

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 411 731**

51 Int. Cl.:

**C11D 3/386** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.09.2007 E 07820020 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2013 EP 2059582**

54 Título: **Granulado enzimático altamente concentrado y medio de lavado o limpieza que contiene dicho granulado enzimático altamente concentrado**

30 Prioridad:

**08.09.2006 DE 102006042797**  
**26.06.2007 DE 102007029643**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**08.07.2013**

73 Titular/es:

**HENKEL AG & CO. KGAA (100.0%)**  
**HENKELSTRASSE 67**  
**40589 DÜSSELDORF, DE**

72 Inventor/es:

**BESSLER, CORNELIUS;**  
**KESSLER, ARND;**  
**TONDERA, SUSANNE;**  
**NITSCH, CHRISTIAN;**  
**ZIPFEL, JOHANNES;**  
**MÜLLER-KIRSCHBAUM, THOMAS;**  
**WARKOTSCH, NADINE;**  
**MÜLLER, SVEN y**  
**HOLDERBAUM, THOMAS**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 411 731 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).

## DESCRIPCIÓN

Granulado enzimático altamente concentrado y medio de lavado o limpieza que contiene dicho granulado enzimático altamente concentrado

La presente invención se refiere al sector de la formulación de granulados enzimáticos y su incorporación en detergentes y productos de lavado. Hace referencia a un lavavajillas para máquina que contiene un granulado enzimático altamente concentrado así como a la utilización de este lavavajillas.

5 El empleo de enzimas en los detergentes y medios de lavado es habitual desde hace siglos en el estado de la técnica. Sirven para ampliar el espectro de actividad de los medios correspondientes en lo que se refiere a sus actividades especiales. Se destacan las enzimas hidrolíticas como las proteasas, amilasas, lipasas y celulasas. Las tres primeras hidrolizan proteínas, almidones y grasas y por tanto contribuyen a eliminar la suciedad. Las celulasas se emplean en particular por su acción sobre los tejidos. Otro grupo de detergentes o medios de lavado son las enzimas oxidativas, en particular las oxidasas, que en caso de necesidad se utilizan junto con otros componentes y sirven preferiblemente para blanquear las impurezas. Las enzimas como, por ejemplo, las perhidrolasas sirven para producir los agentes blanqueantes *in situ*. Además de estas enzimas se dispone de otras enzimas que se emplearán en detergentes y medios de lavado, en especial para poder tratar las impurezas especiales de forma óptima, como por ejemplo, pectinasas, beta-glucanasas, mananasas o bien otras hemicelulasas para la hidrólisis de ciertos polímeros vegetales especiales.

15 Las enzimas establecidas desde hace más tiempo y que se encuentran prácticamente en todos los detergentes y medios de lavado modernos y potentes son las proteasas y en particular las serina proteasas o proteasas serínicas, entre las que se encuentran las subtilasas. Sirven para la disgregación de las impurezas que contienen proteínas. Entre las proteasas de los detergentes y medios de lavado destacan las subtilasas debido a sus propiedades enzimáticas favorables como la estabilidad o el pH óptimo. Además se han descrito otros tipos de proteasas con esta finalidad, por ejemplo, las metaloproteasas.

20 Las subtilasas (proteasas del tipo de la subtilisina, subtilopectidasas, EC 3.4.21.62) actúan como endopeptidasas no específicas, es decir, hidrolizan cualquier enlace de amidas ácidas, que se encuentra en el interior de los péptidos o proteínas. Su pH óptimo se sitúa principalmente en una zona claramente alcalina. El artículo "Subtilasas: Subtilisinlike Proteases" de R. Siezen, páginas 75-95 en "Subtilisin enzymes", publicado por R. Bott y C. Betzel, New York, 1996, permite dar una ojeada a esta familia de enzimas. Las subtilasas se forman de forma natural a partir de microorganismos. A continuación se mencionan, en particular, las subtilasinas formadas y secretadas por especies *Bacillus* como el grupo más significativo dentro de las subtilasas.

25 Los representantes preferidos de las mismas son las proteasas alcalinas del *Bacillus amyloliquefaciens* (BPN') y *Bacillus licheniformis* (Subtilisin Carlsberg), la proteasa alcalina PB92, la subtilisina 147 y/o 309 (que se comercializa bajo el nombre comercial de Savinase de Fa. Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dänemark) así como las proteasas alcalinas del *Bacillus lentus*, sobre todo del *Bacillus lentus* (DSM 5483) y las variantes de estas enzimas obtenidas por mutagénesis.

30 Haremos referencia a las amilasas como la clase de enzimas siguiente más importante y entre ellas las alfa-amilasas ocupan una posición destacada. Se puede contar también con las enzimas amilolíticas como las ciclodextrina-glucanotransferasas (CGtasas).

35 Las alfa-amilasas (E.C.3.2.1.1) hidrolizan los enlaces internos  $\alpha$ -1,4-glucosídicos del almidón y polímeros similares al almidón. Las  $\alpha$ -amilasas son activas en los medios alcalinos y ese es el motivo por el cual se emplean, ya que los detergentes presentan unos valores de pH alcalinos. Son producidas y segregadas por los microorganismos, es decir por hongos y bacterias, sobre todo por las especies *Aspergillus* y *Bacillus*. A parte de estas enzimas naturales se dispone de una amplia gama de variantes que se derivan por mutagénesis y que presentan ventajas específicas según el tipo de aplicación.

40 Ejemplos de ello son las  $\alpha$ -amilasas del *Bacillus licheniformis* (de la empresa Novozymes bajo el nombre Termamyl® y de la empresa Genencor bajo el nombre Purastar®ST), de *B. amyloliquefaciens* (comercializadas por la empresa Novozymes bajo el nombre de BAN®) y de *B. stearothermophilus* (comercializadas por la empresa Novozymes bajo el nombre Novamyl®) así como sus posteriores avances tanto en medios de lavado como detergentes.

45 En lo que se refiere a la otra enzima hidrolítica antes mencionada, existe un estado de la técnica amplio, en particular las lipasas y celulasas, que desde hace tiempo se emplean en los detergentes y medios de lavado.

Respecto al empleo de enzimas oxidativas mencionaremos la solicitud de patente WO 97/21796 A1, donde se destaca el empleo de oxidasas alcalinas, en particular de oxidasas de colina. Para ello, la WO 2004/058955 A2 informa

sobre los enzimas adecuados. La WO 98/45398 A1 aporta un ejemplo para la perhidrolasa enzimática. Finalmente la WO 2005/124012 A1 publica un sistema de blanqueo enzimático nuevo, que comprende al menos una oxidasa y al menos una perhidrolasa.

5 Se ha trabajado de forma constante para poder disponer de enzimas nuevas y más adecuadas para el sector técnico de los detergentes y medios de lavado, tanto dentro de las clases de enzimas antes mencionadas como también entre las clases de enzimas que hasta el momento no se habían descrito para este campo de aplicación. Un camino para conseguir las nuevas enzimas, en particular los nuevos representantes en las clases establecidas consiste en detectar hábitats naturales a través de métodos microbiológicos y aislar en ellos los microorganismos, que forman las correspondientes enzimas. Este enfoque o planteamiento se ha ido ampliando de manera que, por ejemplo, el ADN codificado de las proteasas se obtiene directamente de las muestras de origen natural. Para ello puede que se haga referencia a las solicitudes WO 2005/063974 A1 y WO 2005/103244 A1.

10 Las enzimas naturales (o de referencia) se optimizan mediante procedimientos de mutagénesis conocidos, por ejemplo, para su empleo en medios de lavado y detergentes. Esto se hace con la intención de mejorar los parámetros de potencia y rendimiento, las interacciones con el sustrato, la termoestabilidad o la estabilidad frente a agentes desnaturizantes o inactivantes como, por ejemplo, frente a tensoactivos o blanqueantes. Si se realizan cambios de secuencias se habla de un diseño proteínico racional.

15 Una tendencia moderna del desarrollo de los enzimas consiste en combinar elementos de enzimas relacionados unos con otros, conocidos, mediante un procedimiento estadístico para dar nuevos enzimas con unas propiedades no conocidas hasta el momento. Dichos procedimientos se encuentran recogidos bajo el concepto de Directed Evolution. A este grupo pertenecen, por ejemplo, los procedimientos siguientes: El método StEP (Zhao y cols. (1998), Nat. Biotechnol., tomo 16, pág. 258-261), Random priming recombination (Shao y cols. (1998), Nucleic Acids Res., tomo 26, pág. 681-683), DNA-Shuffling (Stemmer, W.P.C.(1994), Nature, tomo 370, págs. 389-391) o bien RACHITT (Coco, w.m. y cols. (2001), Nat. Biotechnol., tomo 19, págs. 354-359). Otro método Shuffling con la denominación "Recombining ligation reaction" (RLR) se ha descrito en WO 00/09679 A1.

20 Como todos estos trabajos requieren un periodo largo de tiempo, existe una gran necesidad de enzimas que sean adecuadas para su empleo en detergentes y medios de lavado. En particular, el aspecto de la potencia es muy interesante. Puesto que cuanto mayor es el rendimiento de una enzima mejor es el efecto limpiador apreciado por el consumidor final. Al contrario con un componente enzimático de alto rendimiento se pueden conseguir los mismos buenos resultados incluso con concentraciones inferiores, lo que facilita la concepción de las fórmulas correspondientes, crea espacio para otras sustancias y/o disminuye los gastos relacionados con los componentes enzimáticos.

25 Otro punto de vista a tener en cuenta para el empleo de enzimas en medios de lavado y detergentes es su presentación, es decir la forma física en la que pueden ser añadidos a los medios correspondientes.

30 Para ello, y en particular para su presentación en una forma sólida existe asimismo un estado amplio de la técnica. Estamos hablando de partículas, o mejor del contenido: granulados (gránulos), que al juntarse dan lugar a la forma de presentación del granulado. Para fabricar un medio de lavado y un detergente es preciso incorporar a los medios básicamente sólidos distintas sustancias y también enzimas en forma de granulados.

35 Una alternativa fundamental puede ser la presentación de enzimas en forma líquida, que normalmente se incorporan a los medios de lavado y a los detergentes, habitualmente en forma de gel o en forma líquida. En general, en esta forma no se encuentran protegidas físicamente frente a las influencias negativas de otras sustancias de los medios de lavado y detergentes correspondientes, de manera que las enzimas se añaden a los medios líquidos preferiblemente en forma de granulados sólidos. Los nuevos avances tienen como objetivo mantener la estabilidad física de este tipo de granulados y/o la actividad de las enzimas contenidas en los granulados, en particular en la incorporación a un medio de lavado o detergente predominantemente líquido, de forma duradera, mediante unas medidas de protección adecuadas.

40 Añadir enzimas en forma sólida a los medios líquidos es un procedimiento descrito en WO 99/00471 A1 y WO 99/00478 A1. En ambos casos se presentan las enzimas como los conocidos "Prills" (gránulos), al igual que en el empleo en medios sólidos. La primera de estas solicitudes transmite o facilita por tanto la teoría de equiparar estas partículas sólidas en lo que se refiere a su densidad a la del medio, para garantizar una estabilidad suficiente de las partículas durante el almacenamiento. La segunda de estas solicitudes de patente transmite la teoría de incrementar la potencia limpiadora de las enzimas contenidas mediante la adición del ácido etilendiamina-N,N'-disuccínico (EDDS) o bien de sus sales.

45 Otros avances tenían como objetivo recubrir los granulados enzimáticos o las partículas con otras sustancias, es decir con una capa protectora (Coating). Por ejemplo, la WO 00/29534 A1 informa sobre la fabricación de granulados, en los cuales se aplican distintas capas sobre un núcleo o bien soporte inerte. Puede tratarse de una capa

enzimática, que obligatoriamente se recubre por fuera de una o varias capas protectoras.

5 Una serie completa de solicitudes informa sobre los distintos materiales de revestimiento o combinaciones de materiales o bien diferentes métodos que se aplicarán, por ejemplo, en forma de polvo, solución o como masa fundida. Los revestimientos tienen, respectivamente, una doble finalidad: (1) la estabilidad física y química frente a la influencia de otras sustancias o medios de lavado durante el almacenamiento y (2.) la liberación rápida o regulada de los componentes en el momento del empleo del medio, es decir de la dilución con agua para un baño de lavado o limpieza.

10 Un método de preparación que cumple ambos objetivos se deduce, por ejemplo, de la solicitud no publicada DE 102006018780.6. Esta informa sobre granulados de sustancias sensibles de los medios de lavado o detergentes, que contienen los componentes: (a) la sustancia sensible del detergente o medio de lavado, es decir por ejemplo la enzima, (b) un material soporte determinado (absorbente), (c) un componente distinto de (b) como aglutinante y (d) otros opcionales, de las distintas sustancias (b) y (c), los cuales en un almacenamiento a 23°C en un sistema tampón acuoso, que consta de un 16% de sulfato sódico y un 3% de citrato sódico, a un pH de  $5,0 \pm 0,1$  básicamente no se desintegran durante un periodo de tiempo de 24 horas.

20 Hasta el momento todavía no se ha ponderado si puede existir una influencia por parte del tipo de granulado y en particular de la concentración de las enzimas contenidas en la potencia limpiadora del detergente. Por el momento y a la vista de la elección de la enzima solamente ha sido posible deducir la influencia atribuida a la enzima a través de la cantidad total de la concentración enzimática, es decir, mediante la pesada del granulado disponible.

25 Por tanto se ha planteado el cometido de mejorar la potencia de limpieza o lavado de los medios de lavado o detergentes que contienen enzimas mediante el desarrollo de componentes enzimáticos eficientes. Es decir se debería disponer de componentes enzimáticos que mejoraran el rendimiento, medios de lavado y detergentes más eficaces así como los correspondientes procedimientos de lavado y limpieza y las posibilidades de uso de los mismos.

30 Es decir, el interés se centra no en desarrollar una enzima nueva sino en conseguir una mejoría en el rendimiento, que fundamentalmente se pueda aplicar a todas las enzimas, en especial a las proteasas y amilasas.

Este cometido se resuelve mediante un lavavajillas para lavaplatos libre de fosfatos, que contenga:

- 35 a) Un 0,2% hasta un 7% en peso de granulado enzimático con un contenido en enzimas del 5,5 hasta el 30% en peso en sustancia activa de enzima, donde en el caso de la enzima se trata de una subtilisina, en la cual puede tratarse de una enzima de referencia o bien de una variante de subtilisina, por lo que en el caso de la enzima de referencia o de la enzima de partida de la variante se trata de la proteasa alcalina de *Bacillus amyloliquefaciens* (BPN') y donde en el caso de la enzima se trata de una variante la cual presenta una secuencia de identidad de al menos un 90% respecto a la proteasa de partida a nivel de aminoácido en toda la longitud de la variante;
- 40 b) Entre un 5 y un 60% en peso de citrato/ácido cítrico;
- c) Entre un 10 y un 60% en peso de carbonato

respecto al peso total del lavavajillas.

45 Además de los lavavajillas para lavaplatos sin fosfato antes mencionados otro objetivo de la presente invención es la utilización de un lavavajillas para lavaplatos conforme a la invención que elimine las impurezas que contengan albúmina en un procedimiento de lavado mecánico.

50 Otro objetivo de la presente invención es asimismo un procedimiento para el lavado de vajilla en una lavaplatos utilizando un lavavajillas conforme a la invención y que sirva para lavado a máquina.

55 Las ventajas que se consiguen con esta invención se ilustran con ayuda del ejemplo 1 de la presente invención, sin que la invención y sus formas de configuración se vean limitadas por ello. En él se documenta que en el empleo de un granulado enzimático concentrado conforme a la invención se pueda obtener una mejor potencia limpiadora. Este efecto depende sorprendentemente de la concentración final de la enzima correspondiente que se ajusta al medio en cuestión. Por el contrario en los medios correspondientes se puede obtener la misma potencia con una cantidad absoluta inferior de enzima, de manera que se puede conseguir un ahorro en sustancia y en el caso de un volumen preestablecido de dicho medio se dispone de más volumen para otras sustancias activas.

60 Los campos de aplicación de la presente invención comprenden todas las formas de presentación imaginables y/ convenientes de los lavavajillas conforme a la invención. Entre ellas se encuentran, por ejemplo, los medios sólidos, en forma de polvo, los medios líquidos en forma de gel o bien los medios pastosos, que pueden constar de varias fases, estar o no comprimidos. A ellos pertenecen, por ejemplo, los extrudados, granulados, comprimidos o bien

bolsitas, envasados tanto a granel como en porciones.

A continuación se describen con detalle los contenidos adecuados y las posibles formas de presentación.

5 Por un granulado enzimático se entiende cualquier forma de presentación sólida de enzimas, por ejemplo, Prills granulados, extrudados o bien partículas que se obtienen por goteo, tanto en forma revestida una o varias veces como en forma no revestida.

10 Este tipo de granulados enzimáticos son apropiados conforme a la invención para su incorporación a medios de lavado y/o limpieza, ya que básicamente no se desintegran en la fabricación de los medios correspondientes que contienen granulado enzimático y en su posterior almacenamiento y mantienen su actividad enzimática, de tal manera que la actividad enzimática pertinente en el momento de su empleo es tan elevada que se puede hablar de la enzima correspondiente así como de una sustancia activa del correspondiente medio.

15 Puesto que de acuerdo con el procedimiento de fabricación de los granulados las sustancias correspondientes son impulsadas por los aditivos, existe una cantidad importante en lo que se refiere al contenido en sustancia activa. Con ello se entiende el porcentaje en proteína enzimática activa, pura. Este porcentaje se ajusta en la fabricación de los granulados. Al mismo tiempo se puede realizar una determinación de la actividad enzimática correspondiente. Esto se realiza en una proporción específica enzimática respecto a la sustancia activa. Durante un almacenamiento pro-  
20 longado de los granulados la actividad enzimática disminuye debido a las influencias ambientales; de acuerdo con ello baja el contenido en sustancia activa. Por tanto es posible, por ejemplo mediante la valoración con un inhibidor de la enzima correspondiente medicar la actividad enzimática en un momento cualquiera y averiguar el contenido en sustancia activa.

25 Así se han fabricado en el ejemplo 1 de la presente solicitud dos granulados distintos de una proteasa alcalina, y con un contenido en sustancia activa de proteasa del 6,9% y del 4,5% en el granulado respectivo. Respecto a su fabricación se empleaba una preparación de esta proteasa con 5.797 unidades de proteasa (PE) por mg (determinadas según Tenside, tomo 7(1970), páginas 125-132). La pesada de 69 mg o bien 45 mg de 1 g de granulado daba lugar  
30 a los mencionados porcentajes del 6,9 ó 4,5% en peso de sustancia activa y granulado con aprox. 400.000 o aprox. 260.869 unidades de PE por g de granulado.

Los granulados de proteasa preferiblemente empleados se basan por tanto en aquellas preparaciones de proteasa, que poseen 3.000 hasta 9.000, preferiblemente 4.000 hasta 8.000, en particular 5.000 hasta 7.000, muy en particular  
35 5.500 hasta 6.500 unidades de proteasa por mg. Por ejemplo, para un contenido en sustancia activa del 10% en peso en el granulado se obtienen granulados de proteasa conforme a la invención con 300.000 hasta 900.000, 400.000 hasta 800.000, 500.000 hasta 700.000 o bien 550.000 hasta 650.000 unidades de proteasa por g de granulado.

40 Los granulados enzimáticos empleados conforme a la invención contienen un 5,5 hasta un 30% en peso de sustancia activa de enzima. En una configuración preferida el granulado enzimático el granulado enzimático tiene un contenido en enzimas creciente del 6,2 hasta el 30% en peso, del 6,4 hasta el 20% en peso, del 6,6 hasta el 17,5% en peso, preferiblemente del 6,8 hasta el 12% en peso de sustancia activa.

45 Tal como se ha descrito en el ejemplo 1 se obtiene una mejor potencia de lavado con los granulados de proteasa con un contenido del 6,9% en peso de sustancia activa en una fórmula de detergente que con aquellos cuyo contenido en sustancia activa es inferior al 5% en peso. Se trata por tanto del efecto sorprendente conforme a la invención.

50 Esto se puede conseguir básicamente con todo tipo de granulados enzimáticos manteniendo una concentración enzimática, independientemente de su concepción. Así numerosos granulados contienen sustancias concomitantes inertes como sustancias de relleno, en particular para facilitar la fabricación de los granulados y su estabilidad en el almacenamiento. Otras sustancias habituales en los granulados conforme a la invención son, por ejemplo:

- Materiales de relleno con densidad baja para ajustar un peso definido, específico comparativamente bajo;
- Agua o bien otros líquidos que influirán en la viscosidad del material que se va a tratar y en las propiedades  
55 físicas del granulado;
- Colorantes, por ejemplo pigmentos;
- Sustancias activas, que benefician o favorecen los granulados en los detergentes,
- Estabilizadores para incrementar la estabilidad enzimática

60 La subtilisina BPN', que procede de forma natural del *Bacillus amyloliquefaciens*, o bien del *B. subtilis* se conoce de los trabajos de Vasantha y cols (1984) en J. Bacteriol., Volumen 159, págs. 811-819 y de J.A. Wells y cols.(1983) en Nucleics Acids Research, volumen 11, páginas 7911-7925. La Subtilisina BPN' sirve especialmente en lo que se refiere a la numeración de las posiciones como enzima de referencia de la Subtilisina. Así por ejemplo se indican las

mutaciones puntuales referidas a todas las subtilisinas de la solicitud EP 251446 A1 en la numeración de la BPN', donde el objetivo de la solicitud se ha definido como "Proteasa B" por Fa. Procter & Gamble Comp., Cincinnati, Ohio, USA.

5 Las variantes BPN' de la solicitud EP 199404 A1 se conocen como "Proteasa A" por Procter & Gamble Comp. Las "Proteasas C" se caracterizan conforme a la invención WO 91/06637 A1 por otras mutaciones puntuales de la BPN'. En el caso de la "Proteasa D" se trata de variantes de la proteasa del *Bacillus lentus* (s.u.) de acuerdo con WO 95/10591 A1.

10 La WO9505440 describe un lavavajillas sin fosfato para lavaplatos, en forma de granulado o polvo, que contiene un 0 hasta un 8% en peso, o bien un 0,001-5% en peso, o bien un 0,003-4% en peso de enzimas, y entre un 10 y un 30% en peso de citrato, un 7-25% en peso de carbonato, un 11,4% en peso de percarbonato sódico y hasta un 10% en peso de tensoactivo no iónico. La WO9505440 contiene óxidos de amina con ácidos carboxílicos insaturados. Las enzimas se eligen entre las proteasas, amilasas y lipasas.

15 En una configuración preferida se emplea un granulado enzimático que en el caso de la proteasa se trata de una variante, la cual respecto a la proteasa de partida a nivel de aminoácidos y en toda la longitud de la variante presenta una identidad secuencial de al menos el 90%, preferiblemente de al menos el 92,5%, en particular de al menos el 95% y muy especialmente de al menos el 97,5%, independientemente de si se deriva de ésta únicamente o bien de otra enzima.

20 En una configuración asimismo preferida se emplea un granulado enzimático, donde en el caso de la variante de proteasa se trata de una variante con una mutación puntual en la posición 217 (numeración conforme a la proteasa de referencia del *Bacillus amyloliquefaciens*; BPN'), preferiblemente con una sustitución de un único aminoácido en esta posición, en particular con la sustitución del aminoácido X217L, que procede de la proteasa de referencia del *Bacillus amyloliquefaciens*; BPN'), o de una variante de la misma.

25 En la posición 217 en la numeración conforme a la proteasa de referencia del *Bacillus amyloliquefaciens*; BPN') se trata de la misma posición, que debe ser definida como posición 211 en la numeración según la proteasa alcalina *Bacillus lentus* o la Savinasa®. A través de mutaciones que mejoran la potencia en esta posición existen numerosas descripciones, por ejemplo la que aparece en WO 95/23221 A1 para la proteasa alcalina *Bacillus lentus*. Allí se mencionan las sustituciones L211 D y L211 E frente a esta proteasa.

30 El intercambio especialmente preferido conforme a la invención de un aminoácido cualquiera (X) frente a una leucina (L) en esta posición se deduce de la US 6908757 B1. De acuerdo con la invención se prefiere cuando parte de la proteasa de referencia del *Bacillus amyloliquefaciens*; BPN'), o de una variante del mismo. Este tipo de proteasas son comercializadas, por ejemplo, bajo el nombre comercial de Purafect Prime® de Fa. Genencor.

35 En una configuración preferida el granulado enzimático tiene un tamaño de grano de 0,1 mm hasta 2 mm y contiene un 2% en peso hasta un 20% en peso de proteasa, calculado como sustancia seca, un 10% hasta un 50% en peso de almidón capaz de hincharse, un 5% en peso hasta un 50% en peso de medio de granulado, que contiene un polímero orgánico soluble en agua, no más de un 10% en peso de sal soluble en agua y un 3% en peso hasta un 12% en peso de agua, que contiene un 10% en peso hasta un 35% en peso de harina de cereales.

40 La fabricación de dichos granulados es posible de acuerdo con la solicitud WO 92/11347 A1. De ella se deduce que la combinación de sustancias que se añaden al componente enzimático incluso en el empleo de caldos de fermentación poco concentrados garantiza una buena estabilidad de almacenamiento y una liberación rápida de las sustancias.

45 En una configuración preferida el granulado enzimático contiene la enzima y el material soporte orgánico y/o inorgánico así como los medios auxiliares de granulado, conteniendo como medio auxiliar de granulado un almidón fosfatado.

50 La fabricación de dichos granulados es posible de acuerdo con la solicitud WO 97/40128 A1. De ella se deduce que la adición de este medio auxiliar de granulado aumenta la velocidad de disgregación de los granulados enzimáticos fabricados y mejora con ello el lavado en las lavaplatos convencionales.

55 En una configuración preferida el granulado enzimático contiene de forma natural las sustancias concomitantes estabilizadoras formadas por los microorganismos empleados para la fermentación.

60 Tal como se ha descrito en la solicitud WO 2005/063975 A1, esto se puede conseguir de manera que a los granulados enzimáticos se incorporen los concentrados enzimáticos los cuales mediante cromatografía han sido desodorados y por tanto decolorados sin precipitación alguna. Esto ocurre preferiblemente cuando se parte de una solución

enzimática purificada, acuosa, que se ha sometido a una cromatografía de intercambio iónico, durante la cual la enzima interesada se mantiene en solución, (b) se ajusta a continuación una concentración adecuada y luego en la etapa (c) se realiza la granulación según los métodos conocidos.

5 En una configuración preferida el granulado enzimático se caracteriza por que las partículas de granulado contienen polioles higroscópicos.

10 La fabricación de dichos granulados es posible de acuerdo con la solicitud WO 2005/108539. De ella se deduce que este tipo de granulados sólidos presente una estabilidad al almacenamiento y una resistencia a la abrasión destacadas. En las configuraciones preferidas estos granulados se fabrican por extrusión. Los polioles higroscópicos preferidos se eligen entre el etilenglicol, propilenglicol, trietilenglicol, glicerina, monoglicéridos, diglicéridos, polietilenglicoles (PEG), polipropilenglicoles (PPG), alcoholes de polivinilo (PVA), polisacáridos, éteres de celulosa, alginatos, almidones modificados y sus hidrolizados, los polímeros y copolímeros de estos compuestos o sus copolímeros con otros polímeros, que se eligen entre los óxidos de polietileno, pirrolidonas de polivinilo (PVP) y gelatinas, en particular se eligen entre: Glicerina, celulosa, sorbitol, sacarosa y almidón. Preferiblemente se emplearán los polioles higroscópicos en una cantidad del 0,1 hasta el 10% en peso, en particular del 3 al 7% en peso.

En una configuración preferida el granulado enzimático contiene los componentes:

- 20 (a) La enzima,  
 (b) Un material soporte en forma de partículas (adsorbente)  
 (c) Una sustancia diferente de (b) como aglutinante y  
 (d) Otras sustancias opcionales distintas de (b) y (c),

25 Los cuales en su almacenamiento a 23°C en un sistema tampón acuoso, que consta de un 16% de sulfato potásico y de un 3% de citrato sódico en agua, básicamente no se desintegran durante un periodo de tiempo de 24 horas y a un pH de 5,0 ± 0,1.

30 La fabricación de dichos granulados es posible gracias a la solicitud no publicada DE 102006018780.6. De ella se deduce que incluso esta composición de estos granulados proporciona una estabilidad suficiente para el almacenamiento en fórmulas líquidas, incluso cuando no se revisten. Probablemente es preferible un revestimiento adicional (ver a continuación).

35 En las configuraciones preferidas aquí mencionadas los componentes (b) y (c) presentan un cociente en % en peso de (b) respecto a (c) de 1:50 frente a 50:1, preferiblemente de 1:20 frente a 20:1, en particular de 1:5 frente a 5:1. Además para los componentes mencionados se prefieren las siguientes cantidades:

- 40 (a) La enzima,  
 (b) 10-80% en peso de un material soporte en particular (adsorbente)  
 (c) 3-50% en peso de una sustancia distinta de (b) como aglutinante y  
 (d) Como otros opcionales, sustancias distintas de (b) y (c):  
 0-50% en peso (respecto al granulado) de plastificante,  
 0-50% en peso (respecto al granulado) de sustancia que mejora la solubilidad (medio hinflante, medio auxiliar de desintegración, disgregante) y/o  
 0-40% en peso (respecto al granulado) de agua, estabilizadores enzimáticos, colorantes, pigmentos colorantes, sustancias tampón de pH, antioxidantes, la densidad de compuestos reguladores y/o otras sustancias.

50 Los componentes preferidos (b)(adsorbente) son uno o varios de los compuestos, elegidos del grupo: talco, ácido silícico, óxido de aluminio, silicato, en particular silicato en capas y/o silicato de aluminio sódico, bentonita, aluminosilicatos (zeolita), sulfato, dióxido de titanio y/o alcohol e polivinilo (PVA), en particular PVA parcialmente hidrolizado y se prefiere una combinación de dos o tres de estos compuestos.

55 Los componentes preferidos (c) (aglutinantes) son uno o varios de los compuestos elegidos del grupo: poliácridatos, polimetacrilatos, polivinilpirrolidona, polisacáridos o polisacáridos sustituidos, en particular éter de celulosa, alcohol de polivinilo (PVA), en particular PVA parcialmente hidrolizado o etoxilado, un copolímero de los compuestos mencionados, en particular el copolímero de ácido metacrílico-acrilato de etilo, en especial una combinación de dos o tres de estos compuestos.

60 Como parte de los componentes (d)(plastificantes) se conocen uno o varios compuestos, elegidos del grupo: compuesto orgánico dispersable en agua o polímero orgánico dispersable en agua, en particular el polietilenglicol (PEG), el PEG de cadena corta, los ácidos grasos o sales de un ácido graso, triacetina, citrato de trietilo y/o alcoholes polivalentes, preferiblemente un ácido graso o sal de un ácido graso, en particular el estearato sódico y/o el oleato sódico.

Como parte de los componentes (d) (mejorantes de la solubilidad) se conocen uno o varios compuestos, elegidos del grupo: sal inorgánica soluble en agua, monosacáridos, en particular la glucosa, oligosacáridos, polisacáridos, en particular la celulosa, la celulosa o un derivado de celulosa compactada, el polímero orgánico reticulado, la polivinilpirrolidona reticulada o el poliacrilato reticulado.

5 Una configuración preferida es un granulado enzimático conforme a la invención, que presenta un revestimiento (Coating).

10 Las configuraciones de la presente invención comprenden tal como se ha dicho todas las formas de presentación, imaginables y/o adecuadas, de lavavajillas conforme a la invención.

15 Los granulados enzimáticos que se emplean conforme a la invención se combinan en los medios conforme a la invención con una o varias de las sustancias siguientes: tensoactivos no iónicos, aniónicos, catiónicos o anfóteros, blanqueantes, activadores del blanqueo, catalizadores del blanqueo, sustancias soporte, disolventes, espesantes, medios secuestrantes, electrolitos, blanqueadores ópticos, inhibidores del engrisamiento, inhibidores de la corrosión, en particular protectores de la plata, repelentes de la suciedad, transmisores o inhibidores del color, inhibidores de espuma, sustancias abrasivas, colorantes, aromatizantes, sustancias antimicrobianas, protectores de rayos UV, otros enzimas (asimismo granulados conforme a la invención) como por ejemplo, proteasas, amilasas, lipasas, celulasas, hemicelulasas o bien oxidasas, estabilizadores, en particular estabilizadores enzimáticos y otros componentes conocidos del estado de la técnica.

Sorprendentemente se ha descubierto que los medios presentan unas propiedades especialmente preferidas cuando los granulados de proteasa se combinan con sustancias especiales. Se destacan las siguientes combinaciones:

- 25 - Combinación con carboximetilcelulosa para mejorar las propiedades "soil-release (apresto de lavado facilitado)
- Combinación con blanqueantes para una mayor eliminación de la suciedad;
- Combinación con otras proteasas para un mayor rendimiento de los medios correspondientes en la mancha sensible a la proteasa debida a huevo, leche, carne y sangre;
- 30 - Combinación con beta-glucanasa y/o mananasa para un efecto mayor en manchas complejas, que contienen almidón y/o otros polisacáridos vegetales, en particular aquellos que proceden de medios espesantes vegetales como los que se emplean en los alimentos de fabricación industrial;
- Combinación con un medio soporte insoluble, en particular con la zeolita para una potencia mayor en comparación con una sustancia soporte disuelta;
- 35 - Combinación con sales de zinc, aluminio, calcio, magnesio y/o bismuto;
- Combinación con amilasas para un mayor eficacia en las manchas de cacao, albúmina, almidón;
- Combinación con polímeros que contienen grupos de ácido sulfónico, polímeros modificados por grupos hidrófobos y/o polímeros modificados por grupos anfóteros o catiónicos para mejorar el resultado global conseguido en el lavado a máquina (ver antes):
- 40 - Combinación con sustancias soporte, en particular el ácido diacético de metilglicina o el diacetato de metilglicina (MGDA), ácido diacético de glutamina o bien el diacetato de ácido glutamínico (GLDA), ácido diacético de ácido asparagínico o acetato de ácido asparagínico (ASDA), ácido diacético de N-(2-hidroxi-etil)imido o bien diacetato de N-(2-hidroxi-etil)imido (HEIDA), ácido iminodisuccínico o succinato de imina (IDS), ácido hidroxí-iminosuccínico o bien el hidroxí-iminodisuccinato (HIDS) y/o el ácido etilendiamina-N,N'-disuccínico o bien etilendiamina-N,N'-disuccinato (EDDS); y
- 45 - Combinación con tensoactivos no iónicos especiales como los éteres mixtos con grupos hidroxí que se explican con más detalle a continuación.

50 Los efectos o las acciones especialmente preferidas de estas soluciones se consiguen también con estas combinaciones que por ello pasan a ser también de gran preferencia.

Los lavavajillas conforme a la invención en los cuales el granulado enzimático comprende además de la enzima un material soporte inorgánico y/o orgánico así como un almidón fosfatado como medio auxiliar de granulado presentan una potencia de lavado especialmente preferida.

55 También la adición de polioles higroscópicos a los granulados enzimáticos y el revestimiento de los granulados enzimáticos resulta ser ventajoso para la estabilidad del producto y para la estabilidad en el almacenamiento y se prefiere.

60 La mejoría en el perfil de potencia se ha logrado también en aquellos lavavajillas para máquina que tienen

- Un porcentaje en peso de granulado enzimático entre el 0,2 y el 0,7%, preferiblemente entre el 0,4 y el 0,6% y en particular entre el 0,6 y el 0,5%, respecto al peso total del lavavajillas para máquina
- Un porcentaje en peso de citrato/ácido cítrico entre el 5 y el 60%, preferiblemente entre el 7 y el 50% y en particular entre el 10 y el 40%, respecto al peso total del lavavajillas para máquina

- Un porcentaje en peso de carbonato entre el 10 y el 60%, preferiblemente entre el 15 y el 50% y en particular entre el 20 y el 40%, respecto al peso total del lavavajillas para máquina

Dichos lavavajillas para máquina son los preferidos conforme a la invención.

5 El término "cittrato" comprende las sales de ácido cítrico, en particular sus sales alcalinas como, por ejemplo, el citrato sódico.

10 El término "carbonato" comprende las sales de ácido carbónico, en particular los carbonatos y bicarbonatos. Se prefieren especialmente los carbonatos alcalinos, en especial el carbonato sódico y el bicarbonato sódico así como el carbonato potásico. Los percarbonatos como el percarbonato sódico no se encuentran en el grupo de los carbonatos.

15 Los lavavajillas conforme a la invención, que además de un granulado enzimático que contiene proteasa conforme a la invención contienen un sistema soporte de citrato/ácido cítrico/sistema soporte de carbonato, son especialmente adecuados para eliminar las manchas que contienen albúmina en las lavaplatos, por lo que la utilización del medio correspondiente para eliminar impurezas que contienen albúmina en un método de lavado a máquina es otro objetivo de la presente invención.

20 La acción conforme a la invención de los granulados enzimáticos antes mencionados se puede incrementar si se añaden sistemas soporte de citrato/ácido cítrico/carbonato pero también si se añaden polímeros que contienen grupos de ácido sulfónico así como mediante una estabilización química y/o física de los granulados enzimáticos. En lo que se refiere a su estabilidad en la producción y el almacenamiento se ha demostrado que se prefieren los granulados enzimáticos que presentan un contenido en sustancia activa entre el 5,5 y el 30% en peso y en particular entre el 6,0 y el 12% en peso. El empleo de los correspondientes granulados enzimáticos es el preferido conforme a la invención.

30 Una configuración preferida es un lavavajillas conforme a la invención que contiene como granulado enzimático un granulado de proteasa conforme a la invención, en el cual el medio presenta un contenido de 0,000001 hasta 5, preferiblemente de 0,00005 hasta 0,1, en particular de 0,00001 hasta 0,072 % en peso de proteína enzimática de esta proteasa granulada, respecto a la fórmula global del detergente, por lo que se prefiere para un lavavajillas de lavaplatos un 0,003 hasta un 0,13% en peso de proteína enzimática de esta proteasa granulada, respecto a la fórmula total del medio.

35 Estos valores hacen referencia a la fórmula global del medio correspondiente y se consideran como los preferidos en lo que se refiere a la potencia de lavado de estos medios. Dichos valores de concentración se podrán ajustar pesando del modo correspondiente los granulados enzimáticos conforme a la invención. Puesto que se trata de concentrados elevados la ventaja es que en comparación con los granulados enzimáticos poco concentrados queda más volumen residual en el medio, que se puede aprovechar para otras sustancias activas.

40 Una configuración preferida es un lavavajillas conforme a la invención que contiene como granulado enzimático adicional un granulado conforme a la invención de una celulasa (Endoglucanasa o bien celobiohidrolasa o una mezcla de los mismos), beta-glucanasa y/o mananasa, por lo que el medio presenta un contenido del 0,000001 hasta 5, preferiblemente de 0,00005 hasta 0,1, en particular de 0,00001 hasta 0,072 % en peso de proteína enzimática de esta proteasa granulada, (Endoglucanasa o bien celobiohidrolasa o una mezcla de los mismos), beta-glucanasa y/o mananasa donde se prefiere para un lavavajillas de lavaplatos la concentración del 0,001 hasta el 0,0072% en peso y para el detergente de tejidos la del 0,0009 hasta el 0,04% en peso, respecto a la fórmula total del medio, y donde para la celulasa la concentración preferida para el detergente de tejidos es del 0,0007 hasta el 0,005% en peso respecto a la fórmula global del medio.

50 Todo lo dicho sirve igualmente para las concentraciones de proteasa.

55 Es conocido por todos que la potencia de las enzimas se ve influida desfavorablemente por los medios blanqueantes. Por lo que resultó sorprendente que se pudiera constatar que los detergentes o medios de lavado conforme a la invención presentarían una potencia muy mejorada si contenían blanqueantes. Sorprendentemente estos efectos se hallaron tanto en detergentes líquidos como sólidos.

60 Una configuración preferida es por tanto un detergente o medio de lavado conforme a la invención que contenga un blanqueante o un sistema de blanqueo a base de varios componentes.

Una configuración preferida a continuación es la de un detergente conforme a la invención en el cual el medio blanqueante o bien un componente del sistema de blanqueo sea un compuesto orgánico o inorgánico y/o una enzima oxidativa, de manera que la enzima oxidativa se presente preferiblemente en forma de un granulado conforme a la

invención.

5 Una configuración preferida es un detergente o medio de lavado conforme a la invención en el cual el medio blanqueante o bien un componente del sistema de blanqueo sea un percarbonato, perborato, ácido ftalimidoperoxihexánico (PAP) y/o una oxidasa, o bien al que en un último caso se añada un sustrato de esta oxidasa.

10 En una configuración preferida de la invención los medios contienen percarbonato, en particular una combinación de percarbonato y el activador de blanqueo TAED. En otra configuración preferida de la invención los medios contienen ácido ftalimidoperoxihexánico (PAPA), si fuera preciso en combinación con TAED.

15 En los lavavajillas para máquina se ha constatado en lo que se refiere al efecto abrillantador una acción sorprendentemente positiva en la combinación de polímeros de abrillantado (ver a continuación) o bien de un tensoactivo abrillantador con un granulado empleado conforme a la invención. Este efecto positivo se observa especialmente en que el número de manchas de agua al emplear un lavavajillas conforme a la invención, que contiene un polímero de abrillantado o bien un tensoactivo de abrillantado, se reduce claramente.

20 Una configuración preferida es un detergente conforme a la invención en el cual el polímero contiene grupos de ácido sulfónico.

20 Como polímeros que contienen grupos de ácido sulfónico se emplean preferiblemente aquellos copolímeros de ácidos carbónicos insaturados, monómeros que contienen grupos de ácido sulfónico y si se diera el caso otros monómeros ionógenos o no ionógenos.

25 Una configuración preferida es un detergente o medio de lavado conforme a la invención, en el cual el polímero es un polímero aniónico o catiónico.

Los ejemplos adecuados para ello son los sulfopolímeros y los poliacrilatos, como por ejemplo los comercializados por la empresa Rhodia bajo el nombre de Mirapol®.

30 Los "polímeros catiónicos" en el sentido de la presente invención son los polímeros que tienen una carga positiva en la molécula polimérica. Puede tratarse de agrupaciones de alquilamonio presentes en la cadena polimérica o bien de otros grupos cargados positivamente. Los polímeros catiónicos especialmente preferidos proceden de los grupos de derivados cuaternarios de celulosa, de los polisiloxanos con grupos cuaternarios, de los derivados catiónicos de goma guar, de las sales poliméricas de dimetildialilamonio y de sus copolímeros con ésteres y amidas de ácido acrílico y ácido metacrílico, de los copolímeros de vinilpirrolidona con derivados cuaternarios del acrilato y metacrilato de dialquilamina, de copolímeros de vinilpirrolidona-cloruro de metoimidazolinio, de alcoholes cuaternarios de polivinilo o bien de los polímeros conocidos según las denominaciones de la INCI como Polyquaternium 2, Polyquaternium 17, Polyquaternium 18 y Polyquaternium 27.

40 Una configuración preferida es un detergente conforme a la invención en el cual el polímero sea un polímero abrillantador.

45 Estos polímeros no se definen propiamente por su composición sino por su función. Facilitan la limpieza en superficies sólidas, por ejemplo, en lavadoras facilitan el correr del agua y evitan la formación de manchas que se atribuyen a gotas de agua secas.

50 Como polímeros abrillantadores adecuados se habla en la solicitud DE 10032612 A1 de los sulfopolímeros que ya hemos mencionado anteriormente. Se trata de copolímeros de (i) ácidos carboxílicos insaturados, (ii) monómeros que contienen grupos de ácido sulfónico y (iii) otros monómeros iónicos o no ionógenos. Dichos polímeros aparecen descritos en la solicitud WO 2005/108540 A1 en el campo de las fórmulas de lavavajillas en combinación con una amilasa especial. En las configuraciones especialmente preferidas de la presente invención se trata por tanto de medios con dichos polímeros y alfa-amilasas granuladas conforme a la invención, en especial las alfa-amilasas que asimismo se mencionan en WO 2005/108540 A1.

55 Otra configuración preferida es un detergente conforme a la invención, preferiblemente con un polímero abrillantador, donde en el caso de dicho polímero se trata de un polímero modificada catiónica o anfóteramente.

60 Los "polímeros anfóteros" en el sentido de la presente invención contienen además de un grupo de carga positiva en la cadena polimérica también grupos de carga negativa o bien unidades monoméricas. En estos grupos puede tratarse por ejemplo de ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos o ácidos fosfónicos.

En particular se prefieren este tipo de lavavajillas, en los cuales el contenido en agua del medio sólido o bien de la fase sólida es del 1 al 20% en peso, preferiblemente del 3 al 18% en peso y en particular de cómo máximo un 15%

en peso. Ejemplos de contenidos en agua especialmente preferidos de los medios conforme a la invención en forma sólida o de la fase sólida, que contiene el granulado conforme a la invención, son el 5% en peso, el 10% en peso, el 12% en peso o el 15% en peso, donde también son posibles todos los valores intermedios.

5 Una configuración preferida es un lavavajillas sólido conforme a la invención que se caracteriza por que las fases sólidas se presentan en forma comprimida, preferiblemente en forma de un material moldeado a modo de pastillas.

10 La fabricación de este material moldeado, que se ha considerado como una única unidad de dosificación se realiza preferiblemente en un proceso de fabricación de comprimidos o pastillas, extrusión o compactación. La fabricación de pastillas se realiza preferiblemente tal como ha definido el experto mediante la compresión de sustancias de partida. Para fabricar los comprimidos o pastillas se espesa la mezcla previa en una matriz entre dos troqueles hasta obtener una pastilla sólida. Este proceso que se conoce como fabricación de pastillas se divide en cuatro etapas: Administración, compactación (deformación elástica), deformación plástica y expulsión. La fabricación de pastillas se realiza preferiblemente en las conocidas prensas de giro o marcha concéntrica.

15 En la fabricación de comprimidos con prensas de marcha concéntrica se ha comprobado que la fabricación de pastillas se debe realizar a ser posible con oscilaciones de peso mínimas de la pastilla. De este modo se podrán reducir las oscilaciones de dureza de la pastilla. Se pueden lograr unas oscilaciones de peso mínimas del modo siguiente. Para reducir las incrustaciones en los machos o troqueles existen los conocidos revestimientos antiadherentes. Se prefieren los revestimientos de plástico, las capas de plástico o los sellos o machos de plástico. También se ha demostrado que son preferibles los troqueles giratorios por lo que debe existir la posibilidad de que gire el macho superior y el inferior. En el caso de machos o troqueles giratorios se evitará en general una capa de plástico. EN este caso las superficies de los machos deberían estar electropulidas.

20 Cada una de las fases de las pastillas de dos o varios fases se disponen preferiblemente en capas. Las pastillas presentan pues dos, tres, cuatro o más capas.

25 Preferiblemente al menos una de las capas presenta una cavidad. El término "cavidad" equivale en el ámbito de la presente invención a un hueco que por ejemplo se encuentra en la superficie de la base y/o del techo del material moldeado.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

35 Comparación de la potencia de los granulados conforme a la invención con los granulados poco concentrados en un lavavajillas para máquina.

40 Para comparar los granulados conforme a la invención con aquellos del estado de la técnica se preparaba inicialmente la siguiente fórmula sin proteasa para un lavavajillas sólido para lavaplatos:

Componente	Contenido (% en peso)
Tripolifosfato sódico	40-50
Tensoactivo no iónico	3-8
Copolímero de ácido acrílico/ácido sulfónico	5-10
Polímero de ácido acrílico	5-10
Percarbonato sódico	10
Carbonato sódico	10-15
Granulado de amilasa conforme a DE 102005062984.9 (no conforme a la invención)	0,5-1,5
Acetato de zinc	0,5-1
Agua, sales, colorantes	Hasta un 100%

45 Además se preparaban dos granulados distintos de proteasa alcalina F49 de *Bacillus lentus* DSM 5483 conforme a WO 95/23221. La preparación se realizaba según WO 97/40129 A1 y WO 98/26037 A2. La proteasa se pesaba respecto a un 4,5% en peso de sustancia activa (estado de la técnica) o bien a un 6,9% en peso de sustancia activa (invención), respecto al granulado. La comparación del peso se efectuaba sobre toda la fórmula completa para el núcleo del granulado (sin revestimiento).

50 Para fabricar los granulados se había empleado una preparación de esta proteasa con 5.797 unidades de proteasa (PE) por mg, según el método descrito en Tenside, tomo 7(1970), página 125-132. Las 5.797 unidades PE equivalen aproximadamente a 3,4782 KNU (unidades Kilo-Novo-Protease). La pesada de 45 mg o 69 mg de 1 g de granulado aportaba los mencionados porcentajes del 4,5 o del 6,9% en peso y granulados con aproximadamente 260.869 o

bien 400.000 PE por g de granulado.

5 En las fórmulas globales para lavavajillas, que parten de la fórmula básica antes mencionada (idéntica en todos los lotes) y de los distintos granulados de proteasa, se han ajustado las concentraciones finales indicadas en la tabla siguiente. La comparación del peso se realizaba aquí respecto al tripolifosfato de sodio.

Lote	Contenido en sustancia activa de proteasa en el granulado (% en peso)	Concentración del granulado en el medio (% en peso)	Concentración de proteasa en el medio (% en peso)	Actividad de la proteasa en el medio (PE/g)
1	4,5	4,5	0,2025	11.739
2	6,9	2,93	0,20217	11.720
3	6,9	4,5	0,3105	18.000

10 Partiendo de las fórmulas se comprimían las pastillas de una sola fase bajo una presión de 25 N/cm<sup>2</sup> en una prensa de fabricación de comprimidos de la empresa Paul-Otto Weber Maschinen + Apparatebau GmbH.

15 Vasos con superficies duras, lisas se manchaban con huevo/leche de forma estándar y se lavaban en una lavaplatos convencional de uso doméstico, es decir a 50°C con el programa normal de la lavaplatos del tipo Miele® ECOSENSOR G 651 SC Plus-3. Por fase de lavado se empleaban respectivamente 20 g de medio de lavado 1, 2 ó 3. La dureza del agua era de 21° de dureza alemana. La potencia se determinaba como la capacidad erosiva en las chapas maleables conforme a la SOFW-Journal 11/1998, págs 1022 hasta 1034.

20 Tras el lavado se averiguaba gravimétricamente en tanto por ciento el volumen de erosión de las impurezas. Para ello se empleaba la diferencia de peso del vaso sucio y seguidamente lavado y el peso inicial del vaso en relación a la diferencia de peso del vaso no lavado respecto al peso inicial. Esta relación se puede considerar como el porcentaje de erosión. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente; allí se indican los valores medios de las correspondientes 8 mediciones.

25

Lote	Erosión en %
1	77
2	81,5
3	88

30 Comparando los lotes 1 y 2, que se diferencian únicamente en la concentración de la sustancia activa en el granulado, pero no en la concentración final de proteasa en el medio, se observa lo siguiente: Solamente el aumento de la concentración de sustancia activa en el granulado conduce a una mejoría de la potencia limpiadora, incluso cuando la concentración final no varía (sino que disminuye ligeramente). Debido a que la concentración final no sufre cambios se debería esperar una misma potencia.

35 Comparando los lotes 2 y 3 que no se diferencian en la concentración de sustancia activa en el granulado, pero si en la concentración final de proteasa en el medio, se observa lo siguiente: Aumentando la concentración final de proteasa puede aumentar todavía más la potencia que se atribuye a la mayor concentración de granulado.

#### Ejemplo 2

40 Para explicar mejor la combinación preferida de granulados enzimáticos conforme a la invención con polímeros que contienen grupos de ácido sulfónico se han fabricado las fórmulas siguientes para lavavajillas tipo pastillas para lavaplatos:

Componente	E1 (% en peso)	V1(% en peso)	V2(% en peso)
Citrato sódico	25	37	25
MGDA	8	8	8
HEDP	2	2	2
Silicato de sodio	2	2	2
Carbonato de sodio	28	28	28
Poliacrilato	1	1	1
Percarbonato sódico	10	10	10
Activador de blanqueo/catalizador	2,5	2,5	2,5

## ES 2 411 731 T3

Tensoactivo no iónico	5	5	5
Polímero que contiene grupos de ácido sulfónico	12	--	12
Granulado de proteasa	2,5*	2,5*	3,8**
Agua, sales, colorantes	Hasta 100%	Hasta 100%	Hasta 100%
*Granulado enzimático con un contenido en enzimas del 6,9% en peso en sustancia activa de enzima			
**Granulado enzimático con un contenido en enzimas del 4,5% en peso en sustancia activa de enzima			

Las fórmulas han dado lugar a comprimidos o pastillas con un peso de 20 g.

- 5 Vasos con superficies duras, lisas se manchaban con carne picada asada de forma estándar y se lavaban en una lavaplatos en un programa estándar a 40°C (Bosch 57M22EU). Por de lavado se colocaba en el dispositivo dosificador de la lavaplatos una pastilla (20 g) de la composición antes mencionada. La estimación de la suciedad después del lavado daba el resultado siguiente:

Ensayo	E1	V1	V2
Potencia de limpieza	5,8	3,8	3,2

- 10 Escala de valoración de la limpieza: 10 = ninguna mancha hasta 0 = suciedad total

Ejemplo 3

- 15 Para explicar mejor la combinación preferida de granulados enzimáticos conforme a la invención con sistemas soporte citrato/ácido cítrico/carbonato se han fabricado las fórmulas siguientes para lavavajillas tipo pastillas para lavaplatos:

Componente	E1 (% en peso)	V1(% en peso)
Fosfato	--	37
Citrato sódico	37	--
HEDP	0,8	0,8
Silicato de sodio	2,0	2,0
Carbonato de sodio	40	40
Percarbonato sódico	10	10
Activador de blanqueo/catalizador	3,3	3,3
Tensoactivo no iónico	2,0	2,0
Granulado de proteasa	2,2*	2,2*
Amilasa	0,5	0,5
Agua, sales, colorantes	Hasta 100%	Hasta 100%
*Granulado enzimático con un contenido en enzimas del 6,9% en peso en sustancia activa de enzima		

Las fórmulas han dado lugar a comprimidos o pastillas con un peso de 18 g.

- 20 Vasos con superficies duras, lisas se manchaban de forma estándar según el método IKW para determinar la potencia limpiadora de los lavavajillas o detergentes de lavaplatos y se lavaban en una lavaplatos (Miele G698SC) en un programa estándar a 50°C. Por lavado se colocaba en el dispositivo dosificador de la lavaplatos una pastilla (18 g) de la composición antes mencionada. La estimación de la suciedad después del lavado daba el resultado siguiente:

Ensayo	E1	V1
Potencia de limpieza	9.0	8.0

- 25 Escala de valoración de la limpieza: 10 = ninguna mancha hasta 0 = suciedad total

**REIVINDICACIONES**

- 5
- 10
- 15
- 20
1. Detergente o lavavajillas sin fosfatos para lavaplatos, que contiene, respecto al peso total del lavavajillas
    - a) Un 0,2% hasta un 7% en peso de granulado enzimático con un contenido en enzimas del 5,5 hasta el 30% en peso en sustancia activa de enzima, donde en el caso de la enzima se trata de una subtilisina, de manera que puede tratarse de una enzima de referencia o bien de una variante de subtilisina, por lo que en el caso de la enzima de referencia o de la enzima de partida de la variante se trata de la proteasa alcalina de *Bacillus amyloliquefaciens* (BPN<sup>1</sup>) y donde en el caso de la enzima se trata de una variante la cual presenta una secuencia de identidad de al menos un 90% respecto a la proteasa de partida a nivel de aminoácido en toda la longitud de la variante;
    - b) Entre un 5 y un 60% en peso de citrato/ácido cítrico;
    - c) Entre un 10 y un 60% en peso de carbonato.
  2. Utilización de un detergente para lavaplatos conforme a la reivindicación 1, para eliminar manchas que contienen albúmina en un proceso de lavado en lavaplatos.
  3. Método para el lavado de vajilla en una lavaplatos que utiliza un detergente o lavavajillas para lavaplatos conforme a la reivindicación 1.