en la técnica y están disponibles en el comercio bajo marcas registradas. Pueden ser incorporadas en las composiciones detergentes líquidas no acuosas de la presente invención en la forma de suspensiones, “aglomerados” o “inserciones”. Otro tipo adecuado de enzima comprenden las que están en forma de suspensiones de enzimas en tensioactivos no iónicos, por ejemplo, las enzimas comercializadas por la empresa Novo Nordisk bajo la marca registrada “SL” o las enzimas microencapsuladas comercializadas por la empresa Novo Nordisk bajo la marca registrada “LDP”. Las enzimas adecuadas y los niveles de uso se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.576.282, 5.705.464 y 5.710.115.

Las enzimas añadidas a las composiciones de la presente invención en la forma de inserciones de enzimas convencionales son especialmente preferidas para ser usados en la presente invención. El tamaño de estas inserciones variará generalmente en el intervalo de aproximadamente 100 a aproximadamente 1.000 micrómetros, más preferentemente de aproximadamente 200 a 800 micrómetros y estarán en suspensión en toda la fase del líquido no acuoso de la composición. Las inserciones en las composiciones de la presente invención, en comparación con otras formas de enzimas, se ha encontrado que exhiben una estabilidad enzimática especialmente deseable en términos de retención de la actividad enzimática a lo largo del tiempo. Por tanto, las composiciones que utilizan inserciones de enzimas es necesario que no contengan estabilizadores de enzimas convencionales como los que deben ser frecuentemente usados cuando se incorporan enzimas en detergentes líquidos acuosos.

Sin embargo, las enzimas añadidas a las composiciones de la presente invención pueden estar en la forma de granulados, preferentemente granulados en T.

“Enzima detergente”, como se usa en la presente memoria descriptiva, significa cualquier enzima que tenga un efecto limpiador, de supresión de manchas o de algún otro modo ventajoso en una composición detergente de lavandería de limpieza de superficies duras o de cuidado personal. Las enzimas detergentes preferidas son hidrolasas como proteasas, amilasas y lipasas. Las enzimas preferidas para fines de lavandería incluyen, pero sin limitación, proteasas, celulasas, lipasas y peroxidadas. Son altamente preferidas para lavavajillas automáticos las amilasas y/o proteasas, que incluyen tanto los tipos actuales disponibles en el comercio como los tipos mejorados que, aunque son cada vez más compatibles con el blanqueo a través de mejoras sucesivas, tienen todavía algún grado de susceptibilidad a la desactivación del blanqueo.

Ejemplos de enzimas adecuadas incluyen, pero sin limitación, hemicelulasas, peroxidadas, proteasas, celulasas, xilanasas, lipasas, fosfolipasas, estereras, cutinasas, peptinasas, queratanasas, reductasas, oxidasas, fenoloxidas, lipoxigenasas, ligninasas, pululaninas, tanasas, pentosanasas, malanasas, β -glucanasas, arabinosidasas, hialuronidasas, condroitinasas, lacasas y amilasas conocidas, o sus mezclas.

Ejemplos de estas enzimas adecuadas se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.705.464, 5.710.115, 5.576.282, 5.728.671 y 5.707.950.

ES 2 319 470 T3

Las celulasas útiles en la presente invención incluyen celulasas tanto bacterianas como fúngicas. Preferentemente, tendrán un pH óptimo entre 5 y 12 y una actividad específica por encima de 50 CEVU/mg (unidad de viscosidad de celulosa). Celulasas adecuadas se describen en la patente de EE.UU. 4.435.307 y los documentos J61078384 y WO 96/02653, que describen celulasa fúngica producida respectivamente a partir de *Humicola insolens*, *Trichoderma*, *Thielavia* y *Sporotichum*. El documento EP 739.982 describe celulasas aisladas a partir de nuevas especies de *Bacillus*. Se describen también celulasas adecuadas en los documentos GB-a-2.075.028, GB-A-2.095.275, DE-OS-2.247.832 y WO 95/26398.

Ejemplos de estas celulasas son las celulasas producidas por una cepa de *Humicola Insolens* (*Humicola grises* var. *Tjermoidea*), particularmente la cepa de *Humicola* DSM 1800. Otras celulasas adecuadas son celulasas originadas a partir de *Humicola insolens* que tienen un peso molecular de aproximadamente 50 KDa, un punto isoeléctrico de 5,5 y que contienen 415 aminoácidos y una endoglucanasa de 43 kD derivada de *Humicola insolens*, DSM 1800, que exhibe actividad de celulasa; un componente de endoglucanasa preferido tienen la secuencia de aminoácidos descrita en el documento WO 91/17243. También son adecuadas las celulasas de las celulasas EGIII de *Trichoderma Longibrachiatum* descritas en el documento WO 94/21801 de la empresa Genencor. Las celulasas especialmente adecuadas son las celulasas que tienen ventajas para el cuidado de los colores. Ejemplos de estas celulasas son las celulasas descritas en la solicitud de patente europea nº 91202879.2 presentada el 6 de noviembre de 1991 (Novo). Son especialmente útiles Carezyme y Celluzyme (Novo Nordisk A/S). Véanse también los documentos WO 91/17244 y WO 91/21801. Otras celulasas adecuadas para las propiedades de cuidado de telas y/o limpieza se describen en los documentos WO 96/34092, WO 96/17994 y WO 95/24471.

Las celulasas, cuando están presentes, son normalmente incorporadas en la composición limpiadora a niveles de 0,0001% a 2% de enzima pura por peso de la composición limpiadora.

Las enzimas peroxidadas son usadas en combinación con fuentes de oxígeno, por ejemplo percarbonato, perborato, persulfato, peróxido de hidrógeno, etc. Y con un sustrato fenólico como molécula mejoradora del blanqueo. Se usan para "blanquear la solución", es decir, para evitar la transferencia de colorantes o pigmentos suprimidos de los sustratos durante las operaciones de lavado a otros sustratos en la solución de lavado. Las enzimas peroxidadas son conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, peroxidasa de rábano, ligninasa, y haloperoxidasa como cloro- y bromo-peroxidasa. Las peroxidadas adecuadas y las composiciones detergentes que contienen peroxidadas se describen, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. nº 5.705.460, 5.710.115, 5.576.282, 5.728.671 y 5.707.950, solicitud internacional PCT WO 89/099813, WO 89/09813 y en la solicitud de patente europea EP nº 91202882.6, presentada el 6 de noviembre de 1991 y EP nº 96870013.8, presentada el 20 de febrero de 1996. Es también adecuada la enzima lacasa.

Los mejoradores están comprendidos generalmente a un nivel de 0,1% a 5% en peso de la composición total. Los mejoradores preferidos son fentiazina sustituida y fenoxazina, ácido 10-fenotiazino-propiónico (PPT), ácido 10-etilfenotiazino-4-carboxílico (EPC), ácido 10-fenoxazinopropionico (POP) y 10-metilfenoxazina (descrita en el documento WO 94/12621) y siringatos sustituidos (alquil-siringatos sustituidos de C₃-C₅) y fenoles. El percarbonato o perborato de sodio son fuentes preferidas de peróxido de hidrógeno. Dichas peroxidadas son incorporadas normalmente en la composición limpiadora a niveles de 0,001% a 2% de enzima pura por peso de la composición limpiadora.

Pueden ser usados sistemas enzimáticos como agentes blanqueadores. El peróxido de hidrógeno puede estar presente también añadiendo un sistema enzimático (es decir, una enzima y un sustrato para la misma) que sea capaz de generar peróxido de hidrógeno al comienzo o durante el procedimiento de lavado y/o aclarado. Estos sistemas enzimáticos se describen en la solicitud de patente EP 91202655.6 presentada el 9 de octubre de 1991.

Otras enzimas preferidas que pueden ser incluidas en las composiciones limpiadoras de la presente invención incluyen lipasas. Las enzimas lipasas adecuadas para un uso detergente incluyen las producidas por microorganismos del grupo de *Pseudomonas stutzeri* ATCC 19.154, como se describe en la patente Británica 1.372.034. Las lipasas adecuadas incluyen las que muestran una reacción cruzada inmunológica positiva con el anticuerpo de la lipasa, producido por el microorganismo *pseudomonas fluorescent* IAM 1057. Esta lipasa está disponible en la empresa Amano Pharmaceutical Co. Ltd., Nagoya, Japón, bajo la marca registrada Lipase P "Amano", denominada en lo sucesivo "Amano-P". Otras lipasas comerciales adecuadas incluyen Amano-CES, Lipasas de *Chromobacter viscosum*, por ejemplo, *Chromobacter viscosum* var. *Lipolyticum* NRRLB 3673 de la empresa Toyo Jozo Co., Tagata, Japón; lipasas de *Chromobacter viscosum* de la empresa U.S. Biochemical Corp., USA y Disoynth Co., Holanda y lipasas de *Pseudomonas gladioli*. Las lipasas especialmente adecuadas son lipasas como M1 Lipase® y Lipomax® (gist-Brocades) y Lipolase® y lipolase Ultra® (Novo) que se ha encontrado que son muy eficaces cuando se usan en combinación con las composiciones de la presente invención. También son adecuadas las enzimas lipolíticas descritas en los documentos EP 258.068, WO 92/05249 y WO 95/22615 de la empresa Novo Nordisk y en los documentos WO 94/03578, WO 95/35381 y WO 96/00292 de la empresa Unilever.

También son adecuadas las cutinasas [EC 3.1.1.50] que se pueden considerar como un tipo especial de lipasa, a saber, lipasas que no requieren una activación interfacial. La adición de cutinasas a las composiciones limpiadoras, se ha descrito, por ejemplo, en los documentos WO-A-88/09367 (Genencor); WO 90/09446 (Plant Genetic System) y WO 94/14963 y WO 94/14964 (Unilever).

Las lipasas y/o cutinasas, cuando están presentes son incorporadas normalmente en la composición limpiadora a niveles de 0,001% a 2% de enzima pura por peso de la composición limpiadora.

ES 2 319 470 T3

Además de las lipasas anteriormente citadas, se pueden incorporar fosfolipasas en las composiciones limpiadoras de la presente invención. Ejemplos no limitativos de fosfolipasas adecuadas incluyen: EC 3.1.1.32 fosfolipasa A1; EC 3.1.1.4 fosfolipasa A2; EC 3.1.1.5 lisofosfolipasa; EC 3.1.4.3 fosfolipasa C; EC 3.1.4.4 fosfolipasa D. Las fosfolipasas disponibles en el comercio incluyen LECITASE[®] de la empresa Novo Nordisk A/S de Dinamarca y fosfolipasa A2 de la empresa Sigma. Cuando se incluyen fosfolipasas en las composiciones de la presente invención, se prefiere que se incluyan también amilasas. Aunque no se desean vinculaciones de carácter teórico, se cree que la acción combinada de la fosfolipasa y la amilasa proporciona una supresión sustantiva de las manchas, especialmente sobre las manchas y suciedades de grasa/aceite, almidón y las altamente coloreadas. Preferentemente, la fosfolipasa y la amilasa, cuando están presentes, se incorporan en las composiciones de la presente invención a una relación en peso de enzima pura entre 4500:1 y 1:5, más preferentemente entre 50:1 y 1:1.

Las proteasas adecuadas son las subtilisinas que se obtienen a partir de cepas particulares de *B. subtilis* y *B. licheniformis* (subtilisina BPN y BPN'). Una proteasa adecuada es obtenida a partir de una cepa de *Bacillus*, que tiene una actividad máxima dentro del intervalo de pH de 8-12, desarrollada y comercializada como ESPERASE[®] por la empresa Novo Industries A/S de Dinamarca, en lo sucesivo "Novo". La preparación de esta enzima y enzimas análogas se describe en el documento GB 1.243.784 de la empresa Novo. Las enzimas proteolíticas pueden abarcar también serina proteasas bacterianas modificadas, como las descritas en la solicitud de patente europea número de serie 87303761.8, presentada el 28 de abril de 1987 (particularmente las páginas 17, 24 y 98) y que se denomina en la presente memoria descriptiva "proteasa B" y en la solicitud de patente europea 199.404 de Venegas, publicada el 29 de octubre de 1986, que se refiere a una enzima proteolítica de serina bacteriana modificada que se denomina "Proteasa A" en la presente memoria descriptiva. Es adecuada la proteasa denominada en la presente memoria descriptiva "proteasa C", que es una variante de una serina proteasa alcalina de *Bacillus* en la que la lisina sustituyó a arginina en la posición 27, tirosina sustituyó a valina en la posición 104, serina sustituyó a asparagina en la posición 123 y alanina sustituyó a treonina en la posición 274. La proteasa C se describe en el documento 90915958:4, correspondiente al documento WO 91/06637, publicado el 16 de mayo de 1991. Las variantes genéticamente modificadas, particularmente la proteasa C, están incluidas también en la presente memoria descriptiva.

Una proteasa preferida denominada "proteasa D" es una carbonil-hidrolasa como se describe en la patente de EE.UU. n° 5.677.272 y en el documento WO 95/10591. Es también adecuada una variante de carbonil-hidrolasa de la proteasas descrita en el documento WO 95/10591, que tiene una secuencia de aminoácidos derivada de la sustitución de una pluralidad de residuos de aminoácidos sustituidos en la enzima precursora correspondientes a la posición +210 en combinación con uno o más de los siguientes residuos: +33, +62, +67, +76, +100, +101, +103, +104, +107, +128, +129, +130, +132, +135, +156, +158, +164, +166, +167, +170, +209, +215, +217, +218 y +222, en los que la posición numerada corresponde a subtilisina que se produce de forma natural a partir de *Bacillus amiloliquefaciens* o a los residuos de aminoácidos equivalentes en otras carbonil-hidrolasas o subtilisinas, como subtilisina de *Bacillus lentus*K (solicitud de patente en trámite n° de serie de EE.UU. 60/048.550, presentada en 4 de junio de 1997 y solicitud internacional PCT n° de serie PCT/IB98/00853).

Son también adecuadas para la presente invención las proteasas descritas en las solicitudes de patentes EP 251.446 y WO 91/06637, proteasa BLAP[®] descrita en el documento WO 91/02792 y sus variantes descritas en el documento WO 95/23221.

Véase también una proteasa de pH elevado de *Bacillus* sp. NCIMb 40338 descrita en el documento 93/18140 de la empresa Novo. Los detergentes enzimáticos que comprenden proteasa, una o más de otras enzimas y un inhibidor de proteasa reversible se describen en el documento WO 92/03529 A de la empresa Novo. Cuando se desee, una proteasa que tiene una adsorción disminuida y una hidrólisis aumentada está disponible y descrita en el documento WO 95/07791 de la empresa Procter & Gamble. Una proteasa de tipo tripsina recombinante para detergentes adecuada en la presente invención se describe en el documento WO 94/25583 de la empresa Novo. Otras proteasas adecuadas se describen en el documento EP 516.200 de la empresa Unilever.

Se describen proteasas particularmente útiles en las publicaciones PCT: WO 95/30010, WO 95/300111 y WO 95/29979. Están disponibles en el comercio proteasas adecuadas como ESPERASE[®], ALCALASE[®], DURAZYM[®], SAVINASE[®], EVERLASE[®] y KANNASE[®] todas de la empresa Novo Nordisk A/S de Dinamarca y MAXATASE[®], MAXACAL[®], PROPERASE[®], y MAXAPEM[®] todas de la empresa Genencor International (anteriormente Gist-Brocades de Holanda).

Estas enzimas proteolíticas, cuando están presentes, se incorporan en las composiciones limpiadoras de la presente invención a un nivel de 0,001% a 2%, preferentemente de 0,001% a 0,2%, más preferentemente de 0,005% a 0,1% de enzima pura por peso de la composición.

Las amilasas (α y/o β) pueden ser incluidas para la supresión de manchas basadas en hidratos de carbono. El documento WO 94/02597 describe composiciones limpiadoras que incorporan amilasas mutantes. Véase también el documento WO 95/10603. Otras amilasas conocidas para ser usadas en las composiciones limpiadoras incluyen amilasas tanto α como β . Las α -amilasas son conocidas en la técnica e incluyen las descritas en la patente de EE.UU. n° 5.003.257, documentos EP 252.666, WO 91/00353, FR 2.676.456, EP 285.123, EP 525.610, EP 368.341 y memoria descriptiva de la patente británica n° 1.296.839 (Novo). Otras amilasas adecuadas son las amilasas de estabilidad mejorada descritas en los documentos WO 94/18314 y WO 96/05295, de la empresa Genencor y variantes de amilasas

ES 2 319 470 T3

que tienen una modificación adicional en el parental inmediato, disponibles en la empresa Novo Nordisk A/S, descritas en el documento WO 95/10603. También son adecuadas las amilasas descritas en el documento EP 277.216.

5 Ejemplos de productos de α -amilasas comerciales son Purafect Ox Am[®] de la empresa Genencor y Termamyl[®], Ban[®], Fungamyl[®], y Duramyl[®], todos disponibles en la empresa Novo Nordisk A/S, Dinamarca. El documento WO 95/26397 describe otras amilasas adecuadas: α -amilasas caracterizadas por tener una actividad específica al menos un 25% mayor que la actividad específica de termamyl[®] a un intervalo de temperaturas de 25°C a 55°C y a un valor del pH en el intervalo de 8 a 10, medida mediante el ensayo de actividad de α -amilasa de Phadeba[®]. Son adecuadas las
10 variantes de las enzimas anteriores descritas en el documento WO 96/23873 (Novo Nordisk). Otras enzimas amilolíticas con propiedades mejoradas con respecto al nivel de actividad y la combinación termoestabilidad y nivel superior de actividad se describen en el documento WO 95/35382.

Estas enzimas amilolíticas, cuando están presentes, se incorporan en las composiciones limpiadoras de la presente invención a un nivel de 0,0001% a 2%, preferentemente de 0,00018% a 0,06%, más preferentemente de 0,00024% a
15 0,048% de enzima pura por peso de la composición.

Las enzimas anteriormente mencionadas pueden ser de cualquier origen adecuado, como de origen vegetal, animal, bacteriano, fúngico y de levaduras. El origen puede ser adicionalmente mesofílico o extremofílico (psicrofílico, psicrotrófico, termofílico, barofílico, alcalofílico, acidofílico, halofílico, etc.). Se pueden usar las formas purificadas o no purificadas de estas enzimas. Actualmente es una práctica común modificar enzimas de tipo salvaje a través de técnicas de ingeniería de proteínas/genética con el fin de optimizar su eficacia de rendimiento en el detergente de lavandería y/o composiciones para el cuidado de telas de la invención. Por ejemplo, las variantes pueden estar diseñadas de forma que se aumente la compatibilidad de la enzima para los ingredientes comúnmente encontrados en estas composiciones. Alternativamente, la variante puede estar diseñada de forma que es pH óptimo, estabilidad de blanqueo o
25 quelante, actividad catalítica y similares de la variante de enzima se ajusten para adaptarse a la aplicación limpiadora particular.

En particular, se debe enfocar la atención en aminoácidos sensibles a la oxidación en el caso de la estabilidad de blanqueo y sobre las cargas superficiales para la compatibilidad del tensioactivo. El punto isoelectrico de estas
30 enzimas puede ser modificado mediante la sustitución de algunos aminoácidos con carga, por ejemplo, un aumento en el punto isoelectrico puede ayudar a mejorar la compatibilidad con tensioactivos aniónicos. La estabilidad de las enzimas puede ser adicionalmente aumentada mediante la creación, por ejemplo, de puentes de sales adicionales y reforzando los sitios de unión de calcio para aumentar la estabilidad quelante.

Estas enzimas detergentes opcionales, cuando están presentes, se incorporan normalmente a la composición limpiadora a niveles de 0,0001% a 2% de enzima pura por peso de la composición limpiadora. Las enzimas pueden ser añadidas como ingredientes únicos separados (inserciones, granulados, líquidos estabilizados, etc.), que contienen una
35 enzima o como mezclas de dos o más enzimas (por ejemplo, cogranulados).

Otros ingredientes adecuados que pueden ser añadidos son depuradores de oxidación enzimática. Ejemplos de estos depuradores de oxidación enzimática son tetraetileno-poliaminas etoxiladas.

Una gama de materiales enzimáticos y medios para su incorporación a las composiciones detergentes sintéticas redescubre también en los documentos WO 9307263 y WO 9307260 de la empresa Genencor Internacional, WO
45 8908694 y US 3.553.139, de 5 de enero de 1971, de McCarty *et al.* Se describen adicionalmente enzimas en los documentos US 4.101.457 y US 4.507.219. Los materiales enzimáticos útiles para las formulaciones detergentes líquidas y su incorporación a estas formulaciones se describen en el documento US 4.261.868.

Estabilizadores de enzimas - Las enzimas para ser usadas en detergentes pueden ser estabilizadas mediante diversas técnicas. Se describen y se ilustran técnicas de estabilización de enzimas en los documentos US 3.600.319, EP 199.405 y EP 200.586. Se describen también sistemas de estabilización de enzimas, por ejemplo, en el documento US 3.519.570. Un Bacillus útil, SP. AC 13, que proporciona proteasas, xilanasas y celulasas, se describe en el documento WO 9401532. Las enzimas empleadas en la presente invención pueden ser estabilizadas mediante la presencia de fuentes solubles en agua de iones de calcio y/o magnesio en las composiciones acabadas, que proporcionan estos iones
55 a las enzimas. Los estabilizadores de enzimas adecuados y los niveles de uso se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.705.464, 5.710.115 y 5.576.282.

Mejoradores de la detergencia - Las composiciones detergentes y blanqueadoras descritas en la presente memoria descriptiva comprenden preferentemente uno o más mejoradores de la detergencia o sistemas mejoradores. Cuando
60 están presentes, las composiciones comprenderán normalmente al menos aproximadamente 1% de mejorador de la detergencia, preferentemente de aproximadamente 5%, más preferentemente de aproximadamente 10% a aproximadamente 80%, preferentemente a 50%, más preferentemente hasta 30% en peso de mejorador de la detergencia. Sin embargo, no está previsto que se excluyan niveles inferiores o superiores de mejorador de la detergencia.

Los mejoradores de la detergencia preferidos para ser usados en las composiciones detergentes y blanqueadoras, particularmente las composiciones lavavajillas, descritos en la presente memoria descriptiva, incluyen, pero sin limitación, compuestos mejoradores de la detergencia solubles en agua (por ejemplo, policarboxilatos) como se describe en las patentes de EE.UU. n° 5.695.679, 5.705.464 y 5.710.115. Otros policarboxilatos adecuados se describen en las

ES 2 319 470 T3

patentes de EE.UU. n° 4.144.226, 3.308.067 y 3.723.322. Los policarboxilatos preferidos son hidroxicarboxilatos que contienen hasta tres grupos carboxi por molécula, más particularmente titratos.

Los mejoradores de la detergencia inorgánicos o que contienen P incluyen, pero sin limitación, las sales de metales alcalinos, amonio y alcanolamonio de polifosfatos (como por ejemplo, los tripolifosfatos, pirofosfatos pirofosfatos y metafosfatos polímeros vítreos), fosfonatos (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n° 3.159.581, 3.213.030, 3.422.021, 3.400.148 y 3.422.137), ácido fítico, silicatos, carbonatos (incluidos bicarbonatos y sesquicarbonatos), sulfatos y aluminosilicatos.

Sin embargo, en algunos lugares se requieren mejoradores de la detergencia que no sean de fosfatos. De forma importante, las composiciones de la presente invención funcionan sorprendentemente bien incluso en presencia de los denominados mejoradores de la detergencia “débiles” (en comparación con los fosfatos) como citrato, o en la denominada situación “inframejorada” que se puede producir con mejoradores de la detergencia de zeolitas o silicatos en capas.

Los silicatos adecuados incluyen silicatos de sodios solubles en agua con una relación de $\text{SiO}_2:\text{Na}_2\text{O}$ de aproximadamente 1,0 a 2,8, siendo preferidas relaciones de aproximadamente 1,6 a 2,4 y siendo la más preferida una relación de aproximadamente 2,0. Los silicatos pueden estar en la forma de la sal anhidra o una sal hidratada. El silicato de sodio con una relación de $\text{SiO}_2:\text{Na}_2\text{O}$ de 2,0 es el más preferido. Los silicatos, cuando están presentes, están presentes preferentemente en las composiciones detergentes y blanqueadoras descritas en la presente memoria descriptiva a un nivel de aproximadamente 5% a aproximadamente 50% en peso de la composición, más preferentemente de aproximadamente 10% a aproximadamente 40% en peso.

Los compuestos mejoradores de la detergencia parcialmente solubles o insolubles, que son adecuados para ser usados en las composiciones detergentes y blanqueadoras, particularmente las composiciones detergentes granulares incluyen, pero sin limitación, silicatos en capas cristalinos, preferentemente silicatos de sodio en capas cristalinos (parcialmente solubles en agua) como se describe en la patente de EE.UU. n° 4.664.839 y aluminosilicatos de sodio (insolubles en agua). Cuando están presentes en composiciones detergentes y blanqueadoras, estos mejoradores de la detergencia están presentes normalmente a un nivel de aproximadamente 1% a 80% en peso, preferentemente de aproximadamente 10% a 70% en peso, lo más preferentemente de aproximadamente 20% a 60% en peso de la composición.

Los silicatos de sodios en capas cristalinos que tienen la fórmula general $\text{NaMSi}_x\text{O}_{2x+1}\cdot y\text{H}_2\text{O}$ en la que M es sodio o hidrógeno, x es un número de aproximadamente 1,9 a aproximadamente 4, preferentemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 4, lo más preferentemente 2 e y es un número de aproximadamente 0 a aproximadamente 20, preferentemente 20, pueden ser usados en las composiciones descritas en la presente memoria descriptiva. Se describen silicatos de sodio en capas cristalinos de este tipo en el documento EP-A-0164514 y se describen métodos para su preparación en los documentos DE-A-3417649 y DE-A-3742043. El material más preferido es delta- Na_2SiO_5 , disponible en la empresa Hoechst AG como NaSKS-6 (comúnmente abreviado en la presente memoria descriptiva como “SKS-6”). Al contrario que los mejoradores de detergencia de zeolitas, el mejorador de la detergencia de silicato de NaSKS-6 no contiene aluminio. El NaSKS-6 tiene la forma de morfología delta- Na_2SiO_5 de silicato en capas. El SKS-6 es un silicato en capas altamente preferido para ser usado en las composiciones descritas en la presente memoria descriptiva, pero se pueden usar otros de estos silicatos en capas, como los que tienen la fórmula general $\text{NaMSi}_x\text{O}_{2x+1}\cdot y\text{H}_2\text{O}$ en la que M es sodio o hidrógeno, x es un número de 1,9 a 4, preferentemente 2 e y es un número de 0 a 20, preferentemente 0, en las composiciones descritas en la presente memoria descriptiva. Otros diversos silicatos en capas de la empresa Hoechst incluyen NaSKS-5, NaSKS-7, y NaSKS-11, en las formas alfa, beta y gamma. Como se indicó anteriormente, el delta- Na_2SiO_5 (forma NaSKS-6) es el más preferido para ser usado en la presente invención. Otros silicatos pueden ser útiles también como, por ejemplo, silicato de magnesio, que puede servir como un agente desecante en formulaciones granulares, como un agente estabilizante para blanqueadores de oxígeno y como un componente de sistemas reguladores de la formación de espuma.

El material de silicato de sodio en capas cristalino está presente preferentemente en las composiciones detergentes granulares como un material en forma de partículas íntimamente mezclado con un material ionizable sólido soluble en agua. Este material ionizable sólido soluble en agua se selecciona preferentemente entre ácidos orgánicos, sales de ácidos orgánicos e inorgánicos y sus mezclas.

Los mejoradores de la detergencia de aluminosilicatos son de gran importancia en la mayoría de las composiciones detergentes granulares de acción energética actualmente comercializadas, y pueden ser también un ingrediente mejorador de la detergencia significativo en formulaciones detergentes líquidas. Los mejoradores de la detergencia de aluminosilicatos tienen la fórmula empírica:



en la que z e y son números enteros de al menos 6, la relación en moles de z a y está en el intervalo de 1,0 a aproximadamente 0,5 y x es un número entero de aproximadamente 15 a aproximadamente 264. Preferentemente, el mejorador de la detergencia de aluminosilicato es una zeolita de aluminosilicato que tiene la fórmula de celda unitaria:

ES 2 319 470 T3



5 en la que z e y son al menos 6, la relación en moles de z a y es de 1,0 a 0,5 y x es al menos 5, preferentemente de 7,5 a 276, más preferentemente de 10 a 264. Los mejoradores de la detergencia de aluminosilicatos están preferentemente en forma hidratada y son preferentemente cristalinos, conteniendo de aproximadamente 10% a aproximadamente 28%, más preferentemente de aproximadamente 18% a aproximadamente 22% de agua en forma unida.

10 Estos materiales de intercambio iónico de aluminosilicatos pueden ser de estructura cristalina o amorfa y pueden ser silicatos que se producen de forma natural o sintéticamente derivados. Un método para producir materiales de intercambio iónico de aluminosilicatos se describe en el documento US 3.985.669. Los materiales de intercambio iónico de aluminosilicatos cristalinos sintéticos preferidos útiles en la presente invención están disponibles bajo las denominaciones Zeolita A, Zeolita B, Zeolita P, Zeolita X, Zeolita MAP y Zeolita HS y sus mezclas. En una realización especialmente preferida, el material de intercambio iónico de aluminosilicato cristalino tiene la fórmula:



20 en la que x es de aproximadamente 20 a aproximadamente 30, especialmente de aproximadamente 27. Este material es conocido como Zeolita A. Pueden ser usadas también en la presente invención Zeolitas deshidratadas ($X = 0-10$). Preferentemente el aluminosilicato tiene un tamaño de partículas de aproximadamente 0,1-10 micrómetros de diámetro. La Zeolita X tiene la fórmula:



30 Los mejoradores de citratos, por ejemplo, ácido cítrico y sus sales solubles (particularmente la sal de sodio) son mejoradores de la detergencia de policarboxilatos de importancia particular para las formulaciones detergentes líquidas de acción enérgica, debido a su disponibilidad a partir de fuentes renovables y su biodegradabilidad. Los citratos pueden ser usados también en composiciones granulares, especialmente en combinación con mejoradores de la detergencia de Zeolitas y/o silicatos en capas. Los oxidisuccinatos son también especialmente útiles en estas composiciones y combinaciones.

35 También son adecuados en las composiciones detergentes descritas en la presente memoria descriptiva los 3,3-dicarboxi-4-oxa-1,6-hexanodioatos y compuestos relacionados descritos en el documento US 4.566.984. Los mejoradores de la detergencia de ácidos succínicos útiles incluyen los ácidos alquil y alquenil C_5 - C_{20} -succínicos y sus sales. Un compuesto particularmente preferido de este tipo es ácido dodecenilsuccínico. Ejemplos preferidos de mejoradores de la detergencia de succinatos incluyen: succinato de laurilo, succinato de miristilo, succinato de palmitilo, succinato de 2-dodecenilo (preferido), succinato de 2-pentanodecenilo y similares. Los succinatos de laurilo son los mejoradores de la detergencia preferidos de este grupo y se describen en la solicitud de patente europea 86200690.5/2.200.263, publicada el 5 de noviembre de 1986.

45 Los ácidos grasos, por ejemplo, ácidos monocarboxílicos de C_{12} - C_{18} pueden ser incorporados también en las composiciones solos o en combinación con los mejoradores de la detergencia anteriormente mencionados, especialmente mejoradores de la detergencia de citratos y/o succinatos, para proporcionar una actividad mejoradora de la detergencia adicional. Este uso de ácidos grasos dará lugar generalmente a una disminución de la formación de espuma, que debe ser tenida en cuenta por el formulador.

50 *Dispersantes* - Se pueden incorporar uno o más dispersantes adecuados de polialquilenina en las composiciones limpiadoras de la presente invención. Ejemplos de estos dispersantes adecuados se pueden encontrar en las solicitudes de patentes europeas n° 111.965, 111.984 y 112.592; patentes de EE.UU n° 4.597.898, 4.548.744 y 5.565.145. Sin embargo, se puede usar cualquier agente dispersante o anti-redepósito de arcilla/suciedad en las composiciones de lavandería de la presente invención.

55 Además, los agentes dispersante polímeros que incluyen policarboxilatos polímeros y polietilenglicoles son adecuados para ser usados en la presente invención. Los ácidos monómeros insaturados que pueden ser polimerizados para formar policarboxilatos polímeros adecuados incluyen ácido acrílico, ácido maleico (o anhídrido maleico), ácido fumárico, ácido itacónico, ácido aconítico, ácido mesacónico, ácido citracónico y ácido metilnomalónico. Los policarboxilatos polímeros particularmente adecuados pueden derivar de ácido acrílico. Estos polímeros basados en ácido acrílico que son útiles en la presente invención son las sales solubles en agua de ácido acrílico polimerizado. El peso molecular medio de estos polímeros en la forma ácida varía preferentemente en el intervalo de aproximadamente 2.000 a 10.000, más preferentemente de aproximadamente 4.000 a 7.000 y lo más preferentemente de aproximadamente 4.000 a 5.000. Las sales solubles en agua de estos polímeros de ácido acrílico pueden incluir, por ejemplo, sales de metales alcalinos, amonio y amonio sustituido. Los polímeros solubles de este tipo son materiales bien conocidos. 65 El uso de poliacrilatos de este tipo en composiciones detergentes ha sido descrito, por ejemplo, en el documento US 3.308.067.

ES 2 319 470 T3

Se pueden usar también copolímeros basados en acrílico/maleico como un componente preferido del agente dispersante/anti-redepósito. Estos materiales incluyen sales solubles en agua de copolímeros de ácido acrílico y ácido maleico. El peso molecular medio de estos copolímeros en la forma ácida varía preferentemente en el intervalo de 2.000 a 100.000, más preferentemente de aproximadamente 5.000 a 75.000, lo más preferentemente de aproximadamente 7.000 a 75.000. La relación de segmentos de acrilato a maleato en estos copolímeros variará generalmente en el intervalo de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 1:1, más preferentemente de aproximadamente 10:1 a 2:1. Las sales solubles en agua de estos copolímeros de ácido acrílico/ácido maleico pueden incluir, por ejemplo, las sales de metales alcalinos, amonio y amonio sustituido. Los copolímeros de acrilato/maleato solubles de este tipo son materiales conocidos que se describen en la solicitud de patente europea n° 66915, publicada el 15 de diciembre de 1982, así como en el documento EP 193.360, publicado el 3 de septiembre de 1986, que describe también estos polímeros que comprenden acrilato de hidroxipropilo. Todavía, otros agentes dispersantes útiles incluyen terpolímeros maleico/acrílico/alcohol vinílico. Estos materiales se describen también en el documento EP 193.360 que incluyen, por ejemplo, el terpolímero 45/45/10 de acrílico/maleico/alcohol vinílico.

Otro material polímero que puede ser incluido es polietilenglicol (PEG). El PEG puede exhibir un rendimiento agente dispersante así como actuar como un agente anti-redepósito de supresión de suciedad y arcilla. Los intervalos típicos de pesos moleculares para estos fines varían en el intervalo de aproximadamente 500 a aproximadamente 100.000, preferentemente de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 50.000, más preferentemente de aproximadamente 1500 a aproximadamente 10.000.

Se pueden usar también agentes dispersantes de poliaspartato y poliglutamato, especialmente de forma conjunta con mejoradores de la detergencia de zeolitas. Los agentes dispersantes como el poliaspartato tienen preferentemente un peso molecular (medio) de aproximadamente 10.000.

Agentes de supresión de la suciedad - Las composiciones según la presente invención pueden comprender opcionalmente uno o más agentes supresores de la suciedad. Si se utilizan, los agentes supresores de la suciedad comprenderán generalmente de aproximadamente 0,01%, preferentemente desde aproximadamente 0,1%, más preferentemente de aproximadamente 0,2% hasta aproximadamente 10%, preferentemente hasta aproximadamente 5%, más preferentemente hasta aproximadamente 3% en peso de la composición. Ejemplos no limitativos de polímeros supresores de la suciedad adecuados se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.728.671, 5.691.298, 5.599.782, 5.415.807, 5.182.043, 4.956.447, 4.976.879, 4.968.451, 4.925.577, 4.861.512, 4.877.896, 4.771.730, 4.721.580, 4.000.093, 3.959.230 y 3.893.929 y en la solicitud de patente europea 0.219.048.

Agentes supresores de la suciedad adecuados adicionales se describen en las patentes de EE.UU. n° 4.201.824, 4.240.918, 4.525.524, 4.579.681, 4.220.918 y 4.787.989, EP 279.134 A, EP 457.205 A, y DE 2.335.044.

Agentes quelantes - Las composiciones de la presente invención en la presente memoria descriptiva pueden contener también opcionalmente un agente quelante que sirve para quelar iones metálicos e impurezas metálicas que de otro modo tenderían a desactivar el (o los) agente(s) blanqueador(es). Los agentes quelantes útiles pueden incluir amino-carboxilatos, fosfonatos, amino-fosfonatos, agentes quelantes aromáticos con sustituciones polifuncionales y sus mezclas. Ejemplos adicionales de agentes quelantes adecuados y los niveles de uso se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.705.464, 5.710.115, 5.720.671 y 5.576.282.

Las composiciones de la presente invención pueden contener también sales (o forma ácida) de ácido metil-glicino-diacético (MGDA) solubles en agua como quelante o co-mejorador de la detergencia útiles, por ejemplo, con mejoradores de la detergencia insolubles como zeolitas, silicatos en capas y similares.

Si se utilizan, estos agentes quelantes comprenderán generalmente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 15%, más preferentemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 3,0% en peso de la composición detergente de la presente invención.

Supresor de la formación de espuma - Otro ingrediente opcional es un supresor de la formación de espuma como, por ejemplo, siliconas y mezclas de sílice-silicona. Ejemplos de supresores de la formación de espuma adecuados se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.707.950 y 5.728.671. Estos supresores de la formación de espuma se emplean normalmente a niveles de 0,001% a 2% en peso de la composición, preferentemente de 0,01% a 1% en peso.

Agentes suavizantes - Se pueden incorporar también agentes suavizantes de telas en las composiciones detergentes de lavandería de acuerdo con la presente invención. Los agentes suavizantes inorgánicos son, por ejemplo, las arcillas de esmectitas descritas en el documento GB-A-1.400.898 y US 5.019.292. Los agentes suavizantes orgánicos incluyen las aminas terciarias insolubles en agua descritas en los documentos GB-A-1.514.276 y EP-B-011.340 y su combinación con sales de mono-amonio cuaternario de C₁₂-C₁₄ se describe en los documentos EP-B-026.527 y EP-B-026.528 y se describen amidas de doble cadena larga en el documento EP-B-0.242.919. Otros ingredientes orgánicos útiles para los sistemas suavizantes de telas incluyen materiales de poli(óxido de etileno) de peso molecular elevado descritos en los documentos EP-A- 0.299.575 y 0.313.146.

Se describen agentes suavizantes de telas particularmente adecuados en las patentes de EE.UU. n° 5.707.950 y 5.728.673.

ES 2 319 470 T3

Los niveles de arcilla de esmectita están normalmente en el intervalo de 2% a 20%, más preferentemente de 5% a 15% en peso, siendo añadido el material como un componente mixto seco al resto de la formulación. Los agentes suavizantes de telas orgánicos como las aminas terciarias insolubles en agua o materiales de amidas de doble cadena larga son incorporados a niveles de 0,5% a 5% en peso, normalmente de 1% a 3% en peso, mientras que los materiales de poli(óxido de etileno) de peso molecular elevado y los materiales catiónicos solubles en agua son añadidos a niveles de 0,1% a 2%, normalmente de 0,15% a 1,5% en peso. Estos materiales son normalmente añadidos a la parte secada por aspersión de la composición, aunque en algunos casos puede ser más conveniente añadirlos como una materia en forma de partículas mezcladas secas, o pulverizarlos en forma de un líquido fundido sobre los demás componentes sólidos de la composición.

Compuestos de amonio cuaternario biodegradables como se describen en los documentos EP-A- 040.562 y EP-A-239.910 han sido presentados como alternativas a los cloruros de amonio con doble cadena alquílica larga y metil-sulfatos.

Ejemplos no limitativos de aniones compatibles con el suavizante para los compuestos de amonio cuaternario y los precursores de aminas incluyen cloruro o metil-sulfato.

Inhibición de la transferencia de colorantes - Las composiciones detergentes de la presente invención pueden incluir también compuestos para inhibir la transferencia de colorantes desde una tela a otra de colorantes solubilizados y puestos en suspensión que se encuentran durante el las operaciones de lavado y acondicionamiento de telas que incluyen telas coloreadas.

Agentes inhibidores de la transferencia de colorantes polímeros

Las composiciones detergentes según la presente invención pueden comprender también de 0,001% a 10%, preferentemente de 0,01% a 2%, más preferentemente de 0,05% a 1% en peso de agentes inhibidores de la transferencia de colorantes polímeros. Dichos agentes inhibidores de la transferencia de colorantes polímeros se incorporan normalmente en las composiciones detergentes con el fin de inhibir la transferencia de colorantes desde telas coloreadas a telas lavadas con los mismos. Estos polímeros tienen la capacidad de formar complejos o adsorber los colorantes desplazados fuera de las telas antes de que los colorantes tengan ocasión de resultar unidos a otros artículos en el lavado.

Los agentes inhibidores de la transferencia de colorantes polímeros especialmente adecuados son poliaminas, polímeros de N-óxidos, copolímeros de N-vinilpirrolidona y N-vinilimidazol, polímeros de polivinilpirrolidona, poliviniloxazolidonas y polivinilimidazoles o sus mezclas. Ejemplos de estos colorantes inhibidores de la transferencia de colorantes se describen en las patentes de EE.UU. nº 5.707.950 y 5.707.951.

Los agentes inhibidores de la transferencia de colorantes adecuados adicionales incluyen, pero sin limitación, polímeros reticulados. Los polímeros reticulados son polímeros cuyas cadenas principales están interconectadas hasta un cierto grado; estas conexiones pueden ser de naturaleza química o física, posiblemente con grupos activos en la cadena principal o las ramificaciones; los polímeros reticulados han sido descritos en la publicación Journal of Polymer Science, volumen 22, páginas 1035-1039.

En una realización, los polímeros reticulados se preparan de manera que formen una estructura rígida tridimensional, que pueda atrapar los colorantes en los poros formados por la estructura tridimensional. En otra realización, los polímeros reticulados atrapan los colorantes por hinchamiento. Estos polímeros reticulados se describen en la solicitud de patente europea en trámite 94870213.9.

La adición de estos polímeros mejora también el rendimiento de las enzimas según la invención.

Variación del pH y efecto tampón - Muchas de las composiciones detergentes y limpiadoras descritas en la presente memoria descriptiva serán tamponadas, es decir, son relativamente resistente a una caída del pH en presencia de sustancias ácidas. Sin embargo, Otras composiciones en la presente memoria descriptiva pueden tener una capacidad tamponante excepcionalmente baja o pueden estar sustancialmente sin tamponar. Las técnicas para controlar o regular el pH a niveles de uso recomendados incluyen más generalmente el uso no solamente de tampones sino también de álcalis adicionales, ácidos, sistemas para elevar el pH, recipientes de compartimentos duales, etc., y son bien conocidas por los expertos en la técnica.

Las composiciones de ADD de la presente invención comprenden un componente para ajustar el pH seleccionado entre sales inorgánicas alcalinas solubles en agua y mejoradores de la detergencia orgánicos e inorgánicos solubles en agua como se describe en las patentes de EE.UU. nº 5.705.464 y 5.710.115.

Agentes para el cuidado de materiales - Las composiciones de ADD preferidas pueden contener uno o más agentes para el cuidado de materiales que sean eficaces como inhibidores de la corrosión y/o adyuvantes antimanchas como se describe en las patentes de EE.UU. nº 5.705.464, 5.710.115 y 5.646.101.

ES 2 319 470 T3

Cuando están presentes, estos materiales protectores son incorporados preferentemente a niveles bajos, por ejemplo, de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 5% de la composición de ADD.

5 *Otros materiales* - Los ingredientes o adyuvantes detergentes opcionalmente incluidos en las presentes composiciones pueden incluir uno o más materiales para ayudar a mejorar el rendimiento de limpieza, el tratamiento del sustrato que va a ser limpiado o diseñados para mejorar las características estéticas de la composición. Los adyuvantes que pueden ser incluidos también en las composiciones de la presente invención, a sus niveles convencionales de uso establecidos en la técnica (por ejemplo, los materiales adyuvantes pueden comprender, en total, de aproximadamente 30% a aproximadamente 99,9%, preferentemente de aproximadamente 70% a aproximadamente 95% en peso de las composiciones), incluyen otros ingredientes activos como mejoradores de la detergencia que no son de fosfatos, partículas coloreadas, agentes para el cuidado de la plata, antimanchas y/o anti-corrosión, colorantes, materiales de carga, germicidas, fuentes de alcalinidad, hidrotropos, antioxidantes, perfumes, agentes solubilizantes, vehículos, adyuvantes de tratamiento, pigmentos y agentes para controlar el pH como se describe en las patentes de EE.UU. n° 5.705.464, 5.710.115, 5.698.504, 5.695.679, 5.686.014 y 5.646.101.

15 *Métodos de limpieza* - Además de los métodos para la limpieza de telas, vajillas y otras superficies duras, y partes corporales mediante la limpieza personal, descritos en la presente memoria descriptiva, la presente invención abarca también un procedimiento de pretratamiento de lavandería para telas que han sido ensuciadas o manchadas, que comprende poner en contacto directamente dichas manchas y/o suciedades con una forma altamente concentrada de la composición blanqueadora anteriormente expuesta antes del lavado de estas telas usando soluciones acuosas convencionales de lavado. Preferentemente, la composición blanqueadora permanece en contacto con la suciedad/mancha durante un período de aproximadamente 30 segundos a 24 horas antes de lavar el sustrato ensuciado/manchada pretratado de una manera convencional. Más preferentemente, los tiempos de pretratamiento variarán en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 180 minutos.

25 Los siguientes están destinados a ilustrar composiciones de la presente invención, pero no están necesariamente concebidos para limitar o definir de algún otro modo el alcance de la invención.

30 En todos los ejemplos siguientes Proteasa¹ significa una variante de proteasa que comprende una sustitución de residuos de aminoácidos con otro residuo de aminoácido que se produce de forma natural correspondiente a las posiciones 101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*. La Proteasa¹ Puede ser sustituida con otra variante de proteasa adicional de la presente invención, con resultados sustancialmente similares en los siguientes ejemplos.

35 En los ejemplos de composiciones limpiadoras de la presente invención, los niveles de enzima de Proteasa¹ son expresados mediante enzima pura por peso total de la composición, y los otros niveles de enzimas son expresados mediante materia prima por peso de la composición total y, salvo que se especifique otra cosa, los demás ingredientes son expresados por peso de la composición total.

40 Adicionalmente, en los siguientes Ejemplo, se usan algunas abreviaturas conocidas por los expertos ordinarios en la técnica de forma congruente con la descripción expuesta en la presente memoria descriptiva.

45

(Tabla pasa a página siguiente)

50

55

60

65

ES 2 319 470 T3

Ejemplo 1

Composición de lavavajillas automático granular

5	<u>Componente</u>	A	B	C
	Ácido cítrico	15,0	-	-
10	Citrato	4,0	29,0	15,0
	Copolímero de acrilato/metacrilato	6,0	-	6,0
	Copolímero de ácido acrílico/ácido maleico	-	3,7	-
15	Carbonato añadido seco	9,0	-	20,0
	Silicato de metal alcalino	8,5	17,0	9,0
20	Parafina	-	0,5	-
	Benzotriazol	-	0,3	-
	Termamil 60T	1,6	1,6	1,6
25	Proteasa ¹	0,2	0,1	0,06
	Percarbonato(AvO)	1,5	-	-
	Monohidrato de perborato	-	0,3	1,5
30	Tetrahidrato de perborato	-	0,9	-
	Tetraacetiletilendiamina	3,8	4,4	-
35	Ácido dietileno-triamino-pentametil-fosfónico (sal de Mg)	0,13	0,13	0,13
	Alquil-etoxi-sulfato- 3 veces etoxilado	3,0	-	-
40	Tensioactivo no iónico de alquil-etoxi-propoxi	-	1,5	-
	Supresor de espuma	2,0	-	-
	Tensioactivo no iónico Olin SLF 18	-	-	2,0
45	Sulfato	Resto hasta 100%		

50

55

60

65

ES 2 319 470 T3

Ejemplo 2

Composiciones detergentes lavavajillas compactas de densidad elevada (0,96 kg/l) A a F de acuerdo con la invención

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

Componente	A	B	C	D	E	F
STPP	-	51,4	51,4	-	-	44,3
Citrato	17,05	-	-	49,6	40,2	-
Carbonato	17,50	14,0	20,0		8,0	33,6
Bicarbonato	-	-	-	26,0	-	-
Silicato	14,81	15,0	8,0	-	25,0	3,6
Metasilicato	2,50	4,5	4,5	-	-	-
PB1	9,74	7,79	7,79	-	-	-
PB4	-	-	-	9,6	-	-
Percarbonato	-	-	-	-	11,8	4,8
Componente no iónico	2,00	1,50	1,50	2,6	1,9	5,9
TAED	2,39	-	-	3,8	-	1,4
HEDP	1,00	-	-	-	-	-
DETPMP	0,65	-	-	-	-	-
Mn TACN	-	-	-	-	0,008	-
PAAC	-	0,008	0,008	-	-	-
Parafina	0,50	0,38	0,38	0,6	-	-
Proteasa ¹	0,1	0,06	0,05	0,03	0,07	0,01
Amilasa	1,5	1,5	1,5	2,6	2,1	0,8
BTA	0,30	0,22	0,22	0,3	0,3	0,3
Policarboxilato	6,0	-	-	-	4,2	0,9
Perfume	0,2	0,12	0,12	0,2	0,2	0,2
Sulfato/agua	20,57	1,97	2,97	3,6	4,5	3,9
pH(solución al 1%)	11,0	11,0	11,3	9,6	10,8	10,9

Ejemplo 3

Composiciones detergentes lavavajillas granulares, ejemplos A a F de densidad aparente 1,02 Kg/l de acuerdo con la invención

60

65

Componente	A	B	C	D	E	F
STPP	30,00	33,5	27,9	29,62	33,8	22,0
Carbonato	30,50	30,50	30,5	23,00	34,5	45,0
silicato	7,4	7,50	12,6	13,3	3,2	6,2

ES 2 319 470 T3

5	Metasilicato	-	4,5				
	Percarbonato	-	-		-	4,0	
	PB1	4,4	4,5	4,3	-	-	
	NaDCC	-	-		2,00	-	0,9
10	Componente no iónico	1,0	0,75	1,0	1,90	0,7	0,5
	TAED	1,00	-		-	0,9	
15	PAAC	-	0,004		-	-	
	Parafina	0,25	0,25		-	-	
	Proteasa ¹	0,05	0,06	0,025	0,1	0,02	0,07
20	Amilasa	0,38	0,64	0,46	-	0,6	
	BTA	0,15	0,15		-	0,2	
25	Perfume	0,2	0,2	0,05	0,1	0,2	
	Sulfato/agua	23,45	16,87	22,26	30,08	21,7	25,4
30	pH(solución al 1%)	10,80	11,3	11,0	10,70	11,5	10,9

35 Ejemplo 4

Ejemplos A a H de composiciones detergentes en pastillas de acuerdo con la presente invención preparadas mediante compresión de una composición detergente lavavajillas granular a una presión de 13 kn/cm² usando una prensa rotatoria estándar de 12 cabezales

40	Componente	A	B	C	D	E	F	G	H
	STPP	-	48,8	54,7	38,2	-	52,4	56,1	36,0
45	Citrato	20,0	-	-	-	35,9	-	-	-
	Carbonato	20,0	5,0	14,0	15,4	8,0	23,0	20,0	28,0
	Silicato	15,0	14,8	15,0	12,0	23,4	2,9	4,3	4,2
50	Proteasa ¹	0,05	0,09	0,05	0,03	0,06	0,03	0,03	0,1
	Amilasa	1,5	1,5	1,5	0,85	1,9	0,4	2,1	0,3
55	PB1	14,3	7,8	11,7	12,2	-	-	6,7	8,5
	PB4	-	-	-	-	22,8	-	3,4	-
	Percarbonato	-	-	-	-	-	10,4	-	-
60	Componente no iónico	1,5	2,0	2,0	2,2	1,0	4,2	4,0	6,5
	PAAC	-	-	0,016	0,009	-	-	-	-
65	MnTACN	-	-	-	-	0,00	-	-	-

ES 2 319 470 T3

					7				
5	TAED	2,7	2,4	-	-	-	2,1	0,7	1,6
	HEDP	1,0	-	-	0,93	-	0,4	0,2	-
	DETPMP	0,7	-	-	-	-	-	-	-
10	Parafina	0,4	0,5	0,5	0,55	-	-	0,5	-
	BTA	0,2	0,3	0,3	0,33	0,3	0,3	0,3	-
	Policarboxilato	4,0	-	-	-	4,9	0,6	0,8	-
15	PEG	-	-	-	-	-	2,0	-	2,0
	Glicerol	-	-	-	-	-	0,4	-	0,5
	Perfume	-	-	-	0,05	0,20	0,2	0,2	0,2
20	Sulfato/agua	17,4	14,7	-	15,74	-	-	-	11,3
	Peso de la pastilla	20 g	25 g	20 g	30 g	18 g	20 g	25 g	24,0
25	pH (solución al 1%)	10,7	10,6	10,7	10,7	10,9	11,2	11,0	10,8

Ejemplo 5

Composiciones limpiadoras granulares de telas

Ejemplo nº

<u>Componentes</u>	<u>A</u>	<u>B</u>
Alquilo lineal-benceno-sulfonato	11,4	10,70
Sebo-alquil-sulfato	1,80	2,40
Alquil C ₁₄₋₁₅ -sulfato	3,00	3,10
Alcohol C ₁₄₋₁₅ 7 veces etoxilado	4,00	4,00
Alcohol de sebo 11 veces etoxilado	1,80	1,80
Dispersante	0,07	0,1
Fluido de silicona	0,80	0,80
Citrato de trisodio	14,00	15,00
Ácido cítrico	3,00	2,50
Zeolita	32,50	32,10
Copolímero de ácido maleico/ácido acrílico	5,00	5,00
Ácido dietileno-triamina-pentametileno-fosfónico	1,00	0,20
Proteasa1	0,1	0,01
Lipasa	0,36	0,40
Amilasa	0,30	0,30
Silicato de sodio	2,00	2,50
Sulfato sodio	3,50	5,20

ES 2 319 470 T3

	Polivinilpirrolidona	0,30	0,50
	Perborato	0,5	1
5	Fenol-sulfonato	0,1	0,2
	Peroxidasa	0,1	0,1
10	Componentes menores	Hasta 100	Hasta 100

Ejemplo 6

15 *Composiciones limpiadoras granulares de telas*

		<u>Ejemplo nº</u>	
		<u>A</u>	<u>B</u>
20	<u>Componentes</u>		
	Alquilo lineal C ₁₂ -benceno-sulfonato de sodio	6,5	8,0
	Sulfato de sodio	15,0	18,0
25	Zeolita A	26,0	22,0
	Nitilotriacetato de sodio	5,0	5,0
	Polivinilpirrolidona	0,5	0,7
30	Tetraacetileno-diamina	3,0	3,0
	Ácido bórico	4,0	-
35	Perborato	0,5	1
	Fenol-sulfonato	0,1	0,2
	Proteasa ¹	0,02	0,05
40	Materiales de carga (por ejemplo, silicatos, carbonatos, perfumas, agua)	Hasta 100	Hasta 100

45 Ejemplo 7

Composición limpiadora de telas granular y compacta

		<u>% en peso</u>
50	<u>Componentes</u>	
	Alquil-sulfato	8,0
	Alquil-etoxi-sulfato	2,0
55	Mezcla de alcohol de C25 y C45 3 y 7 veces etoxilado	6,0
	Amida de ácido graso polihidroxilado	2,5
	Zeolita	17,0
60	Silicato/citrato en capas	16,0
	Carbonato	7,0
	Copolímero de ácido maleico/ácido acrílico	5,0
65	Polímero supresor de la suciedad	0,4
	Carboximetil-celulosa	0,4

ES 2 319 470 T3

	Poli(4-vinilpiridina)-N-óxido	0,1
	Copolímero de vinilimidazol y vinilpirrolidona	0,1
5	PEG2000	0,2
	Poteasa1	0,03
	Lipasa	0,2
10	Celulasa	0,2
	TAED	6,0
	Percarbonato	22,0
15	Ácido etilen-diamino-disuccinico	0,3
	Supresor de la formación de espuma	3,5
	4,4'-bis-(2-morfolino-4-anilino-s-triazin-6-ylamino)estilbeno-2,2'-	0,25
20	disulfonato de disodio	
	4,4'-bis(2-sulfoestiril)bifenilo de disodio	0,05
25	Agua, perfumes y componentes menores	Hasta 100

Ejemplo 8

Composición granular limpiadora de telas

<u>Componentes</u>	<u>% en peso</u>	
30		
	Alquilo lineal-benceno-sulfonato	7,6
35	Alquil C ₁₆ -C ₁₈ -sulfato	1,3
	Alcohol C ₁₄₋₁₅ 7 veces etoxilado	4,0
40	Cloruro de coco-alkuil-dimetil-hidroxietil-amonio	1,4
	Dispersante	0,07
	Fluido de silicona	0,8
45	Citrato de trisodio	5,0
	Zeolita 4 A	15,0
	Copolímero de ácido maleico/ácido acrílico	4,0
50	Ácido dietilen-triamino-pentametileno-fosfónico	0,4
	Perborato	15,0
	TAED	5,0
55	Arcilla de esmectita	10,0
	Polioxietileno (PM 300.000)	0,3
	Proteasa ¹	0,02
60	Lipasa	0,2
	Amilasa	0,3
	Celulasa	0,2
65	Silicato de sodio	3,0
	Carbonato de sodio	10,0

ES 2 319 470 T3

	Carboximetil-celulosa	0,2
	Abrillantadores	0,2
5	Agua, perfume y componentes menores	Hasta 100

Ejemplo 9

10 *Composición granular limpiadora de telas*

	<u>Componentes</u>	<u>% en peso</u>
	Alquilo lineal-benceno-sulfonato	6,92
15	Sebo-alquil-sulfato	2,05
	Alcohol C ₁₄₋₁₅ 7 veces etoxilado	4,4
20	Alquil C ₁₂₋₁₅ -etoxi-sulfato 3 veces etoxilado	0,16
	Zeolita	20,2
	Citrato	5,5
25	Carbonato	15,4
	Silicato	3,0
	Copolímero de ácido maleico/ácido acrílico	4,0
30	Carboximetil-celulosa	0,31
	Polímero supresor de la suciedad	0,30
35	Proteasa ¹	0,1
	Lipasa	0,36
	Celulasa	0,13
40	Tetrahidrato de perborato	11,64
	Monohidrato de perborato	8,7
	TAED	5,0
45	Ácido dietileno-triamino-pentametil-fosfónico	0,38
	Sulfato de magnesio	0,40
	Abrillantador	0,19
50	Perfume, silicona, supresores de la formación de espuma	0,85
	Componentes menores	Hasta 100

55 Ejemplo 10

Composición granular limpiadora de telas

	<u>Componente</u>	A	B	C
60	Componentes de gránulos de base			
	LAS/AS/AES(65/35)	9,95	-	-
65	LAS/AS/AES(70/30)	-	12,05	7,70
	Aluminosilicato	14,06	15,74	17,10

ES 2 319 470 T3

	Carbonato de sodio	11,86	12,74	13,07
	Silicato de sodio	0,58	0,58	0,58
5	Sólidos de NaPAA	2,26	2,26	1,47
	Sólidos de PEG	1,01	1,12	0,66
	Abrillantadores	0,17	0,17	0,11
10	DTPA	-	-	0,70
	Sulfato	5,46	6,64	4,25
15	DC-1400 Deaerant	0,02	0,02	0,02
	Humedad	3,73	3,98	4,33
	Componentes menores	0,31	0,49	0,31
20	Pulverizador de B.O.T			
	Tensioactivo no iónico	0,50	0,50	0,50
	Componentes aglomerados			
25	LAS/AS(25/75)	11,70	9,60	10,47
	Aluminosilicato	13,73	11,26	12,28
	Carbonato	8,11	6,66	7,26
30	PEG 4000	0,59	0,48	0,52
	Humedad/componentes menores	4,88	4,00	4,36
35	Aditivos funcionales			
	Carbonato de sodio	7,37	6,98	7,45
	Perborato	1,03	1,03	2,56
40	Revestimiento de base de AC	-	1,00	-
	NOBS	-	-	2,40
	Polímero supresor de la suciedad	0,41	0,41	0,31
45	Celulosa	0,33	,033	0,24
	Proteasa ¹	0,1	0,05	0,15
50	Trozos de AE	0,40	0,40	0,29
	Pulverización líquida			
	Perfume	0,42	0,42	0,42
55	Pulverización no iónica	1,00	1,00	0,50
	Componentes menores		Hasta 100	

60

65

ES 2 319 470 T3

Ejemplo 11

Composición granular limpiadora de telas

		A	B
5	Tensioactivo		
	- Na LAS	6,40	-
10	-KLAS	-	9,90
	- AS/AE3S	6,40	4,39
	- TAS	0,08	0,11
15	- C24AE5	3,48	-
	- Genagen	-	1,88
	- N-cocoil-N-metil-glucamina (lin)	1,14	2,82
20	- Cloruro de dimetil-hidroxietil-amonio C ₈₋₁₀	1,00	1,40
	Mejorador de la detergencia		
25	- Zeolita	20,59	13,39
	- SKS-6	10,84	10,78
	- Ácido cítrico	2,00	-
30	Tampón		
	- Carbonato	9,60	12,07
	- Bicarbonato	2,00	2,00
35	- Sulfato	2,64	-
	- Silicato	0,61	0,16
40	Polímero		
	- Copolímero de ácido acrílico/ácido maleico (Na)	1,17	1,12
45	- Carboximetil-celulosa	0,45	0,24
	- Polímero	0,34	0,18
	- Hexametileno-diamino-tetra-E24-etoxilato, di-cuaternizado con cloruro de metilo	1,00	1,00
50	Enzima		
	- Proteasa1 (% de enzima pura)	0,03	0,03
55	-Celulasa	0,26	0,26
	- Amilasa	0,65	0,73
	- Lipasa	0,27	0,15
60	Blanqueador		
	- TAED (100%)	3,85	3,50
65	- Éster de fenolsulfonato de ácido N-nonanoil-6-aminocaproico	-	2,75

ES 2 319 470 T3

5	- Percarbonato	16,20	18,30
	- HEDP	0,48	0,48
	- EDDS	0,30	0,30
	Componentes varios		
	- Partícula de ácido málico		2,20 +bicarb
10	- Abrillantador 15-49	0,077/0,014	0,07/0,014
	- Ftalocianino-sulfonato de zinc	0,0026	0,0026
15	- Polidimetilsiloxano con un extremo de trimetilsililo y unidades bloqueantes	0,25	0,24
	- Jabón	-	1,00
20	- Perfume	0,45	0,55
	TOTAL	100	100

Ejemplo 12

Composición granular limpiadora de telas

	A	B	
30	Tensioactivo		
	NaLAS	6,8	0,4
35	KLAS	-	10,9
	FAS	0,9	0,1
	AS	0,6	1,5
40	C25AE3S	0,1	-
	AE5	4,2	-
	N-cocoil-N-metil-glucamina	-	1,8
45	Genagen	-	1,2
	Coluro de Dimetil-hidroxietyl-amonio C ₈₋₁₀	-	1,0
50	Mejorador de la detergencia		
	SKS-6	3,3	9,0
	Zeolita	17,2	18,9
55	Ácido cítrico	1,5	-
60	Tampón		
	Carbonato	21,1	15,0
	Bicarbonato de sodio	-	2,6
	Sulfato	15,2	5,5
	Ácido málico	-	2,9
65	Silicato	0,1	-

ES 2 319 470 T3

	Polímero		
5	Copolímero de ácido acrílico/ácido maleico (Na)	2,2	0,9
	Tetra-E24-etoxilato de hexametileno-diamina, dicuater-	0,5	0,7
	nizado con cloruro de metilo		
10	Polímero	0,1	0,1
	CMC	0,2	0,1
	Enzimas		
15	Proteasa1 (% de enzima pura)	0,02	0,05
	Lipasa	0,18	0,14
	Amilasa	0,64	0,73
20	Celulasa	0,13	0,26
	Blanqueador		
25	TAED	2,2	2,5
	Éster de fenolsulfonato de ácido N-nonanoil-6-	-	1,96
	aminocaproico		
30	Percarbonato de Sodio	-	13,1
	PB4	15,6	-
	EDDS	0,17	0,21
35	MgSO ₄	0,35	0,47
	HEDP	0,15	0,34
	Componentes diversos		
40	Abrillantador	0,06	0,04
	- ftalocianino-sulfonato de zinc	0,0015	0,0020
45	- polidimetilsiloxano con unidades bloqueadoras termi-	0,04	0,14
	nales trimetilsililo		
	Jabón	0,5	0,7
50	Perfume	0,35	0,45
	Partículas	0,5	0,5

55 Ejemplo 13

Las siguientes composiciones detergentes de lavandería granulares 13 A-C son de utilidad particular bajo condi-

60 ciones de lavado de máquinas europeas y se prepararon de acuerdo con la invención:

Componente	A	B	C
LAS	7,0	5,61	4,76
65 TAS	-	-	1,57

ES 2 319 470 T3

	C45AS	6,0	2,24	3,89
	C25E3S	1,0	0,76	1,18
5	C45E7		-	2,0
	C25E3	4,0	5,5	-
	QAS	0,8	2,0	2,0
10	STPP		-	-
	Zeolita A	25,0	19,5	19,5
15	Ácido cítrico	2,0	2,0	2,0
	NaSKS-6	8,0	10,6	10,6
	Carbonato I	8,0	10,0	8,6
20	MA/AA	1,0	2,6	1,6
	CMC	0,5	0,4	0,4
25	PB4	-	12,7	-
	Percarbonato	-	-	19,7
	TAED		3,1	5,0
30	Citrato	7,0	-	-
	DTPMP	0,25	0,2	0,2
	HEDP	0,3	0,3	0,3
35	QEA I	0,9	1,2	1,0
	Proteasa ¹	0,02	0,05	0,035
40	Lipasa	0,15	0,25	0,15
	Celulasa	0,28	0,28	0,28
	Amilasa	0,4	0,7	0,3
45	PVPI/PVNO	0,4	-	0,1
	Blanqueador fotoactivado (ppm)	15 ppm	27 ppm	27 ppm
	Abrillantador 1	0,08	0,19	0,19
50	Abrillantador 2	-	0,04	0,04
	Perfume	0,3	0,3	0,3
55	<u>Gránulos efervescentes</u> (ácido málico 40%, bicarbonato de sodio 40%, carbonato de sodio 20%)	15	15	5
	Antiespumante de silicona	0,5	2,4	2,4
60	Ingredientes menores/inertes hasta 100%			

65

ES 2 319 470 T3

Ejemplo 14

Las siguientes formulaciones son ejemplos de composiciones de acuerdo con la invención, que pueden estar en la forma de gránulos o en la forma de una pastilla.

5	Componente	14
	C45 AS/TAS	3,0
10	LAS	8,0
	C25AE3S	1,0
	NaSKS-6	9,0
15	C25AE5/AE3	5,0
	Zeolita A	10,0
	SKS-6 (I) (añadido seco)	2,0
20	MA/AA	2,0
	Ácido cítrico	1,5
25	EDDS	0,5
	HEDP	0,2
	PB1	10,0
30	NACA OBS	2,0
	TAED	2,0
	Carbonato	8,0
35	Sulfato	2,0
	Amilasa	0,3
40	Lipasa	0,2
	Proteasa	0,02
45	Componentes menores (Abrillanta- dor/SRP1/CMC/Fotoblanqueador/MgSO ₄ /- PVPI/Supresor de espuma/PEG	0,5
	Perfume	0,5

50

Ejemplo 15

Composiciones limpiadoras de telas líquidas

55

<u>Componente</u>	<u>Ejemplo nº</u>	
	<u>A</u>	<u>B</u>
Ácido alquenil C ₁₂₋₁₄ -succínico	3,0	8,0
Monohidrato de ácido cítrico	10,0	15,0
Alquil C ₁₂₋₁₅ -sulfato de sodio	8,0	8,0
Sulfato de sodio de alcohol C ₁₂₋₁₅ 2 veces etoxilado	-	3,0
65 Alcohol C ₁₂₋₁₅ 7 veces etoxilado	-	8,0

ES 2 319 470 T3

	Dietilentriamina-penta(ácido metileno-fosfónico)	0,2	-
	Ácido oleico	1,8	-
5	Etanol	4,0	4,0
	Propanodiol	2,0	2,0
	Proteasa ¹	0,01	0,02
10	Supresor de espuma	0,15	0,15
	NaOH	hasta pH 7,5	
15	Perborato	0,5	1
	Fenol-sulfonato	0,1	0,2
	Peroxidasa	0,4	0,1
20	Agua y componentes menores	Hasta 100%	

Ejemplo 16

25 *Composiciones limpiadoras de telas líquidas*

		<u>Ejemplo nº</u>
30	<u>Componente</u>	<u>17</u>
	NaLAS(100%am)	16
	Neodol	21,5
35	EDDS	1,2
	Dispersante	1,3
40	Perborato	12
	Éster de fenolsulfonato de ácido N-nonanoil-6-aminocaproico	6
	Proteasa ¹ (% de enzima pura)	0,03
45	Celulasa	0,03
	Disolvente (BPP)	18,5
	Polímero	0,1
50	Carbonato	10
	FWA 15	0,2
55	TiO ₂	0,5
	PEG 8000	0,4
	Perfume	1,0-1,2
60	Supresor de espuma	0,06
	Agua y componentes menores	Hasta 100%

65

ES 2 319 470 T3

Ejemplo 17

Comprimidos de limpieza de dentaduras efervescentes en dos capas

	Componentes	Ejemplo nº			
		A	B	C	D
5					
10	Capa ácida				
	Proteasa1	1,0	1,5	0,01	0,05
	Ácido tartárico	24,0	24,0	24,00	24,00
15	Carbonato de sodio	4,0	4,0	4,00	4,00
	Ácido sulfámico	10,0	10,0	10,00	10,00
	PEG 20.000	4,0	4,0	4,00	4,00
20	Bicarbonato de sodio	24,5	24,5	24,50	24,50
	Persulfato de sodio	15,0	15,0	15,00	15,00
25	Pirofosfato de sodio ácido	7,0	7,0	7,00	7,00
	Sílice de pirólisis	2,0	2,0	2,00	2,00
	Tetraacetilileno-diamina	7,0	7,0	7,00	7,00
30	Sulfosuccinato de ricinoleilo	0,5	0,5	0,50	0,50
	Sabor	1,0	1,0	1,00	1,00
	Capa alcalina				
35	Monohidrato de perborato de sodio	32,0	32,0	32,00	32,00
	Bicarbonato de sodio	19,0	19,0	19,00	19,00
	EDTA	3,0	3,0	3,00	3,00
40	Tripolifosfato de sodio	12,0	12,0	12,00	12,00
	PEG 20.000	2,0	2,0	2,00	2,00
45	Persulfato de potasio	26,0	26,0	26,00	26,00
	Carbonato de sodio	2,0	2,0	2,00	2,00
50	Sílice de pirólisis	2,0	2,0	2,00	2,00
	Colorante/sabor	2,0	2,0	2,00	2,00

55 Ejemplo 18

Las composiciones detergentes granulares de lavandería 18 A-E son de utilidad particular bajo condiciones de lavado de máquinas japonesas y se preparan de acuerdo con la invención:

Componente	A	B	C	D	E
LAS	23,57	23,57	21,67	21,68	21,68
FAS	4,16	4,16	3,83	3,83	3,83

ES 2 319 470 T3

	Tensioactivo no iónico	3,30	3,30	2,94	3,27	3,27
5	Cloruro de bis(hidroxietil)metil-alquil-amonio	0,47	0,47	1,20	1,20	1,20
	SKS-6	7,50	7,50	5,17	5,76	5,06
10	Copolímero de poliacrilato (PM 11.000)(relación maleico/acrilato de 4:6)	7,03	7,03	14,36	14,36	14,36
15	Zeolita	11,90	11,40	10,69	11,34	11,34
	Carbonato	14,90	14,82	11,71	11,18	11,18
	Silicato	12,00	12,00	12,37	12,38	12,38
20	Proteasa ¹	0,016	0,016	0,046	0,046	0,046
	Lipasa	-	-	0,28	-	-
25	Amilasa	-	-	0,62	-	-
	Celulasa	-	-	0,48	-	0,70
	NOBS	3,75	3,75	2,70	2,70	2,70
30	PB1	3,53	-	2,60	-	-
	Percarbonato de sodio	-	4,21	-	3,16	3,16
	SRP	0,52	0,52	0,70	0,70	0,70
35	Abrillantador	0,31	0,31	0,28	0,28	0,50
	AE troceado	0,17	0,20	0,17	0,17	0,17
40	Polidimetilsiloxano	-	-	0,68	0,68	0,68
	Perfume	0,06	0,06	0,08	-	-
	Perfume	-	-	-	0,23	0,23
45	Sílice hidrófoba precipitada	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
	PEG 4000	0,19	0,19	0,17	0,17	0,17
50	Componentes menores/inertes hasta 100%					

55 Aunque se han descrito realizaciones particulares de la considerada, será obvio para los expertos en la técnica que se pueden hacer diversos cambios y modificaciones de la invención considerada que se aparten de las características generales y el alcance de la invención. Está previsto que las reivindicaciones anejas abarquen todas estas modificaciones que estén dentro del alcance de la invención.

60 Las composiciones de la presente invención se pueden preparar adecuadamente mediante cualquier procedimiento escogido por el formulador, de los que son ejemplos no limitativos los descritos en las patentes de EE.Uu nº el documento 5.691.297, 5.574.005, 5.569.645, 5.565.422, 5.516.448, 5.489.392 y 5.486.303.

65 Además de los ejemplos anteriores, las composiciones blanqueadoras de la presente invención pueden ser formulada en cualquier composición detergente de lavandería adecuada, de los que se describen ejemplos no limitativos en las patentes de EE.UU. nº 5.679.630, 5.565.145, 5.478.489, 5.470.507, 5.466.802, 5.460.752, 5.458.810, 5.458.809 y 5.288.431.

REIVINDICACIONES

1. Una composición blanqueadora, que comprende:

5 (a) una cantidad eficaz de una variante de proteasa en que dicha variante de proteasa incluye la sustitución de residuos de aminoácidos con otros residuos de aminoácidos que se producen de forma natural en posiciones de residuos de aminoácidos correspondientes a las posiciones 101, 103, 104, 159, 232, 236, 245, 248 y 252 de subtilisina de *Bacillus amyloliquefaciens*; y

10 (b) un agente blanqueador que es un peroxiácido orgánico o es una combinación de un activador de blanqueo y un compuesto de peróxigeno capaz de producir peróxido de hidrógeno que puede reaccionar con el activador para formar un peroxiácido orgánico *in situ* en una solución blanqueadora formada a partir de la composición; y

15 (c) uno o más materiales adyuvantes de limpieza.

2. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dicha variante de proteasa es derivada de subtilisina de *Bacillus*, preferentemente subtilisina de *Bacillus lentus* o subtilisina 309.

20 3. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dicha variante de proteasa incluye un conjunto de sustituciones seleccionado entre el grupo que consiste en:

25 **101/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252;**
101/103/104/159/185/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/206/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 30 **101/102/103/104/159/232/236/245/248/252;**
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
101/103/104/130/159/232/236/245/248/252;
 35 **101/103/104/128/159/232/236/245/248/252;**
62/101/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/232/236/245/248/252/260;
 40 **101/103/104/131/159/232/236/245/248/252;**
98/101/103/104/159/232/236/245/248/252;
99/101/103/104/159/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/212/232/236/245/248/252;
 45 **101/103/104/159/209/232/236/245/248/252;**
101/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/205/232/236/245/248/252;
 50 **101/103/104/159/194/232/236/245/248/252;**
76/101/103/104/159/194/232/236/245/248/252; y
101/103/104/159/230/232/236/245/248/252.

55 4. La composición blanqueadora según la reivindicación 2, en la que dicha variante de proteasa incluye el conjunto de sustituciones:

60 **101G/103A/104I/159D/232V/236H/245F/248D/252K**

65

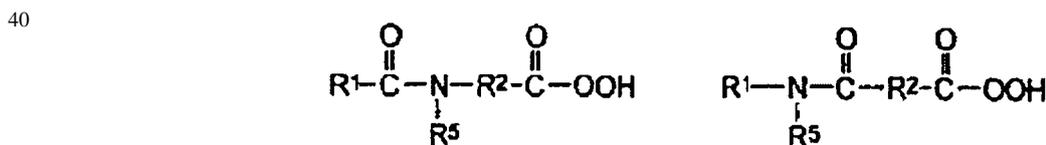
ES 2 319 470 T3

5. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dicha variante de proteasa incluye un conjunto de sustituciones seleccionado entre el grupo que consiste en:

5
 S101G/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101E/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101G/S103AV104I/G159D/N185D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 10 S101G/S103AV104I/G159D/Q206E/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101G/S103AV104I/G159D/T213Q/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101G/G102A/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 N62D/S101G/S103AV104I/G159D/S212G/T213R/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 15 S101G/S103AV104I/S130G/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101G/S103AV104I/S128G/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101G/S103AV104I/S128L/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 N62D S101G/S103AV104I/G159D/T213R/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 20 S101G/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K/T260A;
 S101G/S103AV104I/P131V/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 A98V/S101G/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S99G/S101G/S103AV104I/G159D/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101G/S103AV104I/G159D/S212G/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 25 S101G/S103AV104I/G159D/Y209W/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101G/S103AV104I/G159D/P210I/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101G/S103AV104I/G159D/V205I/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 S101G/S103AV104I/G159D/A194P/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K;
 30 S101G/S103AV104I/G159D/A230V/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K; y
 S101G/G102A/S103AV104I/G159D/S212G/A232V/Q236H/Q245R/N248D/N252K.

6. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dicho agente blanqueador se selecciona entre el grupo que consiste en:

(i) un peroxiácido orgánico seleccionado entre el grupo que consiste en peroxiácidos orgánicos de fórmula:



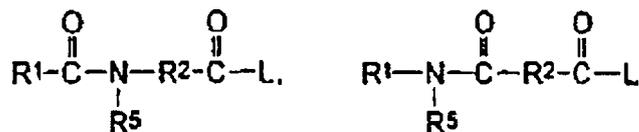
en la que R¹ es un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono, R² es un grupo alquileno, arileno o alcarileno que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono y R⁵ es H o un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono; ácido E-ftalimido-peroxicaproico y sus mezclas; y

(ii) una combinación de un activador de blanqueo y un compuesto de peroxígeno capaz de producir peróxido de hidrógeno que puede reaccionar con el activador para formar un peroxiácido orgánico *in situ* en una solución blanqueadora formada a partir de la composición, en la que dicho activador de blanqueo tiene la fórmula general:



65 en la que R es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 18 átomos de carbono en el que la cadena de alquilo lineal más larga que se extiende a partir del átomo de carbono de carbonilo y que lo incluye contiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 10 átomos de carbono y L es un grupo lábil, cuyo ácido conjugado tiene un pKa en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 13;

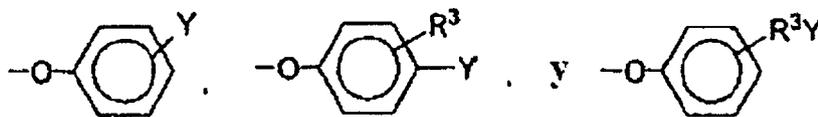
preferentemente dicho activador de blanqueo tiene la fórmula general:



o sus mezclas, en las que R¹ es un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono, R² es un grupo alquileno, arileno o alcarileno que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono, R⁵ es H o un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono y L es un grupo lábil;

más preferentemente R¹ es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 átomos de carbono, R² contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono y R⁵ es H o metilo.

7. La composición blanqueadora según la reivindicación 6, en la que R¹ es un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 7 a aproximadamente 10 átomos de carbono, R² contiene de aproximadamente 4 a aproximadamente 5 átomos de carbono y en la que L se selecciona entre el grupo que consiste en:

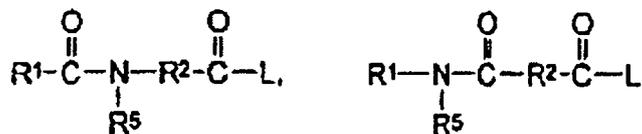


en el que R³ es una cadena alquílica que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono e Y es -SO₃-M⁺ o -CO₂-M⁺ en los que M es sodio o potasio.

8. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dicho agente blanqueador comprende un activador de blanqueo seleccionado entre el grupo que consiste en tetraacetil-etileno-diamina (TAED), benzoilcaprolactama (BzCL), 4-nitrobenzoilcaprolactama, 3-clorobenzoilcaprolactama, benzoiloxibencenosulfonato (BOBS), nonanoiloxibenceno-sulfonato (NOBS), benzoato de fenilo (PhBz), decanoiloxibencenosulfonato (C₁₀-OBS), benzoilvalerolactama (BZVL), octanoiloxibencenosulfonato (C₈-OBS), ésteres perhidrolizables, sal de sodio de 4-[N-(nonanoil)amino-hexanoiloxi]-benceno-sulfonato (NACA-OBS), lauriloxibencenosulfonato (LOBS o C₁₂-OBS), 10-undecenoiloxibencenosulfonato (UDOBS o C₁₁-OBS con insaturación en la posición 10) y ácido decanoiloxibenzoico (DOBA) y sus mezclas, y que comprende además opcionalmente un catalizador de blanqueo, preferentemente 3-(3,4-dihidroisoquinolinio)propano-sulfonato.

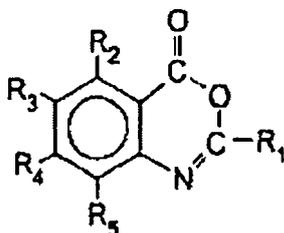
9. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dicho agente blanqueador comprende al menos aproximadamente 0,1% en peso del agente blanqueador de un compuesto blanqueador de peróxígeno capaz de producir peróxido de hidrógeno en un líquido acuoso y al menos 0,1% en peso del agente blanqueador de uno o más activadores de blanqueo, en la que dichos activadores de blanqueo son miembros seleccionados entre el grupo que consiste en:

a) un activador de blanqueo de fórmula general:



o sus mezclas, en el que R¹ es un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono, R² es un grupo alquileno, arileno o alcarileno que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 14 átomos de carbono, R⁵ es H o un grupo alquilo, arilo o alcarilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono y L es un grupo lábil;

b) un activador de blanqueo de tipo benzoxazina de fórmula:



ES 2 319 470 T3

en la que R_1 es H, alquilo, alcarilo, arilo, arilaquilo y en la que R_2, R_3, R_4 y R_5 pueden ser sustituyentes iguales o diferentes seleccionados entre H, halógeno, alquilo, alquenilo, arilo, hidroxilo, alcoxilo, amino, alquilamino, $-\text{COOR}_6$ en el que R_6 es H o un grupo alquilo y funciones carbonilo;

5 c) un activador de blanqueo de N-acil-caprolactama de fórmula:



15 en la que R^6 es H o un grupo alquilo, arilo, acoxiarilo o alcarilo que contiene de 1 a 12 átomos de carbono; y

d) mezclas de a), b) y c).

20 10. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que el correspondiente ácido carboxílico del agente blanqueador de peroxiácido orgánico tiene un valor del balance hidrófilo-lipófilo en el intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 6,5.

25 11. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dichos materiales adyuvantes de limpieza se seleccionan entre el grupo que consiste en tensioactivos, disolventes, tampones, enzimas, agentes supresores de la suciedad, agentes supresores de la suciedad arcillosa, agentes dispersantes, abrillantadores, supresores de espuma, suavizantes de telas, mejoradores de la formación de espuma, estabilizadores de enzimas, mejoradores de la detergencia, otros agentes blanqueadores, colorantes, perfumes, quelantes y sus mezclas.

30 12. La composición blanqueadora según la reivindicación 11, en la que dichos materiales adyuvantes de limpieza comprenden al menos un tensioactivo detergente, preferentemente un tensioactivo ramificado, más preferentemente un tensioactivo ramificado de cadena media.

35 13. La composición blanqueadora según la reivindicación 11, en la que los materiales adyuvantes de limpieza comprenden al menos aproximadamente 0,1% de tensioactivo por peso de la composición, comprendiendo dicho tensioactivo materiales seleccionados entre el grupo que consiste en alquil-benceno-sulfonatos, alquil-sulfatos primarios, alquil-sulfatos secundarios, alquil-alcoxi-sulfatos, alquil-alcoxi-carboxilatos, alquil-poliglicósidos y sus correspondientes poliglicósidos sulfatados, ésteres de ácidos grasos alfa-sulfonados, alquil- y alquil-fenol-alcoxilatos, betaínas y sulfobetaínas, óxidos de aminas, N-metil-glucamidas, etoxilatos de alcoholes primarios no iónicos, alcohol primario no iónico etoxi/propoxi mixto y sus mezclas.

40 14. La composición blanqueadora según la reivindicación 13, que comprende adicionalmente al menos aproximadamente 5% de mejorador de la detergencia seleccionado entre el grupo que consiste en zeolitas, policarboxilatos, silicatos en capas, fosfatos y sus mezclas.

45 15. La composición blanqueadora según la reivindicación 11, en la que dichos materiales adyuvantes de limpieza comprenden al menos una enzima detergente seleccionada entre el grupo que consiste en celulasas, lipasas, amilasas, fosfolipasas, otras proteasas, peroxidases y sus mezclas.

50 16. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dicha composición blanqueadora es una composición blanqueadora de telas, preferentemente en la forma de un líquido, gránulo, pastilla, polvo o barra, que comprende al menos aproximadamente 5% de tensioactivo y al menos aproximadamente 5% de mejorador de la detergencia por peso de la composición.

55 17. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dicha composición blanqueadora es una composición blanqueadora de telas que comprende:

(a) de aproximadamente 0,0001% a aproximadamente 10% en peso de dicha variante de proteasa;

(b) de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 20% en peso de dicho agente blanqueador;

60 (c) al menos aproximadamente 5% en peso de un tensioactivo preferentemente seleccionado entre el grupo que consiste en alquil-benceno-sulfonatos, alquil-sulfatos primarios, alquil-sulfatos secundarios, alquil-alcoxi-sulfatos, alquil-alcoxi-carboxilatos, alquil-poliglicósidos y sus correspondientes poliglicósidos sulfatados, ésteres de ácidos grasos alfa-sulfonados, alquil- y alquil-fenol-alcoxilatos, betaínas y sulfobetaínas, óxidos de aminas, N-metil-glucamidas, etoxilatos de alcoholes primarios no iónicos, alcohol primario no iónico mixto etoxi/propoxi y sus mezclas; y

65 (d) al menos aproximadamente 5% en peso de un mejorador de la detergencia preferentemente seleccionado entre el grupo que consiste en zeolitas, policarboxilatos, silicatos en capas, fosfatos y sus mezclas.

ES 2 319 470 T3

18. La composición blanqueadora según la reivindicación 17, en la forma de una composición blanqueadora de telas granular concentrada que comprende al menos aproximadamente 15% de tensioactivo.

5 19. Un método para limpiar telas, comprendiendo dicho método poner en contacto una tela que necesita una limpieza con una composición blanqueadora según las reivindicaciones 16 ó 17.

20. La composición blanqueadora según la reivindicación 1, en la que dicha composición blanqueadora es una composición blanqueadora lavavajillas, preferentemente en la forma de un líquido, gránulo, polvo o pastilla, que comprende:

10

(a) de aproximadamente 0,0001% a aproximadamente 10% en peso de la composición blanqueadora lavavajillas de dicha variante de proteasa;

15

(b) de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 20% en peso de la composición blanqueadora lavavajillas de dicho agente blanqueador; y

(c) de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% en peso de la composición blanqueadora lavavajillas de un tensioactivo.

20

21. Un método para limpiar vajillas, comprendiendo dicho método poner en contacto una vajilla que necesita una limpieza con una composición blanqueadora según la reivindicación 20.

22. La composición blanqueadora según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en que dicha composición blanqueadora es una composición de limpieza personal que comprende:

25

(a) de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 5%, preferentemente de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 2%, más preferentemente de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 0,8% en peso de la composición de limpieza personal de la variante de proteasa;

30

(b) de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 20% en peso de la composición de limpieza personal de un agente blanqueador que es un peroxiácido orgánico o es una combinación de un activador de blanqueo y un compuesto de peróxígeno capaz de producir peróxido de hidrógeno que puede reaccionar con el activador para formar un peroxiácido orgánico *in situ* en una solución blanqueadora formada a partir de la composición; y

35

(c) de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 95% en peso de la composición de limpieza personal de un sistema tensioactivo que comprende preferentemente un o más tensioactivos seleccionados entre el grupo que consiste en carboxilatos aniónicos, óxidos de aminas, alquil-glucósidos, glucosamidas, alquil-sulfatos, alquil-éter-sulfatos, acil-isetionatos, alquil-sulfosuccinatos, ésteres de alquil-fosfatos, ésteres de fosfatos etoxilados, alquil-gliceril-éter-sulfonatos y sus mezclas, que comprende más preferentemente uno o más tensioactivos seleccionados entre el grupo que consiste en jabones, alquil-glutamatos, alquil-sarcosinatos, óxidos de lauramina, óxidos de cocamina, óxidos de cacamidopropilamina, decilglucósidos, lauril-sulfatos, laureth-sulfatos, acil C₁₂₋₁₈-isetionatos y sus mezclas; y

40

(d) opcionalmente, de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 50% en peso de la composición de limpieza personal de un estabilizador de enzimas.

45

23. La composición blanqueadora según la reivindicación 22, en la que dicho tensioactivo es un jabón a un nivel de al menos aproximadamente 2%, preferentemente al menos aproximadamente 10%, más preferentemente al menos aproximadamente 25% en peso de la composición blanqueadora.

50

24. La composición de limpieza personal según la reivindicación 23, en la que la relación de jabón a variante de proteasa es de aproximadamente 2.000:1 a aproximadamente 8:1, preferentemente de aproximadamente 400:1 a aproximadamente 40:1.

55

25. Un método para la limpieza personal, comprendiendo dicho método poner en contacto una parte del cuerpo humano o de un animal inferior que necesita una limpieza con una composición blanqueadora según la reivindicación 22.

60

26. Un método para pretratar una tela que necesita limpieza, comprendiendo dicho método poner en contacto dicha tela antes de lavar dicha tela con una solución acuosa que contiene un tensioactivo con una composición blanqueadora según las reivindicaciones 16 ó 17.

65


```

170      Lvs Tyr Pro Ser Val Ile Ala Val Gly Val Ser Ile Gln Ser Thr Leu Pro Gly Asn Lvs Tyr Gly Ala Tyr Asn Gly
    924 AAA TAC CCT TCT GTC ATT GCA GTA GGC GCT GTT GAC AGC AGC AAG AAC CAA AGA GCA TCT TTC TCA AGC GTA GGA CCT
180
200      Gln Leu Asp Val Met Ala Pro Gly Val Ser Ile Gln Ser Thr Leu Pro Gly Asn Lvs Tyr Gly Ala Tyr Asn Gly
    999 GAG CTT GAT GTC ATG GCA CCT GGC GTA TCT ATC CAA AGC AGC CTT CCT GGA AAC AAA TAC GGG GCG TAC AAC GGT
210
220      Thr Ser Met Ala Ser Pro His Val Ala Gly Aal Ala Ala Leu Ile Leu Ser Lvs His Pro Asn Trp Thr Asn Thr
    1074 ACG TCA ATG GCA TCT CCG CAC TCT GGC GGA GCG GCT GCT TTG ATT CTT TCT AAG CAC CCG AAC TGG AEA AAC ACT
230
250      Gln Val Arg Ser Ser Leu Gln Asp Thr Thr Thr Lvs Leu Gly Asp Ser Phe Tyr Tyr Gly Lvs Gly Leu Ile Asn
    1149 CAA GTC CGC AGC AGT TTA GAA AAC ACC ACT ACA AAA CTT GGT GAT TCT TTG TAC TAT GGA AAA GGG CTG ATC AAC
260
270      Val Gln Ala Ala Ala Gln DC
    1224 GTA CAA GCG GCA GCT CAG TAA
275
1316 ATAATCGAGGATGGCTCCCTCTGAAAATTTTAAAGGAAACCGCGGGTTCACCCGGCTCAGTCCCGTAAAGCCCACTCTGAAAGGTC1CAATCGCGG
1416 CTTCCCGGTTCCGGTCAGCTCAATGCCATAACGGTGGCGGGGTTTTCCCTGATACCGGGAGAGGGCATTCGTAATCGGATC

```

TERM

FIG.-1C

RESIDUOS CONSERVADOS EN SUBTILISINAS DE
BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS

1	10	20
A Q S V P . G	A P A . H	G
21	30	40
. T G S . V K V A V . D . G	H P	
41	50	60
D L . . . G G A S . V P	Q D	
61	70	80
. N . H G T H V A G T . A A L N N S I G		
81	90	100
V L G V A P S A . L Y A V K V L G A . G		
101	110	120
S G . . S . L . . G . E W A . N		
121	130	140
V . N . S L G . P S . S	A . .	
141	150	160
. G V . V V A A . G N . G . . .		
161	170	180
. Y P . . Y	A V G A .	
181	190	200
D . . N . . A S F S . . G . . L D . . A		
201	210	220
P G V . . Q S T . P G . . Y	N G T	
221	230	240
S H A . P H V A G A A A L	K	
241	250	260
W . . . Q . R . . L . N T	L G . . .	
261	270	
. . Y G . G L . N . . A A . . .		

FIG. 2

Comparación de secuencias de subtilisina de:

B. amyloliquefaciens

B. subtilis

B. licheniformis

B. lentus

01	A	Q	S	V	P	Y	G	V	S	Q	I	K	A	P	A	L	H	S	Q	G	Y	T	G	S	N	V	K	V	A	V	I	D	S	G	I	D	S	S	H	P
	A	Q	S	V	P	Y	G	V	S	Q	I	K	A	P	A	L	H	S	Q	G	Y	T	G	S	N	V	K	V	A	V	I	D	S	G	I	D	S	S	H	P
	A	Q	T	V	P	Y	G	V	S	Q	I	K	A	P	A	L	H	S	Q	G	F	K	G	S	N	V	K	V	A	V	I	D	S	G	I	D	S	S	H	P
	A	Q	S	V	P	W	G	V	S	R	V	Q	A	P	A	L	H	S	Q	G	L	T	G	S	N	V	K	V	A	V	I	D	S	G	I	D	S	S	H	P
10																																								
20																																								
30																																								
40																																								
50																																								
60																																								
70																																								
80																																								
90																																								
100																																								
110																																								
120																																								
130																																								
140																																								
150																																								
160																																								

FIG. 3/A

161	170	180	190	
S S S T V G Y P G K Y P S V I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A	S T B N T I G Y P P A K Y P S S T I A V G A V N S S N Q R R A S F S S V G P E L D V M A	S T B N T I G Y P P A K Y P S S T I A V G A V N S S N Q R R A S F S S V G P E L D V M A	S T B N T I G Y P P A K Y P S S T I A V G A V N S S N Q R R A S F S S V G P E L D V M A	S T B N T I G Y P P A K Y P S S T I A V G A V N S S N Q R R A S F S S V G P E L D V M A
201	210	220	230	
P G V S I Q S T L P G N K Y G A Y N G T S M A B P H V A G A A L I L S K H P N	P G V S I Q S T L P G N K Y G A Y N G T S M A B P H V A G A A L I L S K H P N	P G V S I Q S T L P G N K Y G A Y N G T S M A B P H V A G A A L I L S K H P N	P G V S I Q S T L P G N K Y G A Y N G T S M A B P H V A G A A L I L S K H P N	P G V S I Q S T L P G N K Y G A Y N G T S M A B P H V A G A A L I L S K H P N
241	250	260	270	
W T N T A B V Q V R R R R S L E N T T A T T K L G D S F Y Y G K G L I N V Q A A A Q	W T N T A B V Q V R R R R S L E N T T A T T K L G D S F Y Y G K G L I N V Q A A A Q	W T N T A B V Q V R R R R S L E N T T A T T K L G D S F Y Y G K G L I N V Q A A A Q	W T N T A B V Q V R R R R S L E N T T A T T K L G D S F Y Y G K G L I N V Q A A A Q	W T N T A B V Q V R R R R S L E N T T A T T K L G D S F Y Y G K G L I N V Q A A A Q

FIG. 3/B