

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 417 754**

51 Int. Cl.:

**C11D 3/386** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.05.2009 E 09749563 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2013 EP 2300587**

54 Título: **Agentes de lavado y limpieza**

30 Prioridad:

**17.05.2008 DE 102008024084**

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

**09.08.2013**

73 Titular/es:

**CLARIANT FINANCE (BVI) LIMITED (50.0%)  
Citco Building Wickhams Cay P.O. Box 662  
Road Town, Tortola, VG y  
C-LECTA GMBH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**REINHARDT, GERD;  
SCHOLZ, HANS JÜRGEN;  
CZAJA, RICO;  
GREINER-STOEFFELE, THOMAS y  
STRUHALLA, MARC**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 417 754 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**

## Agentes de lavado y limpieza

El presente invento se refiere a unos agentes de lavado o limpieza que contienen enzimas, los cuales, junto a los componentes usuales, contienen unas combinaciones de clorofilasas y galactolipasas.

5 Los agentes de lavado, junto a las sustancias constituyentes imprescindibles para el proceso de lavado, tales como agentes tensioactivos y materiales mejoradores de detergencia, contienen por regla general otros componentes, que se pueden recopilar dentro del concepto de sustancias auxiliares del lavado y que abarcan los grupos de sustancias activas tan diferentes como agentes reguladores de la espuma, agentes inhibidores del agrisamiento, agentes de blanqueo y agentes inhibidores de la transferencia de color. A tales sustancias auxiliares pertenecen también unas  
10 sustancias que apoyan el rendimiento del agente tensioactivo mediante la degradación enzimática de los ensuciamientos que se encuentran sobre el material textil. Lo mismo es válido oportunamente también para agentes de limpieza para superficies duras. En este caso, junto a las proteasas que apoyan la eliminación de proteínas y a las lipasas que disocian a las grasas, les corresponde una importancia especial a las amilasas, que tienen la misión de facilitar la eliminación de ensuciamientos que contienen almidones mediante la hidrólisis catalítica del  
15 polisacárido almidón, y a las celulasas.

Otras sustancias constituyentes usuales de agentes de lavado y limpieza son unas sustancias activas, que deben dar lugar a la eliminación de ensuciamientos coloreados tales como manchas de té o de vino tinto. Para esto se utilizan los compuestos peroxigenados inorgánicos, en particular peróxido de hidrógeno y los compuestos peroxigenados sólidos, que se disuelven en agua mediando puesta en libertad de peróxido de hidrógeno, tales como  
20 el perborato de sodio y el carbonato de sodio perhidrato, desde hace mucho tiempo como agentes de oxidación para las finalidades de desinfección y blanqueo. El efecto de oxidación de estas sustancias depende grandemente de la temperatura en soluciones diluidas. A unas temperaturas más bajas, el efecto de oxidación de los compuestos peroxigenados inorgánicos puede ser mejorado mediante una adición de los denominados agentes activadores del blanqueo. Aquí entran en cuestión sobre todo unos compuestos tomados de las clases de sustancias de  
25 compuestos N- u O-acílicos, por ejemplo alquilendiaminas aciladas múltiples veces o ésteres de ácidos carboxílicos. Mediante la adición de estas sustancias, el efecto blanqueador de los baños acuosos de tratamiento con peróxidos se puede aumentar hasta tal grado que ya a unas temperaturas situadas por debajo de 60 °C aparecen en lo esencial los mismos efectos que con el baño de tratamiento con peróxidos a solas a una temperatura de 95 °C. La técnica relevante la constituyen el documento de solicitud de patente de los EE.UU. US 2008/0070291 y el  
30 documento de solicitud de patente internacional WO 2006/099866.

Con frecuencia, las enzimas y el sistema de blanqueo se complementan en su efecto, y también con frecuencia se observan incluso unos efectos sinérgicos. Un conjunto de ensuciamientos especialmente tenaces lo constituyen los ensuciamientos que contienen clorofila, en particular las manchas causadas por hierbas o por hojas, que no se pueden eliminar en grado suficiente ni por las enzimas hasta ahora utilizadas ni tampoco por el sistema de blanqueo.  
35 Se manifiesta como problemático en ese contexto el hecho de que la clorofila no está combinada en forma libre sino en combinación con otros componentes vegetales hidrófobos o que contienen proteínas, con lo cual se dificulta el ataque de los sistemas de blanqueo sobre el cromóforo.

Las clorofilasas (EC 3.1.1.14), que como enzimas hidrolíticas catalizan la disociación de clorofila o feofitina para dar clorofilida o feoforbida y fitol, ya se conocen desde hace aproximadamente 100 años. Mediante la reacción de la  
40 clorofilasa con la clorofila se mejora esencialmente la solubilidad en agua del sistema cromóforo. Las lipasas se emplean entretanto ya de una manera rutinaria en las formulaciones de agentes de lavado y limpieza para la eliminación de manchas causadas por lípidos o grasas. Estas enzimas eliminan en este caso los ensuciamientos que contienen grasas mediante una hidrólisis de uno o varios compuestos ésteres de triacilglicéridos, así como de fosfolípidos. Un conjunto especial de lipasas lo constituyen las galactolipasas, que de  
45 manera exclusiva o junto a los triacilglicéridos y los fosfolípidos disocian a uno o más enlaces de ésteres de galactolípidos.

El empleo, especialmente, de galactolipasas en formulaciones comerciales de agentes de lavado y limpieza, no se ha descrito todavía hasta ahora.

En los galactolípidos, uno o varios radicales de galactosa están unidos con la posición sn-3 de los diacilglicéridos.  
50 Los galactolípidos son los componentes principales de unas membranas fotosintéticamente activas y por lo tanto se pueden encontrar sobre todo en plantas y en bacterias fotosintéticamente activas. En estas membranas con galactolípidos están embebidas las moléculas de clorofila. Se encuentran galactolipasas, por ejemplo, en las plantas, presentándose ellas en este caso principalmente en los cloroplastos. Otras fuentes de enzimas galactolipolíticas son las lipasas procedentes del tracto digestivo de animales mamíferos y ya se han detectado estas actividades también  
55 en microorganismos.

De modo sorprendente, se encontró, por fin, que la combinación de clorofilasas y galactolipasas conduce a unos inesperados mejoramientos sinérgicos del rendimiento contra ensuciamientos que contienen clorofila, de manera tal que esta combinación de enzimas es apropiada especialmente para el empleo en agentes de lavado y limpieza.

5 Son objeto del invento unos agentes de lavado o limpieza que contienen una combinación de una clorofilasa y de una hidrolasa, que es una galactolipasa.

Mediante la utilización de esta combinación de una clorofilasa y de por lo menos otra hidrolasa, que es una galactolipasa, se aumenta el rendimiento de limpieza de las agentes de lavado y limpieza en particular frente a ensuciamientos coloreados, basados en clorofila, en particular en unas soluciones acuosas de lavado y limpieza, que contienen un compuesto peroxigenado. El concepto de rendimiento de limpieza frente a ensuciamientos coloreados se ha de entender en este caso en su significado más amplio y abarca tanto el blanqueo de una suciedad que se encuentra sobre el material textil, el blanqueo de una suciedad desprendida del material textil, que se encuentra en el baño de lavado, como también la destrucción por oxidación de colores de materiales textiles que se encuentran en el baño de tratamiento de lavado, los cuales se desprenden en las condiciones de lavado desde los materiales textiles, antes de que ellos puedan fijarse sobre materiales textiles de otro color distinto. También en el caso del empleo en soluciones de limpieza para superficies duras, se entiende dentro de este concepto tanto el blanqueo de una suciedad, en particular de té, que se encuentra sobre la superficie dura, como también el blanqueo de una suciedad desprendida desde la superficie dura, que se encuentra en el baño de lavado de vajillas.

Como un componente, el agente de lavado o limpieza de acuerdo con el invento contiene una clorofilasa. Como clorofilasas se utilizan principalmente unas enzimas vegetales, preferiblemente unas enzimas procedentes de la naranja (*Citrus sinensis*) o del trigo (*Triticum aestivum*). Para el empleo en los productos de acuerdo con el invento, las enzimas pueden ser producidas por vía recombinante por ejemplo en *Escherichia coli* o *Pichia pastoris* y a continuación se pueden purificar con métodos clásicos a partir del extracto citoplasmático en bruto o del material sobrenadante del cultivo.

Como otro componente, el agente de lavado o limpieza de acuerdo con el invento contiene una galactolipasa. Las galactolipasas utilizadas pueden ser, por un lado, de origen procariótico, por ejemplo pueden proceder de *Pseudomonas* sp. o *Chromobacter* sp. Por otro lado, se pueden emplear también galactolipasas eucarióticas, procedentes de levaduras, de hongos, así como de fuentes vegetales o animales, por ejemplo de *Candida* sp., de habas (*Phaseolus vulgaris*), de patatas (*Solanum tuberosum*), de cobayas (*Cavia porcellus*), de caballos (*Equus caballus*) o de seres humanos (*Homo sapiens*). Para el empleo en los productos de acuerdo con el invento, las enzimas se pueden ser producir también por vía recombinante, por ejemplo, en *Escherichia coli* o *Pichia pastoris* y se pueden purificar con métodos clásicos a partir del extracto citoplasmático en bruto o a partir del material sobrenadante del cultivo.

Un agente de lavado o limpieza de acuerdo con el invento contiene por lo general en cada caso de 0,0001 a 10 mg, de manera preferida en cada caso de 0,001 mg a 1,0 mg, en particular en cada caso de 0,02 a 0,3 mg de una clorofilasa y otras hidrolasas por cada gramo del agente de lavado y limpieza.

Los agentes de lavado y limpieza de acuerdo con el invento, que se pueden presentar como materiales sólidos pulverulentos, en forma de partículas posteriormente consolidadas, como soluciones o suspensiones homogéneas, contienen, aparte de las mencionadas enzimas, en principio todas las sustancias constituyentes conocidas y usuales en tales agentes. Los agentes de acuerdo con el invento pueden contener agentes tensioactivos con actividad superficial, sustancias mejoradoras de detergencia, agentes de blanqueo adicionales sobre la base de compuestos peroxigenados orgánicos y/o inorgánicos, adicionales agentes activadores del blanqueo, catalizadores del blanqueo, disolventes orgánicos miscibles con agua, adicionales enzimas, agentes secuestrantes, electrólitos, agentes reguladores del pH y otras sustancias auxiliares, tales como aclaradores (blanqueadores) ópticos, agentes inhibidores del agrisamiento, agentes inhibidores de la transferencia de color, agentes reguladores de la espuma, agentes inhibidores de la corrosión causada por la plata, así como materiales colorantes y odorantes. Los agentes de acuerdo con el invento pueden contener un agente tensioactivo o varios agentes tensioactivos, entrando en cuestión, en particular, agentes tensioactivos aniónicos, agentes tensioactivos no iónicos y sus mezclas, pero también agentes tensioactivos catiónicos, iónicos híbridos y anfóteros.

Unos apropiados agentes tensioactivos no iónicos son en particular alquil-glicósidos y productos de etoxilación y/o propoxilación de alquil-glicósidos, o alcoholes lineales o ramificados en cada caso con 12 hasta 18 átomos de C en la parte de alquilo y con 3 hasta 20, de manera preferida con 4 hasta 10 grupos de alquil-éter. Por lo demás, son útiles los correspondientes productos de etoxilación y/o propoxilación de N-alquil-aminas, dioles vecinos, ésteres de ácidos grasos y amidas de ácidos grasos, que en lo que se refiere a la parte de alquilo corresponden a los mencionados derivados de alcoholes de cadena larga, así como de alquil-fenoles con 5 hasta 12 átomos de C en el radical alquilo.

Como agentes tensioactivos no iónicos se emplean de manera preferida unos alcoholes alcoxilados, ventajosamente etoxilados, en particular primarios, preferentemente con 8 hasta 18 átomos de C y en promedio con 1 hasta 12

moles de óxido de etileno (OE) por cada mol de alcohol, en los cuales el radical de alcohol puede ser lineal o de manera preferida puede estar ramificado con metilo en la posición 2 y puede contener en la mezcla unos radicales respectivamente lineales y ramificados con metilo, tal como donde ellos se presentan de modo usual en radicales de oxoalcoholes. En particular, sin embargo, son preferidos unos compuestos etoxilados de alcoholes con radicales lineales procedentes de alcoholes de origen natural con 12 hasta 18 átomos de C, p.ej. procedentes de alcohol de coco, de palma, de grasa de sebo u oleílico, y en promedio con 2 a 8 OE por cada mol de alcohol. A los alcoholes etoxilados preferidos pertenecen, por ejemplo, alcoholes de C<sub>12</sub>-C<sub>14</sub> con 3 OE o 4 OE, alcoholes de C<sub>9</sub>-C<sub>11</sub> con 7 OE, alcoholes de C<sub>13</sub>-C<sub>15</sub> con 3 OE, 5 OE, 7 OE u 8 OE, alcoholes de C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> con 3 OE, 5 OE o 7 OE y mezclas de éstos, tales como mezclas de un alcohol de C<sub>12</sub>-C<sub>14</sub> con 3 OE y de un alcohol de C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> con 7 OE. Los grados de etoxilación indicados constituyen unos valores medios estadísticos, que para un producto especial pueden ser un número entero o un número fraccionario. Los preferidos compuestos etoxilados de alcoholes tienen una estrechada distribución de homólogos (en inglés narrow range etoxilates, NRE). Adicionalmente a estos agentes tensioactivos no iónicos se pueden emplear también unos alcoholes grasos con más de 12 OE. Ejemplos de ellos son unos alcoholes grasos (de sebo) con 14 OE, 16 OE, 20 OE, 25 OE, 30 OE o 40 OE. En particular en agentes de limpieza para el empleo en procedimientos mecánicos de lavado de vajillas, se emplean usualmente unos compuestos extremadamente pobres en espuma. Entre éstos se cuentan de manera preferida los alquil de C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>-poli(etilenglicol)-poli(propilenglicol)-éteres en cada caso con hasta 8 moles de unidades de óxido de etileno y de óxido de propileno en la molécula. Sin embargo, se pueden utilizar también otros agentes tensioactivos no iónicos pobres en espuma conocidos, tales como por ejemplo los alquil de C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>-poli(etilenglicol)-poli(butilenglicol)-éteres en cada caso con hasta 8 moles de unidades de óxido de etileno y óxido de butileno en la molécula, así como los éteres mixtos de alquil-poli(alquilenglicoles) cerrados en los grupos extremos.

Son especialmente preferidos también los alcoholes alcoxilados que contienen grupos hidroxilo, los denominados hidroxi-éteres mixtos. Entre los agentes tensioactivos no iónicos se cuentan y se emplean también los alquil-glicósidos de la fórmula general RO(G)<sub>x</sub>, en la que **R** representa un radical alifático primario, de cadena lineal o ramificado con metilo, en particular ramificado con metilo en la posición 2, con 8 hasta 22, de manera preferida con 12 hasta 18 átomos de C y **G** representa una unidad de glicosa con 5 o 6 átomos de C, y preferiblemente representa glucosa. El grado de oligomerización **x** que indica la distribución de monoglicósidos y oligoglicósidos, es un número arbitrario - que como una magnitud que se ha de determinar por medios analíticos, puede adoptar también valores fraccionarios - comprendido entre 1 y 10; de manera preferida **x** está situado en 1,2 hasta 1,4. Son asimismo apropiadas las polihidroxi-amidas de ácidos grasos.

Otra clase de agentes tensioactivos no iónicos empleados de manera preferente, que se emplean o bien como un único agente tensioactivo no iónico o en combinación con otros agentes tensioactivos no iónicos, en particular en común con alcoholes grasos alcoxilados y alquil-glicósidos, son unos ésteres alquílicos de ácidos grasos alcoxilados, de manera preferida etoxilados o etoxilados y propoxilados, de manera preferida con 1 hasta 4 átomos de carbono en la cadena de alquilo, en particular un éster metílico de un ácido graso.

También pueden ser apropiados unos agentes tensioactivos no iónicos del tipo de los óxidos de aminas, por ejemplo un óxido de N-alquil de coco-N,N-dimetilamina, y un óxido de N-alquil de sebo-N,N-dihidroxi-etilamina, y de las alcanolamidas de ácidos grasos. La cantidad de estos agentes tensioactivos no iónicos es de manera preferida de no más que la de los alcoholes grasos etoxilados, en particular no más que la mitad de éstos.

Como otros agentes tensioactivos entran en consideración los denominados agentes tensioactivos gemelos. Por este concepto se entienden en general aquellos compuestos que poseen dos grupos hidrófilos por molécula. Estos grupos están separados uno de otro por regla general por un denominado "espaciador". Este espaciador es por regla general una cadena de carbonos, que debería ser lo suficientemente larga para que los grupos hidrófilos tengan una distancia suficiente, con el fin de que ellos puedan actuar independientemente unos de otros. En casos excepcionales, bajo la expresión de agentes tensioactivos gemelos se entienden no solamente tales agentes tensioactivos "dímeros" sino también los correspondientes agentes tensioactivos "trímeros". Unos apropiados agentes tensioactivos gemelos son por ejemplo hidroxi-éteres mixtos sulfatados o bis-sulfatos y -étersulfatos de alcoholes dímeros y tris-sulfatos y -étersulfatos de alcoholes trímeros. Unos éteres mixtos dímeros y trímeros cerrados en los grupos extremos se distinguen en particular por su bi- y multifuncionalidad. Se pueden emplear sin embargo también polihidroxi-amidas gemelas de ácidos grasos o poli-(polihidroxi-amidas) de ácidos grasos.

Unos apropiados agentes tensioactivos aniónicos son, en particular, los jabones y los que contienen grupos sulfato o sulfonato. Como agentes tensioactivos del tipo de sulfonato entran en cuestión de manera preferida alquil de C<sub>9</sub>-C<sub>13</sub>-benceno-sulfonatos, olefina-sulfonatos, es decir mezclas de alqueno- e hidroxialcano-sulfonatos así como disulfonatos, tal como se obtienen, por ejemplo, a partir de monoolefinas de C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> con un doble enlace situado en un extremo o en el interior, por una sulfonación con trióxido de azufre gaseoso y una subsiguiente hidrólisis en condiciones alcalinas o ácidas de los productos de sulfonación. Son apropiados también unos alcanosulfonatos, que se obtienen a partir de alcanos de C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>, por ejemplo por sulfocloración o sulfoxidación con una subsiguiente hidrólisis o respectivamente neutralización. Son apropiados también los ésteres de ácidos alfa-sulfo-grasos (éster-sulfonatos), por ejemplo los ésteres metílicos sulfonados en la posición alfa de los ácidos grasos de coco, de pepita de palma o de grasa de sebo hidrogenados, que se preparan mediante una sulfonación en la posición alfa de los

ésteres metílicos de ácidos grasos de origen vegetal y/o animal con 8 hasta 20 átomos de C en la molécula de ácido graso y mediante una subsiguiente neutralización para dar mono-sales solubles en agua. De manera preferida, en este caso se trata de los ésteres sulfonados en la posición alfa de los ácidos grasos de coco, de palma, de pepita de palma o de grasa de sebo hidrogenados, pudiendo estar presentes también unos productos de sulfonación de ácidos grasos insaturados, por ejemplo del ácido oleico, en unas pequeñas proporciones, de manera preferida en unas proporciones situadas no por encima de aproximadamente 2 a 3 % en peso. En particular, se prefieren los ésteres alquílicos de ácidos alfa-sulfo-grasos, que contienen una cadena de alquilo con no más de 4 átomos de C en el grupo de éster, por ejemplo los ésteres metílicos, ésteres etílicos, ésteres propílicos y ésteres butílicos. Con ventaja especial, se emplean los ésteres metílicos de los ácidos alfa-sulfo-grasos (MES), pero también sus disales saponificadas.

Otros agentes tensioactivos aniónicos apropiados son ésteres de glicerol con ácidos grasos sulfonados, que constituyen mono-, di- y triésteres así como sus mezclas, como se obtienen en el caso de la preparación por esterificación por medio de un monoglicerol con 1 hasta 3 moles de un ácido graso o en el caso de la transesterificación de triglicéridos con 0,3 hasta 2 moles de glicerol. Como alqu(en)ilsulfatos se prefieren las sales de metales alcalinos y en particular las de sodio de los semiésteres con ácido sulfúrico de los alcoholes grasos de C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>, por ejemplo a partir de alcohol de grasa de coco, alcohol de grasa de sebo, los alcoholes laurílico, miristílico, cetílico o estearílico, o de los oxoalcoholes de C<sub>10</sub>-C<sub>20</sub> y los semiésteres de alcoholes secundarios con esta longitud de cadena.

Son adicionalmente preferidos alqu(en)ilsulfatos con la mencionada longitud de cadena, que contienen un radical alquilo de cadena lineal sintético, preparado sobre una base petroquímica, que poseen un comportamiento de descomposición análogo a como el de los compuestos adecuados constituidos sobre la base de materias primas químicas de grasas. Por interés de la técnica de lavado, son preferidos en particular los alquil de C<sub>12</sub>-C<sub>16</sub>-sulfatos y los alquil de C<sub>12</sub>-C<sub>15</sub>-sulfatos así como los alquil de C<sub>14</sub>-C<sub>15</sub>-sulfatos. También los 2,3-alkil-sulfatos son unos apropiados agentes tensioactivos aniónicos. Son apropiados también los monoésteres con ácido sulfúrico de los alcoholes de C<sub>7</sub>-C<sub>21</sub> de cadena lineal o ramificados, etoxilados con 1 hasta 6 moles de óxido de etileno, tales como los alcoholes de C<sub>9</sub>-C<sub>11</sub> ramificados con metilo en la posición 2 que tienen en promedio 3,5 moles de óxido de etileno (OE) o los alcoholes grasos de C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> con 1 hasta 4 OE. A los preferidos agentes tensioactivos aniónicos pertenecen también las sales de los ácidos alquil-sulfo-succínicos, que se designan también como sulfo-succinatos o como ésteres de ácido sulfo-succínico, y constituyen los monoésteres y/o diésteres del ácido sulfo-succínico con unos alcoholes, de manera preferida unos alcoholes grasos, y en particular unos alcoholes grasos etoxilados. Unos sulfo-succinatos preferidos contienen unos radicales de alcoholes grasos de C<sub>8</sub> a C<sub>18</sub> o mezclas de éstos. Unos sulfo-succinatos particularmente preferidos contienen un radical de alcohol graso, que se deriva de alcoholes grasos etoxilado que, considerados por sí solos, constituyen agentes tensioactivos no iónicos. En tal caso son preferidos a su vez especialmente los sulfo-succinatos, cuyos radicales de alcoholes grasos se derivan de alcoholes grasos etoxilados con una distribución estrechada de homólogos. Asimismo es posible también emplear un ácido alqu(en)ilsuccínico que tiene preferiblemente de 8 a 18 átomos de carbono en la cadena de alqu(en)ilo o sus sales.

Como otros agentes tensioactivos aniónicos entran en consideración unos derivados con ácidos grasos de aminoácidos, por ejemplo de N-metil-aurina (tauridas) y/o de N-metil-glicina (sarcosidas). Son particularmente preferidos en este caso las sarcosidas o respectivamente los sarcosinatos y entre éstos sobre todo los sarcosinatos de ácidos grasos superiores y eventualmente insaturados una vez o múltiples veces, tales como el sarcosinato de oleílo. Como otros agentes tensioactivos aniónicos entran en consideración en particular los jabones. Son apropiados en particular unos jabones de ácidos grasos saturados, tales como las sales del ácido láurico, del ácido mirístico, del ácido palmítico, del ácido esteárico, del ácido erúrico hidrogenado y del ácido behénico, así como en particular unas mezclas de jabones que se derivan en particular de ácidos grasos naturales, por ejemplo de ácidos grasos de coco, de pepita de palma o de grasa de sebo. En común con estos jabones o como agentes sustitutivos de jabones, se pueden emplear también las conocidas sales de ácidos alquenil-succínicos.

Los agentes tensioactivos aniónicos, inclusive los jabones, se pueden presentar en forma de sus sales de sodio, potasio o amonio, así como en forma de sales solubles de bases orgánicas tales como mono-, di- o trietanolamina. De manera preferida, los agentes tensioactivos aniónicos se presentan en forma de sus sales de sodio o de potasio, en particular en forma de las sales de sodio.

Los agentes tensioactivos están contenidos en los agentes de lavado de acuerdo con el invento en unas proporciones cuantitativas de, preferiblemente, 5 % en peso a 50 % en peso, en particular de 8 % en peso a 30 % en peso, al contrario de lo cual los agentes para la limpieza de superficies duras, en particular para la limpieza mecánica de vajillas, tienen unos contenidos de agentes tensioactivos más bajos, de hasta 10 % en peso, en particular hasta 5 % en peso y de manera preferida situados en el intervalo de 0,5 % en peso a 3 % en peso.

Un agente de acuerdo con el invento contiene de manera preferida por lo menos una sustancia mejoradora de detergencia orgánica y/o inorgánica, soluble en agua y/o insoluble en agua. A las sustancias mejoradoras de detergencia orgánicas solubles en agua pertenecen los ácidos policarboxílicos, en particular el ácido cítrico, y los ácidos de azúcares; ácidos amino-policarboxílicos monómeros y polímeros, en particular el ácido metil-glicina-

diacético, el ácido nitrilo-triacético, y el ácido etilendiamina-tetraacético, así como un poli(ácido aspártico), unos poli(ácidos fosfónicos), en particular el amino-tris(ácido metilen-fosfónico), el ácido etilendiamina-tetrakis(ácido metilen-fosfónico) y el ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico, compuestos hidroxílicos polímeros tales como una dextrina así como ácidos (poli-)carboxílicos polímeros, en particular unos policarboxilatos accesibles por oxidación de polisacáridos o respectivamente de dextrinas, ácidos acrílicos y ácidos metacrílicos polímeros, ácidos maleicos polímeros y polímeros mixtos de éstos, que también pueden contener incorporadas en la polimerización unas pequeñas proporciones de sustancias polimerizables sin ninguna funcionalidad de ácido carboxílico. La masa molecular relativa de los homopolímeros de ácidos carboxílicos insaturados está situada por lo general entre 3.000 y 200.000, y la de los copolímeros está situada entre 2.000 y 200.000, de manera preferida entre 30.000 y 120.000, en cada caso referida a un ácido libre. Un copolímero de ácido acrílico y ácido maleico especialmente preferido tiene una masa molecular relativa de 30.000 a 100.000. Unos productos usuales en el comercio son, por ejemplo, los Sokalan TM CP 5, CP 10 y PA 30 de la entidad BASF. Unos apropiados compuestos, si bien menos preferidos, de esta clase son unos copolímeros del ácido acrílico o del ácido metacrílico con vinil-éteres, tales como vinil-metil-éteres, ésteres vinílicos, etileno, propileno y estireno, en los cuales la proporción del ácido es de por lo menos 50 % en peso. Como sustancias mejoradoras de detergencia orgánicas solubles en agua se pueden emplear también unos terpolímeros, que como monómeros contienen dos ácidos insaturados y/o sus sales, así como los que como tercer monómero contienen alcohol vinílico y/o un alcohol vinílico esterificado o un hidrato de carbono. El primer monómero de carácter ácido o respectivamente una de sus sales se deriva de un ácido carboxílico de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> monoetilénicamente insaturado y de manera preferida de un ácido monocarboxílico de C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>, en particular de un ácido (met)acrílico. El segundo monómero de carácter ácido ácido o respectivamente una de sus sales puede ser un derivado de un ácido dicarboxílico de C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>, siendo especialmente preferido el ácido maleico, y/o un derivado de un ácido alil-sulfónico, que en la posición 2 está sustituido con un radical alquilo o arilo. Tales polímeros tienen por lo general una masa molecular relativa comprendida entre 1.000 y 200.000. Otros copolímeros preferidos son los que como monómeros contienen preferiblemente acroleína y ácido acrílico/sales de ácido acrílico o respectivamente acetato de vinilo. Las sustancias mejoradoras de detergencia orgánicas pueden ser empleadas, en particular, para la preparación de agentes líquidos, en forma de unas soluciones acuosas, de manera preferida en forma de unas soluciones acuosas al 30 hasta 50 por ciento en peso. Todos los mencionados ácidos se emplean por regla general en forma de sus sales solubles en agua, en particular de sus sales de metales alcalinos.

Tales sustancias mejoradoras de detergencia orgánicas pueden estar contenidas en caso deseado en unas proporciones hasta de 40 % en peso, en particular hasta de 25 % en peso y de manera preferida de 1 % en peso hasta 8 % en peso. Unas proporciones cercanas al límite superior mencionado se emplean de manera preferida en unos agentes de acuerdo con el invento, pastosos o líquidos, en particular los que contienen agua.

Como materiales mejoradores de detergencia inorgánicos solubles en agua, entran en consideración en particular silicatos de metales alcalinos, carbonatos de metales alcalinos y fosfatos de metales alcalinos, que pueden presentarse en forma de sus sales de sodio o potasio de carácter alcalino, neutro o ácido. Ejemplos de ellos son fosfato de trisodio, difosfato de tetrasodio, dihidrógeno-difosfato de disodio, trifosfato de pentasodio, el denominado hexametáfosfato de sodio, un fosfato de trisodio oligómero con unos grados de oligomerización de 5 a 1.000, en particular de 5 a 50, así como las correspondientes sales de potasio o respectivamente mezclas de sales de sodio y potasio. Como materiales mejoradores de detergencia inorgánicos dispersables en agua, e insolubles en agua, se emplean en particular unos alumosilicatos de metales alcalinos, cristalinos o amorfos, en unas proporciones hasta de 50 % en peso, de manera preferida no situadas por encima de 40 % en peso, y en agentes líquidos en particular de 1 % en peso a 5 % en peso. Entre éstos son preferidos los alumosilicatos de sodio cristalinos en una calidad para agentes de lavado, en particular las zeolitas A, P y eventualmente X, a solas o en mezclas, por ejemplo en forma de un material cristalizado conjunto a base de las zeolitas A y X (Vegobond® TM AX, un producto comercial de la entidad Condea Augusta S.p.A.). Unas cantidades cercanas al límite superior mencionado se emplean de manera preferida en los agentes sólidos en forma de partículas. Unos apropiados alumosilicatos no tienen en particular ninguna partícula con un tamaño de granos situado por encima de 30 µm y se componen de manera preferida en por lo menos un 80 % en peso a base de partículas con un tamaño por debajo de 10 µm. Su capacidad de fijación de calcio está situada por regla general en el intervalo de 100 a 200 mg de CaO por gramo.

Unos apropiados sustitutivos o respectivamente sustitutivos parciales para el mencionado alumosilicato son unos silicatos de metales alcalinos cristalinos, que pueden presentarse a solas o en una mezcla con silicatos amorfos. Los silicatos de metales útiles como sustancias mejoradoras de detergencia en los agentes de acuerdo con el invento tienen preferiblemente una relación molar de un óxido de metal alcalino al SiO<sub>2</sub> situada por debajo de 0,95, en particular de 1 : 1,1 hasta 1 : 12 y pueden presentarse en una forma amorfa o cristalina. Unos preferidos silicatos de metales alcalinos son los silicatos de sodio, en particular los silicatos de sodio amorfos, con una relación molar de Na<sub>2</sub>O : SiO<sub>2</sub> de 1 : 2 hasta 1 : 2,8. Como silicatos cristalinos, que pueden presentarse a solas o en una mezcla con silicatos amorfos, se emplean de manera preferida unos silicatos estratificados cristalinos de la fórmula general Na<sub>2</sub>Si<sub>x</sub>O<sub>2x+1</sub> · y H<sub>2</sub>O, en la que **x**, el denominado módulo, es un número de 1,9 a 22, en particular de 1,9 a 4, e **y** es un número de 0 a 33, y unos valores preferidos para **x** son 2, 3 ó 4. Unos silicatos estratificados cristalinos preferidos son aquellos en los cuales **x**, en la fórmula general mencionada, adopta los valores 2 ó 3. En particular, son preferidos tanto los beta- como también los delta-disilicatos de sodio (Na<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub> · y H<sub>2</sub>O). También unos silicatos alcalinos cristalinos prácticamente anhidros, preparados a partir de silicatos de metales alcalinos amorfos con la

fórmula general más arriba mencionada, en la que  $x$  significa un número de 1,9 a 2,1, se pueden emplear en agentes de acuerdo con el invento. En otra forma preferida adicional de realización de agentes de acuerdo con el invento, se emplea un silicato de sodio estratificado cristalino con un módulo de 2 a 3. Unos silicatos de sodio estratificados cristalinos con un módulo situado en el intervalo de 1,9 a 3,5 se emplean en otra forma preferida de realización de agentes de acuerdo con el invento. Unos silicatos estratificados cristalinos de la fórmula (I) más arriba indicada son comercializados por Clariant bajo el nombre comercial Na-SKS, p.ej. Na-SKS-1 ( $\text{Na}_2\text{Si}_{22}\text{O}_{45} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , kenaita), Na-SKS-2 ( $\text{Na}_2\text{Si}_{14}\text{O}_{29} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , magadiita), Na-SKS-3 ( $\text{Na}_2\text{Si}_8\text{O}_{17} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) o Na-SKS-4 ( $\text{Na}_2\text{Si}_4\text{O}_9 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , makatita). De éstos, son apropiados sobre todo el Na-SKS-5 (alfa- $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ ), el Na-SKS-7 (beta- $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ , natrosilita), el Na-SKS-9 ( $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), el Na-SKS-10 ( $\text{NaHSi}_2\text{O}_5 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , kanemita), el Na-SKS-11 (t- $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ ) y el Na-SKS-13 ( $\text{NaHSi}_2\text{O}_5$ ), pero en particular el Na-SKS-6 (delta- $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ ). En una forma de realización preferida de los agentes de acuerdo con el invento, se emplea una composición granular a base de un silicato estratificado cristalino y de un citrato, a base de un silicato estratificado cristalino y de uno de los ácidos policarboxílicos (co)polímeros más arriba mencionados, o a base de un silicato de metal alcalino y de un carbonato de metal alcalino, como es obtenible en el comercio por ejemplo bajo el nombre de Nablom® TM 15.

Las sustancias mejoradoras de detergencia pueden estar contenidas en los agentes de acuerdo con el invento eventualmente en unas proporciones hasta de 90 % en peso. Ellas, de manera preferida, están contenidas en unas proporciones hasta de 75 % en peso. Los agentes de lavado de acuerdo con el invento tienen unos contenidos de sustancias mejoradoras de detergencia de desde 5 % en peso hasta 50 % en peso. En los agentes de acuerdo con el invento para la limpieza de superficies duras, en particular para la limpieza mecánica de vajillas, el contenido de sustancias mejoradoras de detergencia es en particular de desde 5 % en peso hasta 88 % en peso, no empleándose en tales agentes preferiblemente nada de materiales mejoradores de detergencia insolubles en agua. En una forma preferida de realización de agentes de acuerdo con el invento en particular para la limpieza mecánica de vajillas, está contenido de 20 % en peso hasta 40 % en peso de sustancias mejoradoras de detergencia orgánicas solubles en agua, en particular de un citrato de metal alcalino, de 5 % en peso a 15 % en peso de un carbonato de metal alcalino y de 20 % en peso a 40 % en peso de un disilicato de metal alcalino.

Como apropiados compuestos peroxigenados entran en consideración en particular el peróxido de hidrógeno y unas sales inorgánicas que desprenden peróxido de hidrógeno en las condiciones de lavado, a las que pertenecen los perboratos, percarbonatos, persilicatos y/o persulfatos de metales alcalinos tales como un carato, pero también los perácidos orgánicos o respectivamente las sales de perácidos de ácidos orgánicos tales como ácido ftalimido-percaproico, ácido perbenzoico o sales del ácido diperdodecanodioico. Siempre y cuando se tengan que emplear compuestos peroxigenados sólidos, éstos se pueden utilizar en forma de polvos o granulados, que también pueden estar envueltos de un modo conocido en principio. Los compuestos peroxigenados están presentes en unas proporciones de manera preferida de hasta 50 % en peso, en particular de 5 % en peso a 30 % en peso y de manera especialmente preferida de 8 % en peso a 25 % en peso. La adición de pequeñas cantidades de unos conocidos agentes estabilizadores de agentes de blanqueo, tal como por ejemplo de fosfonatos, boratos o respectivamente metaboratos y metasilicatos así como de sales de magnesio tales como sulfato de magnesio puede ser útil para su finalidad.

Como agentes activadores del blanqueo se pueden emplear en particular unos compuestos, que proporcionan en condiciones de perhidrólisis unos ácidos peroxocarboxílicos alifáticos de manera preferida con 1 hasta 10 átomos de C, en particular con 2 hasta 4 átomos de C, y/o el ácido perbenzoico eventualmente sustituido. Son apropiadas unas sustancias que llevan grupos O- y/o N-acilo con el mencionado número de átomos de C y/o grupos benzoilo eventualmente sustituidos. Se prefieren unas alquilendiaminas aciladas múltiples veces, en particular tetraacetil-etilendiamina (TAED), derivados acilados de triazina, en particular 1,5-diacetil-2,4-dioxohexahidro-1,3,5-triazina (DADHT), glicolurilos acilados, en particular tetraacetil-glicolurilo (TAGU), N-acil-imidas, en particular N-nonanoil-succinimida (NOSI), fenolsulfonatos acilados, en particular un n-nonanoil- o isononanoil-oxibencenosulfonato (n- o respectivamente iso-NOBS), anhídridos de ácidos carboxílicos, en particular el anhídrido de ácido ftálico, alcoholes plurivalentes acilados, en particular triacetina, diacetato de etilenglicol, 2,5-diacetoxi-2,5-dihidrofurano y enol-ésteres así como sorbitol acetilado y manitol acetilado, derivados de azúcares acilados, en particular pentaacetil-glucosa (PAG), pentaacetil-fructosa, tetraacetil-xilosa y octaacetil-lactosa así como glucamina y gluconolactona acetilada, eventualmente alquilada en N, y/o lactamas aciladas en N, por ejemplo N-benzoil-caprolactama. Se emplean asimismo de una manera preferida unos/as acil-acetales y acil-lactamas sustituidos/as de modo hidrófilo.

Tales agentes activadores del blanqueo pueden estar contenidos en el usual intervalo cuantitativo, de manera preferida en unas proporciones de 0,5 % en peso a 10 % en peso, en particular de 1 % en peso a 8 % en peso, referidas al agente total. De manera adicional a los agentes activadores de blanqueo convencionales más arriba expuestos, o en su lugar, pueden estar contenidas como unos denominados catalizadores del blanqueo también unas sulfoniminas y/o unas sales de metales de transición o respectivamente compuestos complejos de metales de transición, reforzadoras/es del blanqueo. A los compuestos de metales de transición que entran en cuestión pertenecen en particular los compuestos complejos de saleno y manganeso, hierro, cobalto, rutenio o molibdeno y sus conocidos compuestos análogos con N, compuestos complejos de manganeso, hierro, cobalto, rutenio o molibdeno-carbonilo, compuestos complejos de manganeso, hierro, cobalto, rutenio, molibdeno, titanio, vanadio y cobre con ligandos tripode que contienen nitrógeno, compuestos complejos de ammina y cobalto, hierro, cobre y

rutenio. Los compuestos complejos de metales de transición reforzadores del blanqueo, en particular con los átomos centrales Mn, Fe, Co, Cu, Mo, V, Ti y/o Ru, se emplean en unas proporciones usuales, de manera preferida en una proporción hasta de 1 % en peso, en particular de 0,0025 % en peso a 0,25 % en peso y de manera especialmente preferida de 0,01 % en peso a 0,1 % en peso, en cada caso referida al agente total.

5 Por lo demás, los agentes de lavado y limpieza de acuerdo con el invento pueden contener proteasas, otras lipasas, amilasas y/o celulasas. A las proteasas que se pueden emplear pertenecen las enzimas obtenibles a partir de microorganismos, en particular de bacterias u hongos, que tienen un valor óptimo del pH situado en la región alcalina. Una proteasa se emplea en el agente de acuerdo con el invento, de manera preferida, en unas cantidades  
10 tales que el agente acabado contenga 100 UP/g hasta 7.500 UP/g (unidades de proteasa por gramo, determinadas de acuerdo con el método descrito en Tenside 7, 125 (1970)), en particular de 125 UP/g hasta 5.000 UP/g y de manera especialmente preferida de 150 UP/g hasta 4.500 UP/g. Unas proteasas útiles son obtenibles en el comercio, por ejemplo, bajo los nombres BLAP TM, Savinase TM, Esperase TM, Maxatase TM, Optimase TM, Alcalase TM, Durazym TM, Everlase TM, Maxapem © & o Purafect TM OxP (TM = marca registrada).

15 Entre las amilasas que se pueden emplear en agentes de acuerdo con el invento, que pasan a emplearse de manera preferida en combinación con por lo menos otra enzima, pertenecen las enzimas obtenibles a partir de bacterias u hongos, que tienen un valor óptimo del pH situado preferiblemente en la región alcalina hasta llegar a aproximadamente un pH de 10. Unos productos comerciales útiles son, por ejemplo, Termamyl TM, Maxamyl TM, Duramyl TM o Purafect TM OxAm. Una amilasa es empleada en el agente de acuerdo con el invento de manera preferida en unas cantidades tales que el agente acabado contenga desde 0,01 KUN/g hasta 2 KUN/g ("kilo  
20 unidades de Novo" por gramo determinadas de acuerdo con el método patrón de la entidad Novo, siendo 1 KUN la cantidad de una enzima que descompone 5,26 g de un almidón a un pH de 5,6 y a 37 °C, basándose en el método descrito por P. Bemfeld en la cita de S. P. Colowick y N. D. Kaplan, Methods in Enzymology [Métodos en enzimología], tomo 1, 1955, página 149), en particular desde 0,015 KUN/g hasta 1,8 KUN/g y de manera especialmente preferida desde 0,03 KUN/g hasta 1,6 KUN/g. En el caso de que el agente de acuerdo con el invento  
25 contenga una amilasa, ésta se escoge de manera preferida entre las amilasas modificadas por tecnología genética.

En el caso de la otra lipasa, contenida eventualmente de manera adicional en el agente de acuerdo con el invento, se trata de una enzima obtenible a partir de microorganismos, en particular de bacterias u hongos. Una lipasa es empleada en el agente de acuerdo con el invento de manera preferida en unas cantidades tales que el agente  
30 acabado tenga una actividad lipolítica situada en el intervalo de 10 UL/g a 10.000 UL/g ("unidades de actividad de lipasa" por gramo, determinadas a través de la hidrólisis enzimática de tributirina a 30 °C y un pH 7 de acuerdo con el método mencionado en el documento EP 258 068), en particular de 80 UL/g a 5.000 UL/g y de manera especialmente preferida de 100 UL/g a 1.000 UL/g. Unas lipasas usuales en el comercio son por ejemplo Lipolase TM, Lipomax TM, Lumafast TM y Lipozym TM.

35 Asimismo, la celulasa útil de acuerdo con el invento pertenece a las enzimas obtenibles a partir de bacterias u hongos, que tienen un valor óptimo del pH, situado de manera preferida en el intervalo de valores del pH desde casi neutros hasta débilmente alcalinos, de 6 a 9,5. Ellas se emplean en el agente de acuerdo con el invento de manera preferida en unas cantidades tales que el agente acabado tenga una actividad celulolítica de 0,05 UI/g a 1,5 UI/g ("unidades internacionales" por gramo, basándose en la hidrólisis enzimática de una Na-carboximetilcelulosa a un  
40 valor del pH de 9,0 y 40 °C, tal como se ha descrito en la cita de Agric. Biol. Chem. 53, 1275 (1989) de S. Ito y colaboradores), en particular de 0,07 UI/g a 1,4 UI/g y de manera especialmente preferida de 0,1 UI/g bis 1,3 UI/g. Unos apropiados productos comerciales son por ejemplo Celluzyme TM del fabricante Novo Nordisk o KAC TM de Kao.

Puesto que se deben de emplear varias enzimas en el agente de acuerdo con el invento, esto se puede llevar a  
45 cabo por incorporación de las dos o varias enzimas dispuestas por separado o respectivamente confeccionadas por separado de una manera conocida, o por medio de dos o varias enzimas confeccionadas en común en un granulado.

Como enzimas utilizables adicionalmente en los agentes, entran en cuestión las de las clases de las cutinasas, pululanastas, hemicelulasas, oxidasas, laccasas y peroxidasas, así como mezclas de ellas. Son especialmente apropiadas las sustancias activas enzimáticas obtenidas a partir de hongos o bacterias, tales como Bacillus subtilis,  
50 Bacillus licheniformis, Bacillus lentus, Streptomyces griseus, Humicola lanuginosa, Humicola insolens, Pseudomonas pseudoalcaligenes, Pseudomonas cepacia o Coprinus cinereus. Las enzimas pueden estar adsorbidas junto a materiales de soporte y/o embebidas en sustancias de envoltura, con el fin de protegerlas contra una desactivación prematura. Ellas están contenidas en los agentes de lavado o limpieza de acuerdo con el invento de manera preferida en unas proporciones hasta de 5 % en peso, en particular de 0,2 % en peso a 4 % en peso.

55 A los disolventes orgánicos utilizables junto al agua en los agentes de acuerdo con el invento, cuando éstos se presentan en una forma líquida o pastosa, pertenecen unos alcoholes con 1 a 4 átomos de C, en particular metanol, etanol, isopropanol y terc.-butanol, unos dioles con 2 a 4 átomos de C, en particular etilenglicol y propilenglicol, así como mezclas de ellos y los éteres que se pueden derivar a partir de las mencionadas clases de compuestos. Tales

disolventes miscibles con agua están presentes en los agentes de acuerdo con el invento de manera preferida en unas proporciones situadas no por encima de 30 % en peso, en particular de 6 % en peso a 20 % en peso.

Adicionalmente, los agentes pueden contener otros componentes usuales en agentes de lavado y limpieza. A estos componentes facultativos pertenecen en particular agentes estabilizadores de las enzimas, agentes inhibidores del agrisamiento, agentes inhibidores de la transferencia de color, agentes inhibidores de la espuma y agentes aclaradores ópticos, así como materiales colorantes y odorantes. Con el fin de establecer una protección contra la corrosión por la plata en los agentes de limpieza para vajillas de acuerdo con el invento se pueden emplear agentes inhibidores de la corrosión por la plata. Un agente de limpieza para superficies duras de acuerdo con el invento puede contener, además de esto, unos componentes que actúan de una manera abrasiva, en particular, tomados del conjunto que comprende polvos finos de cuarzo, polvos finos (aserrines) de madera, polvos finos de materiales sintéticos, gredas y microesferas de vidrio, así como sus mezclas. Los materiales abrasivos están contenidos en los agentes de limpieza de acuerdo con el invento de manera preferida en unas proporciones no superiores a 20 % en peso, en particular de 5 % en peso a 15 % en peso.

Para el ajuste de un deseado valor del pH, que no se establece por sí solo mediante la mezcladura de los demás componentes, los agentes de acuerdo con el invento pueden contener unos ácidos tolerables por el sistema y por el medio ambiente, en particular ácido cítrico, ácido acético, ácido tartárico, ácido málico, ácido láctico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido glutárico y/o ácido adípico, pero también unos ácidos inorgánicos, en particular ácido sulfúrico, o unas bases, en particular hidróxidos de amonio o de metales alcalinos. Tales agentes reguladores del pH están contenidos en los agentes de acuerdo con el invento en unas proporciones que, de manera preferida, no están situadas por encima de 20 % en peso, en particular de 1,2 % en peso a 17 % en peso.

A los agentes inhibidores de la transferencia de color, que entran en cuestión para el empleo en agentes de lavado de materiales textiles de acuerdo con el invento, pertenecen en particular unas poli(vinil-pirrolidonas), unos poli(vinil-imidazoles), unos N-óxidos poliméricos tales como un poli-(N-óxido de vinil-piridina) y unos copolímeros de vinil-pirrolidona con vinil-imidazol.

Los agentes inhibidores del agrisamiento tienen la misión de mantener suspendida en el baño de tratamiento a la suciedad que se ha desprendido desde las fibras textiles. Para esto, son apropiados unos coloides solubles en agua en la mayor parte de los casos de naturaleza orgánica, por ejemplo un almidón, una cola, una gelatina, sales con ácidos éter-carboxílicos o ácidos éter-sulfónicos del almidón o de la celulosa o sales de ésteres con ácido sulfúrico de carácter ácido de la celulosa o del almidón. También, unas poliamidas solubles en agua, que contienen grupos de carácter ácido, son apropiadas para esta finalidad. Por lo demás, se pueden utilizar otros derivados de almidones distintos de los más arriba mencionados, por ejemplo aldehído-almidones. De manera preferida, se emplean unos éteres de celulosa, tales como una carboximetil-celulosa (sal de Na), una metil-celulosa, una hidroxialquil-celulosa y unos éteres mixtos tales como una metil-hidroxietyl-celulosa, una metil-hidroxi-propil-celulosa, una metil-carboximetil-celulosa y sus mezclas, por ejemplo en unas proporciones de 0,1 a 5 % en peso, referidas a los agentes.

Para el refuerzo del rendimiento de limpieza, en particular los agentes de lavado de acuerdo con el invento pueden contener unos polímeros que son capaces de desprender la suciedad, los denominados polímeros Soil release, que por regla general se componen de unidades de ácidos carboxílicos y de unidades de dioles eventualmente poliméricos y contienen por ejemplo grupos de tereftalato de etileno y tereftalato de poli(oxietileno). Otras unidades de ciertos monómeros, por ejemplo propilenglicol, un poli(propilenglicol), ácidos alquilen- o alquenilen-dicarboxílicos, ácido isoftálico, unos isómeros del ácido ftálico sustituidos con carboxi o sulfo, pueden estar contenidas en el polímero capaz de desprender la suciedad. También se pueden emplear unos derivados cerrados en los grupos extremos, es decir unos polímeros, que no tienen ni grupos hidroxilo libres ni tampoco grupos carboxilo libres, sino que llevan por ejemplo grupos alquilo de C<sub>1-4</sub>, o están esterificados en posiciones extremas con ácidos carboxílicos monobásicos, por ejemplo ácido benzoico o ácido sulfobenzoico. Son apropiados también los poliésteres, que junto a grupos oxietileno y unidades de ácido tereftálico contienen grupos 1,2-propileno, 1,2-butileno y/o 3-metoxi-1,2-propileno así como unidades de glicerol y que están cerrados en los grupos extremos con grupos alquilo de C<sub>1</sub> hasta C<sub>4</sub>, los polímeros Soil release a base de tereftalato de etileno y tereftalato de poli(óxido de etileno) con una masa molar de 900 a 9.000, teniendo las unidades de poli(etilenglicol) unos pesos moleculares de 300 a 3.000 y siendo de 0,6 a 0,95 la relación molar de tereftalato de etileno a tereftalato de poli(óxido de etileno), los poliésteres, que por lo menos en parte están cerrados en los grupos extremos con radicales alquilo de C<sub>1-4</sub> o acilo, con unidades de poli(tereftalato de propileno) y poli(tereftalato de oxietileno), los poliésteres Soil Release, preparados por sulfonación de grupos extremos insaturados, con poliésteres Soil release catiónicos con unidades de tereftalato, alquilenglicol y poli-(glicoles de C<sub>2-4</sub>), los poliésteres Soil release catiónicos con grupos de amina, de amonio y/o de óxido de amina y los poliésteres Soil release catiónicos con unidades de morfolina cuaternizadas, etoxiladas. De igual manera, son apropiados unos polímeros a base de tereftalato de etileno y tereftalato de poli(óxido de etileno), en los que las unidades de poli(etilenglicol) tienen unos pesos moleculares de 750 a 5.000 y la relación molar de tereftalato de etileno a tereftalato de poli(óxido de etileno) es de 50 : 50 hasta 90 : 10, así como unos polímeros con unos pesos moleculares de 15.000 a 50.000 a base de tereftalato de etileno y tereftalato de poli(óxido de etileno), teniendo las unidades de poli(etilenglicol) unos pesos moleculares de 1.000 a 10.000 y siendo de 2 : 1 a 6 : 1 la relación molar de tereftalato de etileno a tereftalato de poli(óxido de etileno).

Los agentes de lavado de materiales textiles de acuerdo con el invento pueden contener como agentes aclaradores (blanqueadores) ópticos unos derivados de ácidos diamino-estilbena-disulfónicos o respectivamente sus sales de metales alcalinos. Son apropiadas, por ejemplo, sales del ácido 4,4'-bis(2-anilino-4-morfolino-1,3,5-triazinil-6-amino)estilbena-2,2'-disulfónico o compuestos constituidos de una manera igual o similar, que en lugar del grupo morfolino llevan un grupo dietanolamino, un grupo metilamino, un grupo anilino o un grupo 2-metoxietilamino. Por lo demás, pueden estar presentes unos agentes aclaradores del tipo de los difenil-estirilos sustituidos, por ejemplo las sales de metales alcalinos de 4,4'-bis(2-sulfoestiril)-difenilo, de 4,4-bis(4-cloro-3-sulfoestiril)-difenilo o de 4-(4-cloroestiril)-4'-(2-sulfoestiril)-difenilo. También se pueden utilizar mezclas de los aclaradores ópticos antes mencionados.

En particular, en el caso del empleo en procedimientos mecánicos puede constituir una ventaja añadir a los agentes unos usuales agentes inhibidores de la espuma. Como agentes inhibidores de la espuma son apropiados por ejemplo unos jabones de procedencia natural o sintética, que tienen una alta proporción de ácidos grasos de C<sub>18</sub>-C<sub>24</sub>. Unos apropiados agentes inhibidores de la espuma que no son de tipo tensioactivo, son por ejemplo unos organopolisiloxanos y sus mezclas con un ácido silícico microfino, eventualmente silanizado, así como unas parafinas, unas ceras, unas ceras microcristalinas y unas mezclas de ellas con un ácido silícico silanizado o con bis(alquilendiamidas de ácidos grasos). Con ventajas se utilizan también mezclas de diferentes agentes inhibidores de la espuma, por ejemplo las constituidas a base de siliconas, parafinas o ceras. De manera preferida, los agentes inhibidores de la espuma, en particular los agentes inhibidores de la espuma que contienen siliconas y/o parafinas, están unidos a una sustancia de soporte granular, soluble o respectivamente dispersable en agua. En particular, son preferidas en tal caso unas mezclas a base de unas parafinas y una bis(estearil-etilen-diamida).

La preparación de agentes sólidos de acuerdo con el invento puede efectuarse de una manera conocida, por ejemplo mediante una desecación por atomización o una granulación, siendo añadidas posteriormente por separado las enzimas y eventualmente otras sustancias constituyentes térmicamente sensibles, tales como por ejemplo agentes de blanqueo, eventualmente por separado. Para la preparación de agentes de acuerdo con el invento con un peso aparente (a granel) aumentado, en particular en el intervalo de 650 g/l a 950 g/l, se prefiere un procedimiento conocido, que tiene una etapa de extrusión. Otra preparación preferida con ayuda de un procedimiento de granulación se describe en el documento de patente europea EP 0 642 576.

Para la producción de agentes de acuerdo con el invento en forma de tabletas, que se pueden ser monofásicas o plurifásicas, monocolors y multicolors, y que pueden componerse en particular de una sola capa o de varias capas, en particular de dos capas, se procede de modo preferido de tal manera que todos los componentes - eventualmente cada uno en una capa - se mezclan unos con otros en un mezclador y la mezcla se prensa mediante unas habituales prensas para tabletas, por ejemplo prensas excéntricas o prensas de movimiento circular. En particular, en el caso de tabletas de capas múltiples, puede ser ventajoso que por lo menos una capa sea previamente prensada. De manera preferida, una tableta producida de este modo tiene un peso de 10 g a 50 g, en particular de 15 g a 40 g. La forma espacial de las tabletas es arbitraria y puede ser circular, ovalada o poligonal, siendo posibles también unas formas intermedias. Los vértices y las aristas son preferiblemente redondeados/as. Las tabletas circulares tienen de manera preferida un diámetro de 30 mm a 40 mm. En particular, el tamaño de las tabletas estructuradas con una forma poligonal o paralelepípedica, que predominante se incorporan a través del dispositivo dosificador, por ejemplo de la máquina lavadora de vajillas, es dependiente de la geometría y del volumen de este dispositivo dosificador. Unas formas de realización preferidas a modo de ejemplo tienen una superficie de base de (20 a 30 mm) x (34 a 40 mm), en particular de 26 x 36 mm o de 24 x 38 mm.

Unos agentes de lavado o de limpieza, líquidos o respectivamente pastosos, de acuerdo con el invento, en forma de unas soluciones que contienen los usuales disolventes, se producen por regla general mediante una sencilla mezcla de las sustancias constituyentes, que se pueden añadir en sustancia o como una solución en un mezclador automático.

La preparación por clonación de una clorofilasa empleada de acuerdo con el invento es conocida en la bibliografía (con la nomenclatura de enzimas IntEnz EC 3.1.1.1.14), p.ej. de acuerdo con Tsuchiya y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 15362 - 15367 (1999). Unos ejemplos de clorofilasas son conocidos como las de Arabidopsis thaliana AT1G19670 o AT5G43860. Las galactolipasas son conocidas bajo el nombre EC 3.1.1.26, número de registro CAS: 37278-40-3.

## 50 Ejemplos

### 1. Expresión de una clorofilasa recombinante en E. coli

El gen de la clorofilasa fue amplificado con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de una sonda de ADNc (cromosomal) con los oligonucleótidos Citrus\_CHL\_fwd\_NdeI y Citrus\_CHL\_rev\_XhoI como cebadores. Para la clonación dirigida en un correspondiente vector de expresión, por ejemplo el pET28a (de Novagen), se pudieron incorporar en los oligonucleótidos al mismo tiempo unas secuencias de reconocimiento para endonucleasas de restricción (NdeI y XhoI). El vector pET28a contenía el sistema promotor de T7 de bacteriófagos, así como codifica una marca His terminal de C y/o terminal de N. El ADN amplificado fue digerido con las dos endonucleasas de restricción y fraccionado a través de un gel de agarosa y purificado, siendo recortada la correspondiente banda a

partir del gel y extraída. El producto de la PCR digerido y purificado con un gel fue ligado con el vector de expresión cortado con las mismas endonucleasas de restricción y desfosforilado. El ADN ligado se podía emplear a continuación para la transformación de *E. coli* DH10B electrocompetente (de Invitrogen). Unos transformandos positivos pudieron ser identificados mediante una PCR de colonia, un análisis por restricción y una secuenciación.

5 Para la expresión de la clorofilasa, el Tuner(DE3) pLacI de *E. coli* (de Novagen) se pudo transformar con un clon plasmídico, que contenía un inserto verificado. Los cultivos se hicieron crecer en el medio 2xYT, reunido con kanamicina (50 µg/ml) y cloramfenicol (34 µg/ml) a 37 °C. En el caso de una densidad óptica de aproximadamente 0,8 se indujo la expresión mediante la adición de isopropiltiogalactósido (IPTG) 1 mM. A continuación se prosiguió la

10 **2. Purificación de una clorofilasa recombinante procedente de *E. coli***  
Las células fueron cosechadas por centrifugación y resuspendidas en un 20 mM de un tampón de fosfato de sodio (de pH 7,4) con 500 mM de NaCl, 20 mM de imidazol y 0,5 mg/ml de lisozima, e incubadas a la temperatura ambiente. La disgregación de las células se efectuó mediante una incorporación con congelación repetida tres veces en nitrógeno líquido con una subsiguiente nueva descongelación a aproximadamente 42 °C o por ultrasonidos. La

15 tanda fue centrifugada, encontrándose la clorofilasa, como una proteína soluble, en el material sobrenadante. La clorofilasa fue a continuación purificada adicionalmente a continuación a través de una cromatografía por afinidad con metales. Para esto, la matriz de afinidad con metales se equilibró con 20 mM de un tampón de fosfato de sodio (de pH 8) con 500 mM de NaCl, 20 mM de imidazol y 10 % de glicerol, después de la aplicación de una muestra la

20 matriz se lavó con el mencionado tampón, y a continuación la clorofilasa se eluyó con 20 mM de un tampón de fosfato de sodio (de pH 8) con 500 mM de NaCl, 250 mM de imidazol y 10 % de glicerol.

### 3. Medición de la actividad de clorofilasa

25 La actividad de la clorofilasa expresada se determinó con ayuda de la solubilidad en agua aumentada del producto de reacción resultante, la clorofilida. La reacción se llevó a cabo en una tanda de 100 µl, que contenía 100 µM de clorofila procedente de espinacas (Fluka), 20 % de acetona (v/v = volumen/volumen) y 100 mM de Na-MOPS de pH 7,0. La tanda de reacción se incubó mediando sacudimiento a 37 °C durante 60 min y a continuación se detuvo por

30 adición de 50 µl de acetona, 50 µl de n-hexano y 5 µl de Tris-Cl (2 M; de pH 9,0). La mezcla se homogeneizó bien mediante fuerte agitación y a continuación la separación de fases se aceleró mediante una centrifugación durante dos minutos. Mediante la reacción de la clorofilasa, la clorofilida soluble en agua se encontraba en la fase acuosa inferior y la clorofila que no había reaccionado se encontraba en la fase orgánica superior. Para la cuantificación se

reunieron 80 µl de la fase acuosa con 120 µl de metanol y se midió la fluorescencia de la clorofilida excitada (Ex 355 nm; Em 660 nm). La cantidad de clorofilida formada se determinó con ayuda de una curva de calibración patrón.

### 4. Expresión de una galactolipasa recombinante en *Pichia pastoris*

35 El casete de gen sintético de la proteína 2 relacionada con la lipasa de páncreas humano, una galactolipasa, flanqueado por unos sitios de reconocimiento para las endonucleasas de restricción KpnI y PglI se clonó en un vector de expresión en *Pichia*, tal como por ejemplo pGK1 o pGAPZα. Para esto, tanto el gen sintético como también el correspondiente vector de expresión, que a continuación fue todavía desfosforilado, se digirieron con las endonucleasas de restricción de acuerdo con la prescripción del fabricante. Los ácidos nucleicos digeridos se

40 fraccionaron según los tamaños por medio de una electroforesis en gel de agarosa, y se purificaron y después de esto se ligaron con la ligasa de ADN de T4 de acuerdo con la prescripción del fabricante. El ADN se empleó a continuación para la transformación de *E. coli* DH10B electrocompetente. Los transformandos positivos se

identificaron mediante una PCR de colonia, un análisis por restricción y una secuenciación.

45 Para la expresión de la lipasa se transformó *Pichia pastoris* con un clon plasmídico verificado. La expresión se detectó sobre placas YPD reunidas con tributirina, a causa de una formación de un halo en el caso de una secreción activa de lipasas. De los clones activos con lipasas se formularon a continuación unos cultivos líquidos en un medio YPD reunido con zeocina (100 µg/l). Los cultivos se incubaron mediando sacudimiento a 30 °C durante 48 hasta 72 horas. Después de esto, las células se separaron por centrifugación desde el material sobrenadante de cultivo, en el que se encontraba la lipasa. El material sobrenadante del cultivo se desalinizó mediante una diafiltración y se

concentró mediante una liofilización.

### 5. Medición de la actividad de la lipasa

50 La actividad de la lipasa se siguió mediante el aumento de la extinción a 405 nm durante la hidrólisis del butirato de p-nitrofenilo pNP-C4 o del caprilato de p-nitrofenilo pNP-C8. La reacción se llevó a cabo en una tanda de 1 ml, que contenía 2 mM del éster p-nitro-fenílico, 50 mM de un tampón de fosfato de potasio (de pH 8) y 0,1 % de Triton X-100. La elevación de la extensión a 405 nm se siguió de una manera continua durante un período de tiempo de

55 por lo menos un minuto. Con ayuda del coeficiente de extinción del p-nitro-fenol  $\epsilon_{(pNP, 405 \text{ nm}, \text{pH } 8)} = 16,05 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  se determinó la actividad volumétrica a partir del aumento. Una unidad corresponde a la cantidad de la enzima que cataliza la puesta en libertad a 22 °C de 1 µmol de p-nitro-fenol en un minuto en la tanda de ensayo mas arriba descrita.

**6. Determinación de la liberación de clorofilida a partir de cloroplastos**

- Los cloroplastos para este ensayo se aislaron a partir de hojas de espinacas. Para esto unas hojas frescas de espinacas se trituraron con arena de mar en un mortero y se homogeneizaron en el mortero con 50 mM de un tampón de fosfato de potasio de pH 8 y 0,33 M de sacarosa. La suspensión se filtró a través de ocho capas de gasa y los desperdicios celulares, así como la arena restante, se eliminaron mediante una centrifugación a 200xg durante un minuto. Los cloroplastos existentes en el material sobrenadante fueron a continuación sedimentados mediante una centrifugación a 1.000xg durante diez minutos. El sedimento de cloroplastos se volvió a suspender en 50 mM de HEPES de pH 7,6 con 2 mM de EDTA, 1 mM de MgCl<sub>2</sub> y 0,33 M de sorbitol. El contenido de clorofila se determina por una medición de la extinción a 652 nm en 80 % de acetona con  $\epsilon = 34,5 \text{ l g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .
- La puesta en libertad de clorofilida a partir de cloroplastos se determinó con ayuda de la solubilidad en agua elevada del producto de la reacción. Unos cloroplastos correspondientes a un contenido de clorofila de 10  $\mu\text{g}$  se incubaron a 40 °C durante 60 min en una tanda de reacción de 150  $\mu\text{l}$ , que contenía 50 mM de un tampón de fosfato de potasio de pH 8, con diferentes cantidades de una clorofilasa (p.ej. 250 ng) y/o una lipasa (p.ej. 5 U de pNP-C4). A continuación, los cloroplastos se sedimentaron y se determinó la clorofilida puesta en libertad en el material sobrenadante. La determinación de la clorofilida se efectuó mediante una medición de la extinción a 652 nm o mediante una medición de la fluorescencia en MeOH al 60 % (Em 355 nm; Ex 655 nm).

Resultados:

	Testigo (sin enzima)	Clorofilasa (Ejemplo 2)	Galactolipasa (Ejemplo 4)	Clorofilasa / galactolipasa
Clorofilida puesta en libertad en el material sobrenadante	1,7 %	3,7 %	14,7 %	25,2 %

- 7. Eliminación de manchas causadas por hierba desde superficies textiles**
- Para la determinación de la capacidad de lavado, un tejido de telar de algodón en forma de trapitos (WFK 10A, de Wäschereiforschung Krefeld) se tiñó uniformemente con hierba recientemente cortada. Para el envejecimiento, las manchas se almacenaron en seco durante por lo menos 3 días mediando exclusión de la luz.
- A continuación los trapitos (aproximadamente de 1  $\text{cm}^2$ ) se trataron en primer lugar durante 2 h a 37 °C con 500  $\mu\text{l}$  de una solución de enzimas que contenía ~3  $\mu\text{g}$  de una clorofilasa (Ejemplo 2) y ~7,5 U (pNP-C4) de una galactolipasa (Ejemplo 4). Los trapitos fueron a continuación lavados a mano a 40 °C con una solución de un agente de lavado (agente de lavado Spee Color, de Henkel Düsseldorf). El grado de eliminación del ensuciamiento que contenía clorofila se determinó a continuación con un aparato de medición del grado de blancura. Se reproduce el valor de delta R como diferencia del tejido de ensayo tratado con respecto al tejido de ensayo no tratado.

Resultados del lavado (% de remisión)

- Un tejido de telar lavado con una solución de Spee Color remisión 36,9 %,  
 una solución de Spee Color más una clorofilasa remisión 44,6 %,  
 una solución de Spee Color más una clorofilasa más una galactolipasa remisión 54,5 %

Se reconoce que la combinación de acuerdo con el invento de una clorofilasa con una hidrolasa presenta un rendimiento de limpieza mejorado manifiestamente con respecto a la utilización de una clorofilasa sin la adición de una hidrolasa.

**REIVINDICACIONES**

1. Agentes de lavado y limpieza que contienen una clorofilasa y otra hidrolasa, que es una galactolipasa.
2. Agentes de lavado y limpieza de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizados por que ellos contienen por cada gramo desde 0,0001 mg hasta 10 mg de una clorofilasa y desde 0,0001 mg hasta 10 mg de una hidrolasa.
- 5 3. Agentes de lavado y limpieza de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizados por que ellos contienen adicionalmente una proteasa.
4. Agentes de lavado y limpieza de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizados por que ellos contienen adicionalmente una amilasa.
- 10 5. Utilización de un agente de lavado y limpieza de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 hasta 4 para la eliminación de ensuciamientos que contienen clorofila.