

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 455 242**

51 Int. Cl.:

**C11D 3/386** (2006.01)

**D06M 16/00** (2006.01)

**C12N 9/08** (2006.01)

**C11D 3/00** (2006.01)

**C12N 9/42** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2008 E 08760676 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.03.2014 EP 2164943**

54 Título: **Proceso para biopulido y lavado con agente blanqueante combinado**

30 Prioridad:

**11.06.2007 EP 07109969**

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

**15.04.2014**

73 Titular/es:

**NOVOZYMES A/S (100.0%)  
Krogshøjvej 36  
2880 Bagsvaerd, DK**

72 Inventor/es:

**KUILDERD, HARM ALBERTUS;  
WU, GUIFANG;  
LI, HAIJING y  
ZHOU, QUAN**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

**ES 2 455 242 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

Proceso para biopulido y lavado con agente blanqueante combinado

5 **Referencia a un listado de secuencias**

[0001] Esta solicitud contiene un listado de secuencias en forma legible por ordenador. La forma legible por ordenador es incorporada aquí por referencia.

10 **Campo de la invención**

[0002] La presente invención se refiere a métodos para tratar textil, y más particularmente, a métodos para un biopulido y lavado con agente blanqueante combinado en una única fase, que comprenden tratar el textil con un sistema para la eliminación de peróxido de hidrógeno y un sistema enzimático para el biopulido.

15 **Antecedentes de la invención**

[0003] Normalmente, existe un proceso para eliminar el peróxido de hidrógeno residual después del blanqueo. Hay tres tipos de vías para hacer esto. Uno es lavar con agua varias veces, uno es tratar el baño con agentes reductores y el otro es el uso de catalasa. El uso de catalasa se ha hecho cada vez más popular. El proceso de preparación, que puede implicar descolado (para productos tejidos), descrudado, blanqueo y lavado con agente blanqueante, produce un textil adecuado para tinte. El biopulido se realiza antes o después del tinte. Hasta la fecha, el lavado con agente blanqueante, el biopulido y el tinte se realizan en pasos separados, véase Int. Dyer 188: 9 - 11 (2003), Pretreatment enzymes for combined treatments, Holme I.

[0004] A. Biopulido: el biopulido es un tratamiento específico de la superficie del hilo que mejora la calidad del tejido respecto al tacto y apariencia. Los efectos más importantes de biopulido se pueden caracterizar por menos pelusa y formación de frisado, brillo/lustre aumentado, tacto del tejido mejorado, blandura duradera aumentada y absorbancia de agua mejorada. El biopulido normalmente tiene lugar en el proceso de mojado de la producción de tejidos tricotados y tejidos en telar. El tratamiento de mojado comprende tales pasos como por ejemplo descolado, descrudado, blanqueo, lavado, tinte/impresión y acabado.

[0005] B. Lavado con agente blanqueante: el fin de blanqueo es eliminar completamente impurezas coloreadas, mejorar absorbancia, y conseguir una blancura adecuada y teñibilidad. Para obtener tonos claros puros en una variedad de fibras (particularmente en fibras naturales), es preciso blanquearlas antes del tinte. Esto permite que uno obtenga una buena fibra molida. Desde un punto de vista técnico y ecológico, peróxido de hidrógeno, sus derivados y productos de adición que liberan peróxido se usan generalmente para el proceso de blanqueo. No obstante, generalmente, el exceso de producto de peróxido permanece en la fibra y cuando esto ocurre puede interferir y tener un efecto adverso en tintes posteriores con tintes aniónicos, por ejemplo, tintes reactivos donde el tinte es en parte o totalmente destruido.

[0006] La destrucción del exceso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> después del blanqueo se denomina proceso de lavado con un agente blanqueante. Esto puede hacerse mediante aplicación de una catalasa al sustrato. Para obtener resultados consistentes, de alta calidad con cantidades comerciales de tejidos, los pasos de lavado con un agente blanqueante o de biopulido son normalmente realizados separadamente porque es muy difícil combinar los procesos enzimáticos debido a limitaciones de tratamiento relacionadas con el pH.

[0007] C. Tinte: El tinte de tejidos frecuentemente se considera que es el paso único más importante y costoso en la fabricación de tejidos textiles y prendas. Las clases principales de tintes son azoicos (mono-, di-, tri-, etc.), carbonilo (antraquinona y derivados de índigo), cianina, di- y trifenilmetano y ftalocianina. Todos estos tintes contienen grupos cromóforos, que dan lugar al color. Estas estructuras químicas constituyen diferentes clases de tinte celulósico, es decir artesa, azufre, azoico, directo, y tintes reactivos tal y como se define en el Colour Index. Tres de estos tipos de tinte implican un mecanismo de oxidación/reducción, es decir, artesa, azufre y tintes azoicos. El propósito del paso de oxidación/reducción en estos procedimientos de tinte es cambiar el tinte entre una forma insoluble y una soluble.

[0008] Los procedimientos de tratamiento y de tinte se realizan bien en un modo de lote o continuo, con el tejido en contacto con la corriente de tratamiento líquido en forma al ancho o de cuerda. En métodos continuos, se utiliza un saturador para aplicar productos químicos al tejido, después de lo cual el tejido se calienta en una cámara donde la reacción química tiene lugar. Una sección de lavado luego prepara el tejido para el siguiente paso de tratamiento. El tratamiento por lotes generalmente tiene lugar en un baño de tratamiento por el cual el tejido se circula a través del baño. Después de un periodo de reacción, los productos químicos son drenados, el tejido enjuagado y la siguiente sustancia química es aplicada. El tratamiento pad-batch discontinuo implica una aplicación continua de tratamiento químico seguido de un periodo de reposo, que, en el caso de pad-batch frío, puede ser uno o más días.

[0009] Independientemente de la utilización de métodos de lote, continuo, o métodos de pad-batch discontinuo, los pasos de lavado con un agente blanqueante, biopulido y de tinte hasta ahora no han sido compatibles, debido a la amplia variación de condiciones presentes en cada uno de los pasos. Consecuentemente, ha sido necesario enjuagar

o de otra manera tratar el tejido o reemplazar las soluciones de tratamiento entre el lavado con agente blanqueante, biopulido y tinte. Así, existe una necesidad en la técnica de armonización de estos tres pasos de modo que se puedan realizar en un baño único simultáneamente, para acortar el tiempo de procesamiento, conservar materiales, y reducir el flujo de residuos.

5

## Resumen de la invención

[0010] Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención proporciona un proceso de tratamiento textil en un único paso para el biopulido y el lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno combinado, que comprende tratar el textil con una única solución que contiene (i) una catalasa y/o agente reductor químico, seleccionado entre tiosulfato de sodio, bisulfito de sodio, hidrosulfito de sodio e hiposulfato de sodio; para la eliminación de peróxido de hidrógeno, y (ii) un sistema enzimático que comprende celulasa para el biopulido, donde el proceso combinado de biopulido y lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno tiene lugar después de un paso de blanqueo de peróxido de hidrógeno para tratar el textil.

15

[0011] El proceso de biopulido y lavado con agente blanqueante puede estar además combinado con el paso de tinte y realizado en una solución única. Por consiguiente, en una forma de realización del primer aspecto de la presente invención, la solución se suplementa con uno o más tintes, y el método comprende incubar el textil durante un tiempo suficiente para conseguir tejido teñido.

20

[0012] Preferiblemente, el tinte es colorante reactivo. Preferiblemente, el sistema para la eliminación peróxido de hidrógeno es el sistema enzimático comprende catalasa. El sistema enzimático para biopulido comprende celulasa y puede comprender además proteasa.

25

[0013] En una forma de realización alternativa, el sistema para la eliminación peróxido de hidrógeno es agente reductor químico. El sistema enzimático para biopulido comprende celulasa, y puede comprender además proteasa.

30

[0014] Preferiblemente, el textil es un tejido de celulosa o que contiene celulosa, tal como algodón, viscosa, rayón, ramio, lino, liocel, o mezclas derivadas, o mezclas de cualquiera de estas fibras junto con fibras sintéticas u otras fibras naturales.

35

[0015] Preferiblemente, la celulasa es derivada de especies de *Humicola*, *Thermomyces*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Myceliophthora*, *Phanerochaete*, *Irpex*, *Scytalidium*, *Schizophyllum*, *Penicillium*, *Thielavia*, *Aspergillus*, o *Geotricum*, y más preferiblemente la celulasa es derivada de *Thielavia terrestris*, *Myceliophthora thermophila*, *Humicola insolens*, *Trichoderma reeseli*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus aculeatus*, y *Aspergillus niger*.

40

[0016] Preferiblemente, la catalasa es derivada de bacterias tal como cepa de *Bacillus*, *Pseudomonas* o de *Streptomyces*; levadura tal como *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Yarrowia* o *Schizosaccharomyces*; fúngicas tal como cepa *Acremonium*, *Aspergillus*, *Coprinus*, *Auraobasidium*, *Bjerkandera*, *Humicola*, *Ceriporiopsis*, *Coriolus*, *Cryptococcus*, *Filibasidium*, *Fusarium*, *Magnaporthe*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Phlebia*, *Piromyces*, *Pleurotus*, *Schizophyllum*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolyocladium*, *Trametes* o *Trichoderma*; o animal tal como hígado de cerdo, hígado de res.

45

[0017] Por consiguiente, una composición enzimática adecuada para uso en el primer aspecto de la presente invención comprende (i) una catalasa y/o agente reductor de sustancia química, seleccionado entre tiosulfato de sodio, bisulfito de sodio, hidrosulfito de sodio e hiposulfato de sodio; para la eliminación peróxido de hidrógeno, en combinación con (ii) un sistema enzimático que comprende celulasa para biopulido. Mientras que el sistema para la eliminación peróxido de hidrógeno puede ser catalasa, o agente reductor químico, el agente reductor químico preferido es hiposulfato de sodio.

50

[0018] Cuando el biopulido y el lavado con agente blanqueante ocurren en la misma solución de tratamiento, en comparación con procesos tradicionales que implican biopulido y lavado con agente blanqueante separados, un paso de ajuste de pH y un paso de ajuste de temperatura se evitan en la presente invención. Otra ventaja de la invención es que se ahorra/reduce tiempo de proceso ya que el biopulido y el lavado con agente blanqueante se pueden realizar simultáneamente. Los métodos de la presente invención de combinar el biopulido y el lavado con agente blanqueante en un paso así ahorran tiempo, energía y agua. Además, cuando el paso de tinte se combina con el lavado con agente blanqueante y el biopulido en la misma solución de tratamiento, hace el proceso incluso más eficaz.

55

## Descripción detallada de la invención

60

### Tejidos

[0019] En el contexto de la invención del término "textil" se refiere a tejidos.

65

[0020] Tejido se puede construir a partir de fibras por operaciones tejido, tricotado o no tejido. Tejer y tricotar requieren hilo como material de partida mientras que el tejido no tejido es el resultado de la unión aleatoria de fibras (el papel se puede considerar como no tejido). En el presente contexto, el término "tejido" está también destinado a incluir fibras y

otros tipos de tejidos procesados.

[0021] El tejido tejido se construye tejiendo hilos de "relleno" o de trama entre hilos de urdimbre estirados en la dirección longitudinal en el telar. Los hilos de urdimbre deben ser dimensionados antes del tejido para lubricarlos y protegerlos de la abrasión en la inserción a alta velocidad de los hilos de relleno durante el tejido. El hilo de relleno se puede tejer a través de las madejas de urdimbre en una forma "encima de uno - debajo del siguiente" (tejido sencillo) o por "uno encima - debajo de dos" (sarga) o cualquier otra infinidad de permutaciones. La resistencia, textura y modelo están relacionados no sólo con el tipo/calidad del hilo pero también el tipo de tejido. Generalmente, vestidos, camisas, pantalones, sábanas, toallas, cortinas, etc. se producen a partir de tejido tejido.

[0022] Tricotar es formar un tejido uniendo bucles entretejidos de hilo. A diferencia del tejido tejido que se construye a partir de dos tipos de hilo y tiene muchos "extremos", el tejido tricotado se produce de una única cadena continua de hilo. Como con el tejido, hay muchas formas diferentes de unir los bucles de hilo y las propiedades del tejido final dependen tanto del hilo como del tipo de punto. Ropa interior, suéteres, calcetines, camisas deportivas, sudaderas, etc. son derivados de tejidos tricotados.

[0023] Tejidos no tejidos son las hojas de tejido hechas uniendo y/o entretejiendo fibras y filamentos por procesos mecánicos, térmicos, mediados por sustancias químicas o solventes. El tejido resultante puede estar en forma de estructuras tipo red, lámina o películas. Ejemplos típicos son toallas, toallitas, batas quirúrgicas, fibras para la forma "respetuosa con el medio ambiente", medios de filtro, ropa de cama, materiales de techar, refuerzo para tejidos bidimensionales y muchos otros.

[0024] Según la invención, el método de la invención se puede aplicar para cualquier tejido conocido en la técnica, (tejido, tricotado, o no tejido). En particular el proceso de la presente invención se puede aplicar a tejidos de celulosa o que contienen celulosa, tal como algodón, viscosa, rayón, ramio, lino, liocel (p. ej. Tencel, producido por Courtaulds Fibers), o mezclas derivadas, o mezclas de cualquiera de estas fibras junto con fibras sintéticas (p. ej., poliéster, poliamida, nailon) u otras fibras naturales tal como lana y seda, tal como mezclas viscosa/algodón, mezclas liocel/algodón, mezclas viscosa/lana, mezclas liocel/lana, mezclas algodón/lana; lino (tela de lino), ramio y otros tejidos basados en fibras celulósicas, incluyendo todas las mezclas de fibras celulósicas con otras fibras tal como lana, poliamida, fibras acrílicas y de poliéster, por ejemplo, mezclas viscosa/algodón/poliéster, mezclas lana/algodón/poliéster, mezclas lino/algodón etc. el término "lana," significa cualquier producto de pelo de animal comercialmente útil, por ejemplo, lana de oveja, camello, conejo, cabra, llama, y conocidas como lana de merino, lana Shetland, lana de cachemir, lana de alpaca, mohair, etc. e incluye fibra de lana y pelo de animales. El método de la invención se puede usar con lana o material de pelo de animal en forma de cinta de lana peinada, fibra, hilo, o tejido tricotado o tejido. El tratamiento enzimático puede también efectuarse en la borra suelta o en fibras hechas de lana o material de pelo de animales. El tratamiento se puede realizar a muchos estadios diferentes de tratamiento. El tejido que debe ser blanqueado puede ser teñido o no teñido. Según la invención textil, se puede reducir, inspeccionar y/o blanquear en el medio acuoso en presencia de una enzima oxidante de ácido graso.

#### 40 **Composición enzimática**

[0025] Como se usa en la presente invención, una composición enzimática comprende un sistema de enzimas de biopulido que comprende celulasa, y un sistema de eliminación de peróxido de hidrógeno que comprende una catalasa y/o agente reductor químico, seleccionado entre tiosulfato de sodio, bisulfito de sodio, hidrosulfito de sodio e hiposulfato de sodio, que se puede formular como un líquido (p. ej. acuoso), un sólido, un gel, una pasta o una formulación de producto seco. Por consiguiente, la composición de enzimas puede comprender una o más enzimas de biopulido, y una o más enzimas para la eliminación de peróxido de hidrógeno o uno o más agentes de reducción químicos para la eliminación de peróxido de hidrógeno.

[0026] "Sistema de enzimas de biopulido" comprende una o más enzima(s) de biopulido, al menos una de las cuales es una celulasa. Otras enzimas adecuadas para otra inclusión en un "sistema de enzimas de biopulido" incluyen proteasa. "Sistema de eliminación de peróxido de hidrógeno" comprende una o más enzima(s) tal como catalasa, y/o agente(s) de reducción químicos para la eliminación de peróxido de hidrógeno, que puede también ser denominado "Sistema de lavado con agente blanqueante".

#### 55 **Enzimas de biopulido:**

[0027] El proceso de la invención comprende tratamiento del tejido con celulasa (y opcionalmente también proteasa).

[0028] La celulasa es generalmente usada en el proceso de biopulido para tejidos de textil tipo celulósico, y mezclas de fibras celulósicas/fibras sintéticas, mientras que la proteasa se usa en el proceso de resistencia a la contracción para fibras de proteína natural tales como lana y seda. Preferiblemente, la celulasa junto con proteasa se puede usar en el proceso de biopulido de mezclas de fibras celulósicas con otras fibras, tales como mezclas de fibras celulósicas/lana, mezclas de fibras celulósicas/fibras sintéticas/lana y etc.

Celulasa

[0029] El término "celulasa" denota una enzima que contribuye a la hidrólisis de celulosa, tal celobiohidrolasa (abreviada como, "CBH" nomenclatura enzimática E.C. 3.2.1.91), una endoglucanasa (de ahora en adelante abreviada como "EG", E.C. 3.2.1.4), o una beta-glucosidasa (abreviada como "BG", E.C. 3.2.1.21). Celulasas se clasifican en una serie de familias enzimáticas que engloban actividades endo y exo al igual que la capacidad hidrolítica de la celobiosa. La celulasa usada en la práctica de la presente invención puede derivar de microorganismos que se conocen por ser capaces de producir enzimas celulolíticas, tal como, por ejemplo, especies de *Humicola*, *Thermomyces*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Myceliophthora*, *Phanerochaete*, *Irpex*, *Scytalidium*, *Schizophyllum*, *Penicillium*, *Thielavia*, *Aspergillus*, o *Geotricum*, particularmente *Humicola insolens*, *Fusarium oxysporum*, o *Trichoderma reesei*. Ejemplos no limitativos de celulasas adecuadas están descritos en la patente EE. UU. n.º 4,435,307; solicitud de patente europea n.º 0 495 257; solicitud de patente PCT n.º WO91/17244, WO91/17243, WO98/12307; y solicitud de patente europea n.º EP-A2-271 004.

[0030] Las celulasas usadas en esta invención pueden ser monocomponente o multi-componente. Monocomponente, es decir una celulasa que está esencialmente libre de otras proteínas, en particular otras celulasas. Enzimas monocomponentes se pueden preparar económicamente por tecnología del ADN recombinante, es decir se pueden producir por clonación de una secuencia de ADN que codifica el monocomponente, posteriormente transformar una célula huésped adecuada con la secuencia de ADN y expresar el componente en el huésped. Celulasas de multi-componentes contienen más de una celulasa. Celulasas de muti- componentes pueden ser mezcla de dos o más celulasas, o se pueden derivar de cepa de tipo salvaje.

[0031] La secuencia de ADN codificante para una celulasa útil puede por ejemplo ser aislada mediante selección de una genoteca de ADNc del microorganismo en cuestión y selección en cuanto a clones que expresan la actividad enzimática apropiada (es decir, actividad de celulasa)

[0032] Una secuencia de ADN codificante para una enzima homóloga, es decir una secuencia de ADN análoga, puede ser obtenible a partir de otros microorganismos. Por ejemplo, la secuencia de ADN se puede derivar seleccionando de forma similar de una genoteca de ADNc de otro hongo, tal como una cepa de un *Aspergillus sp.*, en particular una cepa de *A. aculeatus* o *A. Niger*, una cepa de *Trichoderma sp.*, en particular una cepa de *T. reesei*, *T. viride*, *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* o *T. koningii* o una cepa de un *Neocallimastix sp.*, un *Piromyces sp.*, un *Penicillium sp.*, un *Agaricus sp.*, o un *Phanerochaete sp.*

[0033] Preferiblemente, la celulasa deriva o es producible por una cepa de *Scytalidium (f. Humicola)*, *Fusarium*, *Myceliophthora*, más preferiblemente derivado o producible por *Scytalidium thermophilum (f. Humicola insolens)*, *Fusarium oxysporum* o *Myceliophthora thermophila*, de la forma más preferible de *Humicola insolens*, DSM 1800, *Fusarium oxysporum*, DSM 2672, o *Myceliophthora thermophila*, CBS117.65.

[0034] En una forma de realización de la invención, la celulasa es una endoglucanasa, preferiblemente celulasa de familia 45 EG, como la secuencia de aminoácidos de la endoglucanasa de *Thielavia terrestris* mostrada en la SEC ID n.º 1 (como se describe en WO 96/29397) o es un análogo de dicha endoglucanasa que es al menos un 60 % homóloga a la secuencia mostrada en la SEC ID n.º 1, reacciona con un anticuerpo dirigido contra dicha endoglucanasa, y/o se codifica por una secuencia de ADN que hibridiza con la secuencia de ADN que codifica dicha endoglucanasa. En otra forma de realización de la invención, la celulasa es una endoglucanasa que comprende la secuencia de aminoácidos de la endoglucanasa de *Humicola insolens* mostrada en la SEC ID n.º 2 (como se describe en WO 91/17243) o es un análogo de dicha endoglucanasa que es al menos un 60 % homólogo a la secuencia mostrada en la SEC ID n.º 2, reacciona con un anticuerpo dirigido contra dicha endoglucanasa, y/o se codifica por una secuencia de ADN que hibridiza con la secuencia de ADN que codifica dicha endoglucanasa. En otra forma de realización de la invención, las celulasas usadas en la invención son productos de enzima celulasa multicomponentes comercialmente disponibles tal como Cellusoft L, Cellish L (Novozymes A/S, Dinamarca), Primafast 100, Primafast 200 (Genencor internacional Inc.), Rocksoft ECA (Dyadic), y Youteer 800 (Youteer Co. Ltd, China).

[0035] La célula huésped que se transforma con la secuencia de ADN es preferiblemente una célula eucariota, en particular una célula fúngica tal como una levadura o célula micótica filamentosa. En particular, la célula puede pertenecer a unas especies de *Aspergillus* o *Trichoderma*, de la forma más preferible *Aspergillus oryzae* o *Aspergillus niger*. Células fúngicas se pueden transformar por un proceso que implica la formación de protoplasto y transformación del protoplasto seguida de regeneración de la pared celular en un modo conocido per se. El uso de *Aspergillus* como un microorganismo huésped está descrito en EP 238 023 (Novo Nordisk A/S), el contenido está por la presente incorporado por referencia. La célula huésped también puede ser una célula de levadura, por ejemplo una cepa de *Saccharomyces*, en particular *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces kluyveri* o *Saccharomyces uvarum*, una cepa de *Schizosaccharomyces sp.*, tal como *Schizosaccharomyces pombe*, una cepa de *Hansenula sp.*, *Pichia sp.*, *Yarrowia sp.* tal como *Yarrowia lipolytica*, o *Kluyveromyces sp.* tal como *Kluyveromyces lactis*.

[0036] En el contexto, un análogo de las proteínas comprende "proteínas de variante". En algunas formas de realización preferidas, las proteínas de variantes difieren de una proteína progenitora, por ejemplo, una proteína tipo salvaje, y la

una de la otra por un número pequeño de residuos de aminoácidos. En el presente contexto, el término "homólogo" o "secuencia homóloga" pretende indicar una secuencia de aminoácidos que difiere de otra proteína, por uno o más residuos de aminoácidos, preferiblemente 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más residuos de aminoácidos. Por ejemplo, en algunas formas de realización, proteínas de variantes tienen de una a diez diferencias respecto a la proteína progenitora. La secuencia homóloga puede ser una resultante de la modificación de una secuencia de aminoácidos mostrada en estos listados, por ejemplo implicando sustitución de uno o más residuos de aminoácidos en uno o más sitios diferentes en la secuencia de aminoácidos, eliminación de uno o más residuos de aminoácidos en uno o ambos extremos de la enzima o en uno o más sitios en la secuencia de aminoácidos, o inserción de uno o más residuos de aminoácidos en uno o más sitios en la secuencia de aminoácidos.

[0037] No obstante, como será aparente al experto en la materia, los cambios de aminoácidos son preferiblemente de una naturaleza menor, esto es sustituciones de aminoácidos conservadoras que significativamente no afectan el pliegue o actividad de la proteína, deleciones pequeñas, tópicamente de uno a aproximadamente 30 aminoácidos; extensiones pequeñas amino o carboxilo terminales, tales como un residuo de metionina de amino terminal, un péptido de enlace pequeño de hasta aproximadamente 20-25 residuos, o una extensión pequeña que facilita la purificación, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión. Véase en general Ford et al., Protein Expression and Purification 2: 95-107, 1991. Ejemplos de sustituciones conservadoras están en el grupo de aminoácidos básicos (tal como arginina, lisina, histidina), aminoácidos ácidos (tal como ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (tal como glutamina y asparagina), aminoácidos hidrofóbicos (tal como leucina, isoleucina, valina), aminoácidos aromáticos (tal como fenilalanina, triptófano, tirosina) y aminoácidos pequeños (tal como glicina, alanina, serina, treonina, metionina).

[0038] La modificación de la secuencia de aminoácidos puede adecuadamente ser realizada modificando la secuencia de ADN que codifica la enzima, por ejemplo por mutagénesis dirigida al sitio o aleatoria o una combinación de estas técnicas conforme a procedimientos bien conocidos. Alternativamente, la secuencia homóloga puede ser una de una enzima derivada de otro origen que las celulasas correspondientes a las secuencias de aminoácidos mostradas en cada uno de los listados de secuencias mostrados de ahora en adelante, respectivamente. Así, "homólogo" puede por ejemplo indicar un polipéptido codificado por ADN que hibridiza la misma sonda que el ADN que codifica la celulasa con la secuencia de aminoácidos en cuestión bajo determinadas condiciones especificadas (tal como prerremojado en 5 x SSC y prehibridación durante 1 h a ~40°C en una solución de 20 % formamida, solución de Denhardt 5x, 50 mM fosfato sódico, pH 6,8, y 50 mg de ADN del timo de ternero ultrasonificado desnaturalizado, seguido de hibridación en la misma solución suplementada con 100 mM ATP durante 18 h a ~40°C). La secuencia homóloga normalmente mostrará un grado de homología (en términos de identidad) de al menos un 50 %, tal como al menos un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o incluso un 95 % con las secuencias de aminoácidos mostradas en cada uno de los listados de secuencias mostrados de ahora en adelante, respectivamente.

[0039] La homología a la que se hace referencia anteriormente se determina como el grado de identidad entre las dos secuencias que indican una derivación de la primera secuencia a partir de la segunda. La homología puede ser adecuadamente determinada mediante programas informáticos conocidos en la técnica tal como GAP proporcionado en el paquete de programa GCG (Needleman, S.B. and Wunsch, C.D., Journal of Molecular Biology, 48: 443-453, 1970).

#### Proteasas

[0040] Cualquier proteasa adecuada para uso en la presente invención puede ser empleada.

[0041] Proteasas adecuadas incluyen aquellas de origen animal, vegetal u origen microbiano, preferiblemente de origen microbiano. Preferiblemente, la proteasa puede ser una serina proteasa o una metaloproteasa, más preferiblemente, una proteasa microbiana alcalina o una proteasa de tipo tripsina. Ejemplos de proteasas incluyen aminopeptidasas, incluyendo prolil aminopeptidasa (3.4.11.5), X-pro aminopeptidasa (3.4.11.9), leucil aminopeptidasa bacteriana (3.4.11.10), aminopeptidasa termofílica (3.4.11.12), lisil aminopeptidasa (3.4.11.15), triptofanil aminopeptidasa (3.4.11.17), y metionil aminopeptidasa (3.4.11.18); serina endopeptidasas, incluyendo quimiotripsina (3.4.21.1), tripsina (3.4.21.4), cucumisina (3.4.21.25), Braquiurina (3.4.21.32), cerevisina (3.4.21.48) y subtilisina (3.4.21.62); cisteína endopeptidasas, incluyendo papaína (3.4.22.2), ficaina (3.4.22.3), quimopapaina (3.4.22.6), asclepaína (3.4.22.7), actinidaina (3.4.22.14), caricaína (3.4.22.30) y ananaína (3.4.22.31); endopeptidasas aspárticas, incluyendo pepsina A (3.4.23.1), aspergillopepsina I (3.4.23.18), Penicillopepsina (3.4.23.20) y Saccharopepsina (3.4.23.25); y metaloendopeptidasas, incluyendo Bacillolisina (3.4.24.28).

[0042] Proteasas disponibles comercialmente incluyen Alcalase, Savinase, Primase, Duralase, Esperase, Kannase, y Durazym (disponible de Novozymes A/S), Maxatase, Maxacal, Maxapem, Properase, Purafect, Purafect OXP, FN2, FN3 y FN4 (disponible de Genencor internacional Inc.).

[0043] También son útiles en la presente invención variantes de proteasa, tales como aquellas descritas en EP 130,756 (Genentech), EP 214,435 (Henkel), WO 87/04461 (Amgen), WO 87/05050 (Genex), EP 251,446 (Genencor), EP 260,105 (Genencor), Thomas et al., (1985), Nature, 318, p. 375-376, Thomas et al., (1987), J. Mol. Biol., 193, pp. 803-813, Russel et al., (1987), Nature, 328, p. 496-500, WO 88/08028 (Genex), WO 88/08033 (Amgen), WO 89/06279 (Novozymes A/S), WO 91/00345 (Novozymes A/S), EP 525 610 (Solvay) and WO 94/02618 (Gist-Brocades N.V.). La

actividad de proteasas se puede determinar como se describe en, "Methods of Enzymatic Analysis" third edition, 1984, Verlag Chemie, Weinheim, vol. 5.

#### Sistema de lavado con un agente blanqueante:

[0044] El sistema de lavado con un agente blanqueante puede ser catalasa como enzima de lavado con agente blanqueante y/o un agente reductor químico para eliminar peróxido de hidrógeno en la solución.

#### Enzimas de lavado con un agente blanqueante:

[0045] Las enzimas de lavado con un agente blanqueante se refieren a enzimas que pueden catalizar la conversión de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, tal como catalasa (EC 1.11.1.6). Catalasas preferidas que son adecuadas para uso en un proceso según la invención son catalasas derivadas de bacterias tal como cepa *Bacillus*, *Pseudomonas* o *Streptomyces*; levadura tal como *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Yarrowia* or *Schizosaccharomyces*; fúngico tal como cepa de *Acremonium*, *Scytalidium*, *Aspergillus*, *Coprinus*, *Aureobasidium*, *Bjerkandera*, *Humicola*, *Ceriporiopsis*, *Coriolus*, *Cryptococcus*, *Filibasidium*, *Fusarium*, *Magnaporthe*, *Mucor*, *Myceliphthora*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Phlebia*, *Piromyces*, *Pleurotus*, *Schizophyllum*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, *Trametes* o *Trichoderma*; o animal tal como hígado de cerdo, hígado de res. Ejemplos no limitativos de catalasas adecuadas están descritos en WO92/17571, CN1563373, US2003100112-A1, EP1336659-A, US2003074697-A1, US6201167-91, US6022721-A, EP931831-A, JP11046760-A, W09317721-A, WO9309219-A, JP1086879-A y/o JP63003788-A. Ejemplos no limitativos son T 100; Oxy-Gone 400 (GCI); Fermcolase 1000 (Mitsubishi Gas Chemical) o Thermocatalase CTL 200 o JH CT 1800 (Mitsubishi Gas Chemical).

[0046] En una forma de realización de la presente invención, la catalasa usada es derivada de *Scytalidium thermophilum* con SEC ID n.º: 3 (como se describe en US 5,646,025), o proteínas análogas o particularmente variantes de esta.

[0047] Dependiendo de la actividad de la catalasa y el pH de la solución usada para aplicar la catalasa, preferiblemente la cantidad de catalasa usada es de 0,001 a 1 g/l, especialmente aproximadamente 5 g/l de solución usada para aplicar la catalasa.

#### Agente Reductor Químico

[0048] Sistema de reducción químico se refiere a agente(s) de reducción químicos para la eliminación de peróxido de hidrógeno catalizando la conversión de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, seleccionado de tiosulfato de sodio, bisulfato de sodio, hidrosulfato de sodio e hiposulfato de sodio.

#### Tinte

[0049] En la práctica de la presente invención, cualquier tinte se puede utilizar que sea compatible con las condiciones usadas para biopulido.

[0050] Materiales de tinte convencional, que comprenden uno o más colorantes reactivos, tal como, por ejemplo, C. I. rojo reactivo 1, 3, 6, 17, 120, 194, azul 4, 19,171 y 182, negro 5, violeta 5; colorantes de tina, tal como, por ejemplo, C. I. artesa amarillo 28, naranja 11 y 15, azul 6,16 y 20, verde 1 y 3, 8, marrón 1, negro 9,27; colorantes directos, tal como, C. I. rojo directo 81, amarillo 11 y 28, naranja 39, rojo 76, azul 78, 86, 106,107 y 108, negro 22; colorantes de azufre, tal como, por ejemplo, C. I. azufre negro 1 y 11, marrón 1, rojo 10; y colorantes azoicos, tal como, por ejemplo, C. I. componentes de acoplamiento 5 y 13 en combinación con C. I. componentes diazoicos azoicos 44 y 45. Tales colorantes se conocen bien en la técnica y están descritos, por ejemplo, en Shore, ed., Cellulosic Dyeing, Society of Dyers and Colorists, Alden Press, 1995; y en Colour Index, Society of Dyers and Colorists and American Association of Textile Chemists and Colorists, Vols. 1-8 Supplements, 1977-1988.

#### **Componentes adicionales:**

[0051] En algunas formas de realización de la invención, la solución acuosa o solución de lavado comprende además otros componentes, incluyendo sin limitación otras enzimas, al igual que surfactantes, estabilizador, agente humectante, agentes de dispersión, agentes antiespumantes, lubricantes, sistemas constructores, y similares, o una mezcla de estos, que mejoran el fregado y/o procesos blanqueadores y/o proporcionan efectos superiores relacionados con, por ejemplo, fuerza, resistencia a la formación de frisado, absorbancia de agua, y teñibilidad.

[0052] Las enzimas se pueden aislar a partir de su célula de origen o pueden ser producidas por recombinación, y pueden ser modificadas químicamente o genéticamente. Se entenderá que la cantidad de unidades de actividad enzimática para cada enzima adicional para ser usada en los métodos de la presente invención conjuntamente con una enzima de biopulido particular se puede determinar fácilmente usando ensayos convencionales.

[0053] Surfactantes adecuados para el uso en la práctica de la presente invención incluyen, sin limitación, surfactantes

no iónicos, aniónicos; catiónicos; y zwitteriónicos; que están típicamente presentes a una concentración de entre aproximadamente 0,2 % a aproximadamente 15 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 % en peso. Surfactantes aniónicos incluyen, sin limitación, alquilbencenosulfonato lineal,  $\alpha$ -olefinsulfonato, sulfato de alquilo (sulfato de alcohol graso), alcohol etoxisulfato, alcanosulfonato secundario, éster metílico de alfa-sulfo ácido graso, ácido alquil- o alquenisuccínico, y jabón. Surfactantes no iónicos incluyen, sin limitación, etoxilato de alcohol, etoxilato de nonilfenol, alquilpoliglicósido, óxido de alquildimetilamina, monoetanolamida de ácido graso etoxilado, monoetanolamida de ácido graso, amida de polihidroxi alquil ácido graso, y derivados de N-acilo N-alquilo de glucosamina ("glucamidas").

[0054] Sistemas constructores incluyen, sin limitación, aluminosilicatos, silicatos, policarboxilatos y ácidos grasos, materiales tales como tetraacetato de etilendiamina, y secuestrantes de iones metálicos tales como aminopolifosfonatos, particularmente ácido etilenodiamina tetrametilen fosfónico y ácido dietilentriamina pentametileno fosfónico, que se incluyen a una concentración de entre aproximadamente 5 % y 80 % en peso, preferiblemente entre aproximadamente 5 % y aproximadamente 30 % en peso.

[0055] Agentes antiespumantes incluyen sin limitación siliconas (Patente EE. UU. n.º 3,933,672; DC-544 (Dow Corning), que son típicamente incluidos a una concentración de entre aproximadamente 0,01 % y aproximadamente 1 % en peso.

[0056] Las composiciones también pueden contener agentes suspensores de suciedad, agentes de liberación de la suciedad, blanqueadores ópticos, abrasivos, y/o bactericidas. Todos tales otros componentes adecuados para uso textil son bien conocidos en la técnica.

#### **Proceso de solución única para lavado con agente blanqueante y biopulido**

[0057] El proceso de la presente invención de biopulido y lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno en una única fase tiene lugar después del paso de blanqueo de peróxido de hidrógeno para tratar textil.

[0058] La manera en la que la solución acuosa que contiene el sistema enzimático para sistema de biopulido y lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno se pone en contacto con el textil depende de si el régimen de tratamiento es continuo, pad-batch discontinuo o por lote. Por ejemplo, para tratamiento continuo, pad-batch discontinuo, la solución enzimática acuosa está preferiblemente contenida en un baño de saturación y se aplica continuamente al tejido con algodón conforme este viaja a través del baño, durante el proceso el tejido con algodón típicamente absorbe la solución de tratamiento a una cantidad de 0,5-1,5 veces su peso. En las operaciones de lote, el tejido con algodón se expone a la solución enzimática durante un periodo que varía de aproximadamente 5 minutos a 24 horas en una proporción solución-tejido de 4:1-50: 1.

[0059] La solución acuosa o solución de lavado típicamente tiene un pH de entre aproximadamente 4 y aproximadamente 11. Preferiblemente, el pH de la composición de tratamiento está entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10, preferiblemente entre aproximadamente 5 a aproximadamente 9, y de la forma más preferible aproximadamente 6 a aproximadamente 7.

[0060] En una forma de realización, el método de solución única para tratar tejido que contiene algodón se realiza a un pH por debajo de 9, más preferiblemente, por debajo de 8, e incluso más preferiblemente por debajo de 7.

[0061] La temperatura a la que se llevan a cabo los procesos de lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno y biopulido combinado de solución única dependerán del proceso usado. En el caso de proceso discontinuo pad-batch en frío, la temperatura para procesos de lavado con agentes de blanqueo de peróxido de hidrógeno y biopulido combinado de solución única está preferiblemente entre aproximadamente 15°C y aproximadamente 65°C, y de la forma más preferible entre aproximadamente 25°C y aproximadamente 60°C. Para procesos continuos y otros procesos de lote, la temperatura para realizar procesos de lavado con agentes de blanqueo de peróxido de hidrógeno y biopulido combinado de solución única está preferiblemente entre aproximadamente 35°C y aproximadamente 75°C, y de la forma más preferible entre aproximadamente 45°C y aproximadamente 65°C.

[0062] El sistema enzimático que comprende celulasa para biopulido es generalmente añadido a la solución única en una cantidad que es eficaz para generar suficiente efecto de biopulido del material textil. La(s) enzima(s) puede(n) preferiblemente ser dosificada(s) en una cantidad de 0,01 mg proteína/L a 1g proteína/L de la solución total, más preferiblemente de 0,1 mg proteína/L a 300mg proteína/L, de la forma más preferible de 1mg proteína/L a 150mg proteína/L.

[0063] La enzima catalasa para el lavado con agente blanqueador de peróxido de hidrógeno es generalmente añadida a la solución única en una cantidad que es eficaz para eliminar peróxido de hidrógeno. La(s) enzima(s) puede(n) preferiblemente ser dosificada(s) en una cantidad acerca de 0,001mg proteína/L a 1g proteína/L de la solución total, preferiblemente 0,01 mg proteína/L a 100 mg proteína/L, de la forma más preferible 0,15mg proteína/L a aproximadamente 1 mg proteína/L.

[0064] El agente reductor químico para lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno se puede dosificar en

una cantidad de aproximadamente 0,01 g/l a aproximadamente 10 g/l de la solución total, más preferiblemente, de aproximadamente 0,1 g/l a aproximadamente 3 g/l, de la forma más preferible, de aproximadamente 0,5 g/l a aproximadamente 1g/l.

5 [0065] Será entendido que la dosificación óptima y concentración de las enzimas, compuestos de blanqueo, estabilizadores de blanqueo, el volumen de la solución acuosa o solución de lavado, y el pH y temperatura variarán, dependiendo de: (i) la naturaleza de la fibra, es decir, fibra cruda, hilo, o textil; (ii) la(s) enzima(s) particular(es) usada(s), y la actividad específica de la(s) enzima(s); (iii) las condiciones de temperatura, pH, tiempo, etc., en el que el tratamiento tiene lugar; (iv) la presencia de otros componentes en la solución de lavado; y (v) el tipo de régimen de tratamiento usado, es decir continuo, pad-batch discontinuo, o lote. La optimización de las condiciones del proceso pueden ser determinadas utilizando experimentación rutinaria, tal como, estableciendo una matriz de condiciones y probando puntos diferentes en la matriz. Por ejemplo, la cantidad de enzima, la temperatura en la que tiene lugar el contacto, y el tiempo total de tratamiento pueden ser variados, después de lo cual los materiales celulósicos o textil resultantes se evalúan en cuanto a (a) resultado de frisado; y (b) ppm de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> residual.

15 [0066] Además, según la presente invención, los pasos de lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno, biopulido y pasos de tinte se pueden conseguir en un único baño. En una forma de realización, (i) añadiendo una única solución que comprende catalasa y celulasa para un lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno y biopulido en una única fase, una primera incubación se realiza durante un tiempo suficiente para eliminar el peróxido de hidrógeno residual, (ii) la solución de lavado es luego suplementada con tintes y una segunda incubación se realiza durante un tiempo suficiente y bajo condiciones apropiadas para conseguir un tinte eficaz. Preferiblemente, después de la adición de catalasa y celulasa el periodo de incubación para el paso (i) no es menor de 5 minutos, así la mayor parte del peróxido de hidrógeno ha sido eliminado. Más preferiblemente, el periodo de incubación para el paso (i) no es menos de 10 minutos, incluso más preferiblemente no es menos de 15 minutos y no más de 2 horas. De la forma más preferible, el periodo de incubación para el paso (i) es 10-20 minutos, para eliminar casi todo el peróxido de hidrógeno y acortar el tiempo de proceso completo.

25 [0067] Será entendido que antes o durante el paso (ii) de tintura, además comprende el ajuste de una o más propiedades de la composición de la solución de lavado, tal como fuerza iónica añadiendo sal. Y las condiciones de incubación en el paso de tinte también pueden diferir respecto a la temperatura, agitación, pH, tiempo, y similares. Los rendimientos de biopulido con enzimas todavía continúan durante la incubación del proceso de tintado, de modo que el tiempo de proceso entero será acortado.

30 [0068] Preferiblemente, el tinte usado en la presente invención es colorante reactivo, que funciona bien con la celulasa descrita aquí.

35 [0069] La sal adicionada antes o después de la adición de tinte es preferiblemente NaCl o Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> que controlan la absorción del tinte en la fibra. La concentración de sal en la solución de lavado depende de la concentración de tinte y qué especie de tinte usada. Normalmente, la concentración más alta de tinte es requerida, la concentración de sal más alta se necesita. Típicamente, el tinte en la solución de lavado es un 0,001-15 %, preferiblemente un 0,001-9 % del peso de tejido. La concentración de sal (por ejemplo, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) es 10-100 g/l.

40 [0070] La solución de lavado en el paso de tintura tiene preferiblemente un pH entre aproximadamente 5 y aproximadamente 8, de la forma más preferible entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7.

45 [0071] La temperatura a la que se realiza la tintura posterior puede estar entre aproximadamente 30°C y aproximadamente 100°C, preferiblemente entre aproximadamente 40°C y aproximadamente 90°C, y de la forma más preferible entre aproximadamente 40°C y aproximadamente 80°C.

50 [0072] Se entenderá que en la mayoría de los casos, el pH y temperatura en el paso de lavado con agente blanqueante y paso de biopulido son adecuados para el paso de tinte, especialmente para colorante reactivo. Así, no hay necesidad de ajustar pH y temperatura durante el tinte.

55 [0073] Los siguientes se destinan como ilustraciones no limitativas de la presente invención.

## EJEMPLOS

### Materiales y métodos

#### 60 Enzimas

[0074]

- Catalasa A: catalasa con SEC ID n.º:3

65

- Catalasa T100 (Genencor internacional Inc)

- Catalasa ASC 200(Mitsubishi)
- Celulasa neutra B con SEC ID n.º:2
- 5 - Celulasa neutra A con SEC ID n.º:1
- Celulasa ácida C: CELLUSOFT L™ (NovozymesA/S)
- Primafast Luna RL (Genencor internacional Inc)
- 10 - IndiAge Max L (Genencor internacional Inc)

Tejido

- 15 [0075]
- Tejido tricotado 460-60 blanqueado (Testfabrics; Inc.)
- Tejido teñido (prenda compra en Carrefour)

Tinte

- [0076]
- 25 - rojo reactivo BF-3B (Arugs textile auxiliary CO.LTD)
- amarillo reactivo BF-3R (Arugs textile auxiliary CO.LTD)
- reactivo TQ azul G (Arugs textile auxiliary CO.LTD)

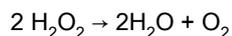
Tampón

- 30 [0077] 2,716g de dihidrógeno fosfato de potasio y 0,201g hidróxido sódico son disueltos en 1L agua desionizada. Ajuste de 1g/l NAAC con HAc a pH 5

**Métodos:**

Actividad de catalasa (ensayos KCIU)

- 40 [0078] Cuando se usa según la presente invención la actividad de catalasa se puede medir en KCIU. Un CIU descompondrá un (µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por minuto a pH 7,0, 25°C mientras la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se reduce de 10,3 a 9,2 µmoles por ml de mezcla reactiva.
- La catalasa cataliza la reacción de primer orden:



- 45 [0079] La degradación de peróxido de hidrógeno se monitoriza usando espectrofotometría a 240 nm. La longitud de tiempo para una reducción específica en la absorbancia, a una concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> específica, es una medida de la actividad de catalasa.

Reacción	
Concentración enzimática	approx.100 CIU/ml
Concentración de sustrato	10,3 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
pH	7,0 ± 0,05
Tampón	50 mM fosfato
Temperatura	25° C
Detección	
Longitud de onda	240 nm
Intervalo de absorbancia	0,450-0,400
Intervalo de tiempo	0,267 – 0,400 minutos (16-24 segundos)

- 50 [0080] Una carpeta que describe este método analítico con más detalle está disponible bajo solicitud a Novozymes A/S, Dinamarca, esta carpeta es por la presente incluida por referencia.

Actividad de celulasa (ECU)

- 55 [0081] Muestras de celulasa se incuban con un sustrato de carboximetilcelulosa (CMC). La degradación del sustrato

conduce a una reducción en la viscosidad, que es medida utilizando un viscosímetro de husillo vibracional. La reducción en la viscosidad es proporcional a la actividad de endocelulasa. La actividad de endocelulasa en ECU se mide con respecto a un estándar enzimático Novozyme A/S.

Condiciones de reacción	
Temperatura	40°C
pH	7,5
Concentración de sustrato	3,11 %(mN)
Periodo de incubación	30 Min
Concentración enzimática	0,097 -0,181 ECU/ml

5

[0082] Una carpeta que describe este método analítico con más detalle está disponible bajo solicitud a Novozymes A/S, Dinamarca, esta carpeta es por la presente incluida por referencia.

Actividad de celulasa (EGU)

10

[0083] Muestras de celulasa se incuban con sustrato de carboximetilcelulosa (CMC). La degradación del sustrato conduce a una reducción en la viscosidad, que es medida utilizando un viscosímetro de husillo vibracional. La reducción en la viscosidad es proporcional a la actividad de endoglucanasa.

Condiciones de reacción	
Temperatura	40°C
pH	6,0
(continuación)	
Concentración de sustrato	3,11 % (p/v)
Concentración enzimática	0,01-0,02 EGU/mL
Tiempo de reacción	30 Minutos

15

[0084] Una carpeta que describe este método analítico con más detalle está disponible bajo solicitud a Novozymes A/S, Dinamarca, esta carpeta es por la presente incluida por referencia.

Lavado con agente blanqueante (banda de prueba de peróxido)

20

[0085] La peroxidasa transfiere peróxido de oxígeno a un indicador redox orgánico. Este produce un producto de oxidación azul. Esta concentración de peróxido es medida de forma semicuantitativa por comparación visual de la zona de reacción de la tira reactiva analítica con los campos de una escala de color. El peróxido de hidrógeno se determina por inmersión de la zona de reacción de la tira reactiva analítica en la muestra de medición durante 1 segundo. Permite que el líquido de exceso se deslice a través del borde largo de banda sobre una toalla de papel absorbente y después 15 s determinar con qué campo de color en el marcador en el color de la zona de reacción coincide más exactamente. Leer el correspondiente resultado en mg/l de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> o si es necesario, estimar un valor intermedio.

25

Prueba de frisado

30

Martindale

[0086] El principio de la prueba de frisado es que dos muestras de un tejido de prueba se frota una contra la otra en un modelo continuamente en cambio, que asegura que las fibras de superficie de las muestras se doblan en cada dirección. Después de un número predeterminado de ciclos de frotamiento, la resistencia al desgaste de las muestras es visualmente evaluada por comparación con estándares de escala de foto EMPA. Hay cinco grados de los resultados de frisado

35

Nota 5: nada de frisado

40

Nota 4: frisado ligero

Nota 3: frisado moderado

45

Nota 2: frisado marcado

Nota 1: frisado pesado

1/2 Notas son permitidas

50

[0087] El método de prueba se refiere a GB/T 4802,2-1997

La muestra de frisado ICI

5 [0088] El probador de frisado ICI es la prueba más aplicable para usar en más tipos de tejido, tanto tejido como tricotado, y su método de prueba está conforme con BS EN ISO 12945-1 (entre otros estándares). El probador de frisado consiste en 2 cajas, cada una alineada con una lámina metálica que soporta material de unión de corcho de acabado esmerilado de 3,2 mm grueso. El probador presenta un contador automático que detiene la máquina después de cualquier número predeterminado de revoluciones.

10 [0089] La evaluación del estándar de frisado es visual, usando tanto las fotografías estándar o el esquema de escala. Las muestras evaluadas se montan sobre cartón y luego se estiman frente a fotos estándar o frente a una muestra no evaluada.

Estimación	Descripción	Puntos que se deben tomar en el consideración durante evaluación
5	Ningún cambio	Ningún cambio visual
4	Cambio ligero	Ligera pelusa de superficie
3	Cambio moderado	Muestra de prueba puede mostrar pelusa moderada y/o frisado formado aislado completamente
2	Cambio significativo	Pelusa considerada y/o frisado
1	Cambio severo	Pelusa densa y/o frisado que cubre la muestra

Contenido de proteína

15 [0090] Kit BCA (disponible de PIERCE) fue usado para la detección del contenido de proteína en el producto enzimático.

**Ejemplo 1**

20 Combinar el biopulido y lavado con agente blanqueante en un proceso conducido con un lavadómetro

[0091] Un 100 % del tejido de punto de algodón 460-60 fue comprado de Test Fabrics. Retales de tejido fueron cortados a aproximadamente 5g cada uno.

25 [0092] Un tampón a pH 6,5 fue usado para este estudio. 2,716g de dihidrógeno fosfato de potasio y 0 201 g hidróxido sódico fueron disueltos en 1 L de agua desionizada. El proceso fue conducido con un lavadómetro. El vaso de precipitados se llenó con 100ml de tampón y dos piezas de tejido de pre-corte.

30 1) Lavado principal: el vaso de precipitado se llenó de 100ml tampón. Algo de peróxido de hidrógeno se añadió a cada vaso de precipitados con 20 bolas de acero como especificado. Mientras tanto, una Celulasa A neutra fue dosificada a una concentración y catalasa A fue añadida luego la temperatura fue elevada a 55°C y mantenida durante 60 min.

2) Controlar el hidroperóxido residual con la banda de peróxido.

35 3) Inactivación: después del control, añadir el 1g/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en la máquina/vaso de precipitados luego elevar la temperatura a 80°C y funcionar durante 10min, drenado.

4) Enjuague frío: rellenado en agua fría y enjuagado durante 10min

40 5) Centrifugar el agua en los tejidos y secador de tambor.

6) Medir la pérdida de peso y resultado de frisado en los tejidos tratados.

45 [0093] Los resultados de la prueba se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1**

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al principio	Catalasa A (mg proteína /l)	Celulasa A neutra (mg proteína /l)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual después del tratamiento	Resultado de frisado
0	0	0	0	1,5-2
0	0	7	0	4-4,5
100ppm	0	7	>25ppm	4-4,5
0	0,34	7	0	4,5
100ppm	0,34	0	0	1,5-2
100ppm	0,34	7	0	4,5
350ppm	0,34	4,2	0	4-4,5

[0094] Como se puede observar de la tabla, los tejidos tratados en el proceso combinado de la invención con una combinación de catalasa y celulasa tienen menos frisado, y nada de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> residual detectable en la solución.

**Ejemplo 2**

Combinar biopulido y lavado con agente blanqueante en un proceso conducido con un wascator

5 [0095] Un 100 % del tejido de punto de algodón 460-60 fue comprado de Test Fabrics. El peso de los retales tejidos fue 1 kg.

10 [0096] Un tampón a pH 6,5 fue usado para este estudio. 2,716g de dihidrógeno fosfato de potasio y 0,201 g hidróxido sódico fueron disueltos en 1 L de agua desionizada. El proceso fue conducido con un wascator. 1kg tejido fue introducido en el wascator al principio del proceso.

15 1) Lavado principal: el wascator fue llenado con 10L de agua. La temperatura fue elevada a 55°C. Mientras tanto, 36g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y 14,5g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> fueron adicionados para ajustar el pH a 6,5. Algo de peróxido de hidrógeno se añadió al wascator como se especifica. Una celulasa neutra fue dosificada a una concentración y catalasa fue añadida y mantenida durante 60min.

2) Controlar el hidroperóxido residual con banda de peróxido después de 20min.

20 3) Inactivación: después del lavado principal, se drenó y rellenó el wascator y se adicionaron 1 g/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en el wascator luego se elevó la temperatura a 80°C y funcionar durante 10min, drenado.

4) Enjuague frío: rellenado en agua fría y enjuagado durante 10min

25 5) Centrifugar el agua en los tejidos y secador de tambor.

6) Medir el resultado de frisado en los tejidos tratados.

[0097] El resultado de la prueba se muestra en la tabla 2

30

**Tabla 2**

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al principio	Catalasa A (mg proteína /l)	Celulasa A neutra (mg proteína /l)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual después del tratamiento durante 20min	Resultado de frisado
100ppm	0,34	7	0	4,5

[0098] Como se puede observar de la tabla, los tejidos tratados en el proceso de la invención combinado con una combinación de catalasa A y celulasa A neutra tienen menos frisado, y nada de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> residual detectable en la solución

35 **Ejemplo 3**

Combinar biopulido y lavado con agente blanqueante en un proceso conducido en tejido teñido con un lavadómetro

40 [0099] Un 100 % tejido de algodón teñido fue comprado. Retales tejidos fueron cortados a aproximadamente 10g cada uno.

45 [0100] Un tampón a pH 6,5 fue usado para este estudio. 2,716g de dihidrógeno fosfato de potasio y 0,201 g hidróxido sódico fueron disueltos en 1L de agua desionizada. El proceso fue conducido con un lavadómetro. El vaso de precipitados se llenó con 100ml de tampón y una pieza de tejido de pre-corte.

50 1) Lavado principal: el vaso de precipitados se llenó de 100ml de tampón. Algo de peróxido de hidrógeno se añadió a cada vaso de precipitados con 20 bolas de acero como se especifica. Mientras tanto, una celulasa A neutra fue dosificada a una concentración y catalasa A fue añadida luego temperatura fue elevada a 55°C y mantenida durante 20min.

2) Controlar el hidroperóxido residual con banda de peróxido.

55 3) Inactivación: después del control, añadir 1g/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en la máquina/vaso de precipitados luego se eleva la temperatura a 80°C y funcionar durante 10min, drenado.

4) Enjuague frío: se rellena en agua fría y se enjuaga durante 10min

5) Centrifugar el agua en los tejidos y secador de tambor.

60 6) Medir el resultado de frisado en los tejidos tratados.

[0101] Los resultados de la prueba se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3**

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al principio	Catalasa A (mg proteína /l)	Celulasa A neutra (mg proteína /l)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual después del tratamiento	Resultado de frisado
0	0	0	0	2-2,5
350ppm	0	0	>25ppm	2-2,5
0	0	4,2	0	4
350ppm	0	4,2	>25ppm	3,85
350ppm	0,34	4,2	0	4
0	0	21	0	4,5-5
350ppm	0	21	>25ppm	4,5-5
350ppm	0,34	21	0	4,5-5

5 [0102] Como se puede observar a partir de la tabla anterior, los tejidos tratados en el proceso combinado de la invención con una combinación de catalasa y celulasa tienen menos frisado, y nada de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> residual detectable en la solución. La presente invención muestra efecto más ventajoso que aquellas que usan solo catalasa o celulasa.

#### Ejemplo 4

10

Combinar biopolido y lavado con agente blanqueante en un proceso con una celulasa ácida

[0103] Un 100 % tejido de punto de algodón 460-60 fue comprado de Test Fabrics. Retales tejidos fueron cortados a aproximadamente 5 g cada uno.

15

[0104] Un tampón a pH 5 fue usado para este estudio. 1g de acetato sódico fue disuelto en 1L de agua desionizada y el pH ajustado a 5 con ácido acético. El proceso fue conducido con un lavadómetro. El vaso de precipitados se llenó con 100ml de

20

tampón y dos piezas de tejido de pre-corte.  
1) Lavado principal: el vaso de precipitado se llenó de 100ml tampón. Algo de peróxido de hidrógeno se añadió a cada vaso de precipitados con 20 bolas de acero como se especifica. Mientras tanto, una celulasa ácida C fue dosificada a una concentración y catalasa A fue añadida luego la temperatura fue elevada a 55°C y mantenida durante 60min.

25

2) Controlar el hidroperóxido residual con banda de peróxido.

3) Inactivación: después del control, añadir el 1g/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en la máquina/vaso de precipitados luego se eleva la temperatura a 80°C y funcionar durante 10min, drenado.

30

4) Enjuague frío: se rellena en agua fría y se enjuaga durante 10min

5) Centrifugar el agua en los tejidos y secador de tambor.

35

6) Medir la pérdida de peso y resultado de frisado en los tejidos tratados.

[0105] Los resultados de la prueba se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4**

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al principio	Catalasa A (mg proteína /l)	Celulasa C ácida (mg proteína /l)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual después del tratamiento	Resultado de frisado
0	0	0	0	1,5-2
0	0	120	0	4-4,5
100ppm	0,34	120	0	3,5-4

#### Ejemplo 5

Combinar biopolido y lavado con agente blanqueante en un proceso con Primafast luna RL

45 [0106] Los procedimientos fueron iguales a los que se describen en el ejemplo 4 mientras que la celulasa usada fue Primafast luna RL y la catalasa usada fue catalasa A o catalasa T100, ASC 200 individualmente. El resultado de la prueba fue mostrado en la tabla 5.

**Ejemplo 6**

Combinar biopulido y lavado con agente blanqueante en un proceso con IndiAge Max L

5 [0107] Los procedimientos fueron iguales a los que se describen en el ejemplo 4 mientras que la celulasa usada fue Primafast luna RL y la catalasa usada fue catalasa A o catalasa T100, ASC 200 individualmente. El resultado de la prueba fue mostrado en la tabla 5.

**Ejemplo 7**

10 Combinar biopulido y lavado con agente blanqueante en un proceso con celulasa A Neutra

[0108] Los procedimientos fueron iguales a los que se describen en el ejemplo 1 mientras la catalasa usada fue catalasa T 100 o ASC 200. El resultado de la prueba fue mostrado en la tabla 5.

**Ejemplo 8**

15 Combinar biopulido y lavado con agente blanqueante en un proceso con celulasa C ácida

20 [0109] Los procedimientos fueron iguales a los que se describen en el ejemplo 4 mientras que la catalasa usada fue catalasa T 100 o ASC 200. El resultado de la prueba fue mostrado en la tabla 5

**Tabla 5**

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al principio	Celulasa	Dosificación (mg proteína /l)	Catalasa	Dosificación (mg proteína /l)	Resultado de frisado	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual después del tratamiento
/	Primafast luna RL	41,88	/	/	3,85	0
350ppm	Primafast luna RL	41,88	Catalasa A	0,34	4-4,5	0
350ppm	Primafast luna RL	41,88	Catalasa T 100	1	3,85	0
350ppm	Primafast luna RL	41,88	ASC 200	0,58	3,85	0
/	IndiAge Max L	69	/	/	4,5-5	0
350ppm	IndiAge Max L	69	Catalasa A	0,34	4-4,5	0
350ppm	IndiAge Max L	69	Catalasa T 100	1	4-4,5	0
350ppm	IndiAge Max L	69	ASC 200	0,58	4-4,5	0
/	Celulasa A neutra	1,75	/	/	4-4,5	0
350ppm	Celulasa A neutra	1,75	Catalasa T 100	1	3,5-4	0
350ppm	Celulasa A neutra	1,75	ASC 200	0,58	4-4,5	0
/	Celulasa C ácida	120	/	/	3,5-4	0
350ppm	Celulasa C ácida	120	Catalasa T 100	1	3,5-4	0
350ppm	Celulasa C ácida	120	ASC 200	0,58	3,5-4	0

**Ejemplo 9**

25 Combinar biopulido y lavado con agente blanqueante en un proceso conducido con un lavadómetro a inferior temperatura

30 [0110] Un 100 % del tejido de punto algodón 460-60 blanqueado fue comprado de Test Fabrics. Retales tejidos de fueron cortados a aproximadamente 5g cada uno.

[0111] Un tampón a pH 6,5 fue usado para este estudio. 2,716g de dihidrógeno fosfato de potasio y 0,201g hidróxido sódico fueron disueltos en 1L de agua desionizada. El proceso fue conducido con un lavadómetro. El vaso de precipitados se llenó de 100ml con tampón y dos piezas de tejido de pre-corte.

35 1) Lavado principal: el vaso de precipitado se llenó con 100ml tampón. Algo de peróxido de hidrógeno se añadió a cada

vaso de precipitado con 20 bolas de acero como se especifica. Mientras tanto, una celulasa neutra B fue dosificada a una concentración y catalasa A fue añadida luego la temperatura fue elevada a 30°C y mantenida durante 60min.

2) Controlar el hidroperóxido residual con banda de peróxido.

3) Inactivación: después del control, añadir 1g/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en la máquina/vaso de precipitados luego se eleva la temperatura a 80°C y funcionar durante 10min, drenado.

4) Enjuague frío: se rellena en agua fría y se enjuaga durante 10min

5) Centrifugado del agua en los tejidos y secador de tambor.

6) Medir la pérdida de peso y resultado de frisado en los tejidos tratados.

**Tabla 6**

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al principio	Celulasa	Dosificación (mg proteína /l)	Catalasa	Dosificación (mg proteína /l)	Resultado de frisado	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual después del tratamiento
/	/	/	/	/	1,5-2	0
(continuación)						
/	Celulasa neutra B	6	/	/	4	0
350ppm	Celulasa neutra B	6	Catalasa A	0,34	4	0
/	Celulasa neutra B	12	/	/	4-4,5	0
350ppm	Celulasa neutra B	12	Catalasa A	0,34	4,5	0
350ppm	Celulasa neutra A	7	Catalasa A	0,34	4	0

**Ejemplo 10**

Combinar biopolido y lavado con agente blanqueante con agente reductor en un proceso conducido con un lavadómetro

[0112] Un 100 % de tejido de punto de algodón blanqueado 460-60 fue comprado de Test Fabrics. Retales tejidos fueron cortados a aproximadamente 5g cada uno.

[0113] Un tampón a pH 6,5 fue usado para este estudio. 2,716 g de dihidrógeno fosfato de potasio y 0,201 g hidróxido sódico fueron disueltos en 1 L agua desionizada. El proceso fue conducido con un lavadómetro. El vaso de precipitados se llenó con 100 ml de tampón y dos piezas de tejido de pre-corte.

1) Lavado principal: el vaso de precipitados se llenó con 100ml tampón. Algo de peróxido de hidrógeno se añadió a cada vaso de precipitados con 20 bolas de acero como se especifica. Mientras tanto, una celulasa neutra B fue dosificada a una concentración y agente reductor (hiposulfato de sodio: abreviado como Hipo) fue añadido luego la temperatura fue elevada a 55°C y mantenida durante 60min.

2) Controlar el hidroperóxido residual con banda de peróxido.

3) Inactivación: después del control, añadir 1 g/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en la máquina/vaso de precipitados luego se eleva la temperatura a 80°C y funcionar durante 10min, drenado.

4) Enjuague frío: se rellena en agua fría y se enjuaga durante 10 min

5) Centrifugar el agua en los tejidos y secador de tambor.

6) Medir la pérdida de peso y resultado de frisado en los tejidos tratados.

[0114] Los resultados de la prueba se muestran en la tabla 7.

Tabla 7

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> principio	al	Enzima	Dosificación (mg proteína /l)	Agente reductor	Pérdida de peso %	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual	Resultado de frisado
/			blanco	/	-0,6	0	1,625
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 350PPM		Celulasa neutra B	3	/	2,9	>25ppm	4,875
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 350PPM		Celulasa neutra B	6	/	4,3	>25ppm	5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 350PPM		Celulasa neutra B	12	/	6,5	>25ppm	5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 100PPM		Celulasa neutra B	3	1g/l Hipo	3,4	0	5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 100PPM		Celulasa neutra B	6	1g/l Hipo	4,9	0	5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 100PPM		Celulasa neutra B	12	1g/l Hipo	6,6	0	5

## Ejemplo 11

5 Biopulido, lavado con agente blanqueante y tintura en un baño conducido con un lavadómetro

[0115] Un 100 % de tejido de punto de algodón blanqueado 460-60 fue comprado de Test Fabrics. Retales tejidos fueron cortados a aproximadamente 5g cada uno.

10

Tabla 8: receta de tinte

Muestra n.º	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Productos químicos usados	Dosificación					
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	300ppm	/	300ppm	/	300ppm	/
Celulasa A neutra (proteína/L)	7mg/L	/	7mg/L	/	7mg/L	/
Catalasa A (proteína/L)	0,34mg/l		0,34mg/l		0,34mg/l	
Rojo reactivo BF-3B	1 % owf	1 % owf	2 % Owf	2 % Owf	3 % Owf	3 % Owf
Amarillo reactivo BF-3R	1 % owf	1 % owf	2 % Owf	2 % Owf	3 % Owf	3 % Owf
Reactivo TQ azul G	1 % owf	1 % owf	2 % Owf	2 % owf	3 % Owf	3 % Owf
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	40g/l	40g/l	60g/l	60g/l	80g/l	80g/l
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	15g/l	15g/l	20g/l	20g/l	20g/l	20g/l
Owf: del peso de tejido						

[0116] Una solución acuosa a pH 6,5 fue usada para este estudio. Ácido acético fue disuelto en 1L agua desionizada para ajustar el pH a 6,5. El proceso fue conducido con un lavadómetro. El vaso de precipitados se llenó con 100ml de solución y dos piezas de tejido de pre-corte.

15

1) Proceso de lavado con agente blanqueante, biopulido y tinte en un único baño:

El vaso de precipitados se llenó con 100ml de solución acuosa a pH 6,5 ajustada con ácido acético. Algo de peróxido de hidrógeno fue añadido a cada vaso de precipitados con 20 bolas de acero como se especifica. Mientras tanto, una celulasa A neutra fue dosificada a una concentración y catalasa A fue añadida, después de esto una cantidad determinada de sulfato de sodio fue añadida, luego la temperatura fue elevada a 60°C y mantenida durante 15min. Controlar el hidróperóxido residual con banda de peróxido.

20

25

2) Añadir tinte y carbonato de sodio: después del control, añadir concentración determinada de tintes (tres tipos de tinte de Argus) en la máquina/vaso de precipitados y funcionar durante 45min, luego dosificar determinada cantidad de carbonato de sodio y funcionar durante 45min/60min. Drenado.

30

3) Enjabonar: dos pasos de proceso de enjabonado fueron conducidos después del proceso de tintado. Se rellenó en agua fría y se adicionó 1g/l de agente de enjabonado Dekol SNS(BASF) y la temperatura se elevó a 90°C durante 10min. Drenado. Se rellenó en agua fría y se adicionó 1g/l de agente de enjabonado Dekol SNS (BASF) y la temperatura se elevó a 90°C durante 10min. Drenado.

4) Enjuague caliente: se rellenó en agua fría y la temperatura se elevó a 70°C durante 15min.

5) Enjuague frío: se rellena en agua fría y se enjuaga durante 10min.

6) Centrifugado del agua en los tejidos y secador de tambor.

5 7) Medir el resultado de frisado en los tejidos tratados.

[0117] Los resultados de la prueba se muestran en la tabla 9.

**Tabla 9**

Muestra n.º	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> residual antes de la adición de tinte	0	n/a	0	n/a	0	n/a
Frisado	4,5	1,5	4,25	1,5	4,25	1,5

10

[0118] Como se puede observar a partir de la tabla anterior, los tejidos tratados en el único baño de lavado con agente blanqueante, biopulido y proceso de tintado de la invención con una combinación de catalasa y celulasa tienen menos frisado y en gran medida acortan el tiempo de proceso en comparación con el proceso separado.

15 LISTADO DE SECUENCIAS

[0119]

<110> Novozymes A/S

20

<120> Un proceso para biopulido y lavado con agente blanqueante combinado

<130> 11222.204-WO

25

<160> 3

<170> Versión de patentIn 3.4

<210> 1

30

<211> 299

<212> PRT

<213> Thielavia terrestris

<400> 1

35

ES 2 455 242 T3

Met Arg Ser Thr Pro Val Leu Arg Thr Thr Leu Ala Ala Ala Leu Pro  
1 5 10 15

Leu Val Ala Ser Ala Ala Ser Gly Ser Gly Gln Ser Thr Arg Tyr Trp  
20 25 30

Asp Cys Cys Lys Pro Ser Cys Ala Trp Pro Gly Lys Ala Ala Val Ser  
35 40 45

Gln Pro Val Tyr Ala Cys Asp Ala Asn Phe Gln Arg Leu Ser Asp Phe  
50 55 60

Asn Val Gln Ser Gly Cys Asn Gly Gly Ser Ala Tyr Ser Cys Ala Asp  
65 70 75 80

Gln Thr Pro Trp Ala Val Asn Asp Asn Leu Ala Tyr Gly Phe Ala Ala  
85 90 95

Thr Ser Ile Ala Gly Gly Ser Glu Ser Ser Trp Cys Cys Ala Cys Tyr  
100 105 110

Ala Leu Thr Phe Thr Ser Gly Pro Val Ala Gly Lys Thr Met Val Val  
115 120 125

Gln Ser Thr Ser Thr Gly Gly Asp Leu Gly Ser Asn Gln Phe Asp Ile  
130 135 140

Ala Met Pro Gly Gly Gly Val Gly Ile Phe Asn Gly Cys Ser Ser Gln  
145 150 155 160

Phe Gly Gly Leu Pro Gly Ala Gln Tyr Gly Gly Ile Ser Ser Arg Asp  
165 170 175

Gln Cys Asp Ser Phe Pro Ala Pro Leu Lys Pro Gly Cys Gln Trp Arg  
180 185 190

Phe Asp Trp Phe Gln Asn Ala Asp Asn Pro Thr Phe Thr Phe Gln Gln  
195 200 205

ES 2 455 242 T3

Val Gln Cys Pro Ala Glu Ile Val Ala Arg Ser Gly Cys Lys Arg Asn  
210 215 220  
Asp Asp Ser Ser Phe Pro Val Phe Thr Pro Pro Ser Gly Gly Asn Gly  
225 230 235 240  
Gly Thr Gly Thr Pro Thr Ser Thr Ala Pro Gly Ser Gly Gln Thr Ser  
245 250 255  
Pro Gly Gly Gly Ser Gly Cys Thr Ser Gln Lys Trp Ala Gln Cys Gly  
260 265 270  
Gly Ile Gly Phe Ser Gly Cys Thr Thr Cys Val Ser Gly Thr Thr Cys  
275 280 285  
Gln Lys Leu Asn Asp Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu  
290 295

- 5 <210> 2  
<211> 305  
<212> PRT  
<213> Humicola insolens  
<400> 2

ES 2 455 242 T3

Met Arg Ser Ser Pro Leu Leu Arg Ser Ala Val Val Ala Ala Leu Pro  
 1 5 10 15  
 Val Leu Ala Leu Ala Ala Asp Gly Arg Ser Thr Arg Tyr Trp Asp Cys  
 20 25 30  
 Cys Lys Pro Ser Cys Gly Trp Ala Lys Lys Ala Pro Val Asn Gln Pro  
 35 40 45  
 Val Phe Ser Cys Asn Ala Asn Phe Gln Arg Ile Thr Asp Phe Asp Ala  
 50 55 60  
 Lys Ser Gly Cys Glu Pro Gly Gly Val Ala Tyr Ser Cys Ala Asp Gln  
 65 70 75 80  
 Thr Pro Trp Ala Val Asn Asp Asp Phe Ala Leu Gly Phe Ala Ala Thr  
 85 90 95  
 Ser Ile Ala Gly Ser Asn Glu Ala Gly Trp Cys Cys Ala Cys Tyr Glu  
 100 105 110  
 Leu Thr Phe Thr Ser Gly Pro Val Ala Gly Lys Lys Met Val Val Gln  
 115 120 125  
 Ser Thr Ser Thr Gly Gly Asp Leu Gly Ser Asn His Phe Asp Leu Asn  
 130 135 140

ES 2 455 242 T3

Ile Pro Gly Gly Gly Val Gly Ile Phe Asp Gly Cys Thr Pro Gln Phe  
 145 150 155 160

Gly Gly Leu Pro Gly Gln Arg Tyr Gly Gly Ile Ser Ser Arg Asn Glu  
 165 170 175

Cys Asp Arg Phe Pro Asp Ala Leu Lys Pro Gly Cys Tyr Trp Arg Phe  
 180 185 190

Asp Trp Phe Lys Asn Ala Asp Asn Pro Ser Phe Ser Phe Arg Gln Val  
 195 200 205

Gln Cys Pro Ala Glu Leu Val Ala Arg Thr Gly Cys Arg Arg Asn Asp  
 210 215 220

Asp Gly Asn Phe Pro Ala Val Gln Ile Pro Ser Ser Ser Thr Ser Ser  
 225 230 235 240

Pro Val Asn Gln Pro Thr Ser Thr Ser Thr Thr Ser Thr Ser Thr Thr  
 245 250 255

Ser Ser Pro Pro Val Gln Pro Thr Thr Pro Ser Gly Cys Thr Ala Glu  
 260 265 270

Arg Trp Ala Gln Cys Gly Gly Asn Gly Trp Ser Gly Cys Thr Thr Cys  
 275 280 285

Val Ala Gly Ser Thr Cys Thr Lys Ile Asn Asp Trp Tyr His Gln Cys  
 290 295 300

Leu  
 305

- <210> 3
- <211> 717
- <212> PRT
- <213> Scytalidium thermophilum
- <400> 3

ES 2 455 242 T3

Met Asn Arg Val Thr Asn Leu Leu Ala Trp Ala Gly Ala Ile Gly Leu  
1 5 10 15

Ala Gln Ala Thr Cys Pro Phe Ala Asp Pro Ala Ala Leu Tyr Ser Arg  
20 25 30

Gln Asp Thr Thr Ser Gly Gln Ser Pro Leu Ala Ala Tyr Glu Val Asp  
35 40 45

Asp Ser Thr Gly Tyr Leu Thr Ser Asp Val Gly Gly Pro Ile Gln Asp  
50 55 60

Gln Thr Ser Leu Lys Ala Gly Ile Arg Gly Pro Thr Leu Leu Glu Asp  
65 70 75 80

ES 2 455 242 T3

Phe Met Phe Arg Gln Lys Ile Gln His Phe Asp His Glu Arg Val Pro  
 85 90 95  
 Glu Arg Ala Val His Ala Arg Gly Ala Gly Ala His Gly Thr Phe Thr  
 100 105 110  
 Ser Tyr Ala Asp Trp Ser Asn Ile Thr Ala Ala Ser Phe Leu Asn Ala  
 115 120 125  
 Thr Gly Lys Gln Thr Pro Val Phe Val Arg Phe Ser Thr Val Ala Gly  
 130 135 140  
 Ser Arg Gly Ser Ala Asp Thr Ala Arg Asp Val His Gly Phe Ala Thr  
 145 150 155 160  
 Arg Phe Tyr Thr Asp Glu Gly Asn Phe Asp Ile Val Gly Asn Asn Ile  
 165 170 175  
 Pro Val Phe Phe Ile Gln Asp Ala Ile Gln Phe Pro Asp Leu Ile His  
 180 185 190  
 Ser Val Lys Pro Arg Pro Asp Asn Glu Ile Pro Gln Ala Ala Thr Ala  
 195 200 205  
 His Asp Ser Ala Trp Asp Phe Phe Ser Gln Gln Pro Ser Thr Met His  
 210 215 220  
 Thr Leu Phe Trp Ala Met Ser Gly His Gly Ile Pro Arg Ser Tyr Arg  
 225 230 235 240  
 His Met Asp Gly Phe Gly Val His Thr Phe Arg Phe Val Lys Asp Asp  
 245 250 255  
 Gly Ser Ser Lys Leu Ile Lys Trp His Phe Lys Ser Arg Gln Gly Lys  
 260 265 270  
 Ala Ser Leu Val Trp Glu Glu Ala Gln Val Leu Ser Gly Lys Asn Ala  
 275 280 285  
 Asp Phe His Arg Gln Asp Leu Trp Asp Ala Ile Glu Ser Gly Asn Gly  
 290 295 300  
 Pro Glu Trp Asp Val Cys Val Gln Ile Val Asp Glu Ser Gln Ala Gln  
 305 310 315 320  
 Ala Phe Gly Phe Asp Leu Leu Asp Pro Thr Lys Ile Ile Pro Glu Glu  
 325 330 335  
 Tyr Ala Pro Leu Thr Lys Leu Gly Leu Leu Lys Leu Asp Arg Asn Pro  
 340 345 350

ES 2 455 242 T3

Thr Asn Tyr Phe Ala Glu Thr Glu Gln Val Met Phe Gln Pro Gly His  
 355 360 365  
 Ile Val Arg Gly Ile Asp Phe Thr Glu Asp Pro Leu Leu Gln Gly Arg  
 370 375 380  
 Leu Phe Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Leu Asn Arg Asn Gly Gly Pro Asn  
 385 390 395 400  
 Phe Glu Gln Leu Pro Ile Asn Met Pro Arg Val Pro Ile His Asn Asn  
 405 410 415  
 Asn Arg Asp Gly Ala Gly Gln Met Phe Ile His Arg Asn Lys Tyr Pro  
 420 425 430  
 Tyr Thr Pro Asn Thr Leu Asn Ser Gly Tyr Pro Arg Gln Ala Asn Gln  
 435 440 445  
 Asn Ala Gly Arg Gly Phe Phe Thr Ala Pro Gly Arg Thr Ala Ser Gly  
 450 455 460  
 Ala Leu Val Arg Glu Val Ser Pro Thr Phe Asn Asp His Trp Ser Gln  
 465 470 475 480  
 Pro Arg Leu Phe Phe Asn Ser Leu Thr Pro Val Glu Gln Gln Phe Leu  
 485 490 495  
 Val Asn Ala Met Arg Phe Glu Ile Ser Leu Val Lys Ser Glu Glu Val  
 500 505 510  
 Lys Lys Asn Val Leu Thr Gln Leu Asn Arg Val Ser His Asp Val Ala  
 515 520 525  
 Val Arg Val Ala Ala Ala Ile Gly Leu Gly Ala Pro Asp Ala Asp Asp  
 530 535 540  
 Thr Tyr Tyr His Asn Asn Lys Thr Ala Gly Val Ser Ile Val Gly Ser  
 545 550 555 560  
 Gly Pro Leu Pro Thr Ile Lys Thr Leu Arg Val Gly Ile Leu Ala Thr  
 565 570 575  
 Thr Ser Glu Ser Ser Ala Leu Asp Gln Ala Ala Gln Leu Arg Thr Arg  
 580 585 590  
 Leu Glu Lys Asp Gly Leu Val Val Thr Val Val Ala Glu Thr Leu Arg  
 595 600 605  
 Glu Gly Val Asp Gln Thr Tyr Ser Thr Ala Asp Ala Thr Gly Phe Asp  
 610 615 620

ES 2 455 242 T3

Gly Val Val Val Val Asp Gly Ala Ala Ala Leu Phe Ala Ser Thr Ala  
 625 630 635 640  
 Ser Ser Pro Leu Phe Pro Thr Gly Arg Pro Leu Gln Ile Phe Val Asp  
 645 650 655  
 Ala Tyr Arg Trp Gly Lys Pro Val Gly Val Cys Gly Gly Lys Ser Ser  
 660 665 670  
 Glu Val Leu Asp Ala Ala Asp Val Pro Glu Asp Gly Asp Gly Val Tyr  
 675 680 685  
 Ser Glu Glu Ser Val Asp Met Phe Val Glu Glu Phe Glu Lys Gly Leu  
 690 695 700  
 Ala Thr Phe Arg Phe Thr Asp Arg Phe Ala Leu Asp Ser  
 705 710 715

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Proceso en una única fase de tratamiento textil para biopulido y lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno combinado que comprende el paso de tratamiento del textil con una única solución que contiene (i) una catalasa y/o agente reductor químico, seleccionado entre tiosulfato de sodio, bisulfito de sodio, hidrosulfito de sodio e hiposulfato de sodio; para la eliminación de peróxido de hidrógeno, y (ii) un sistema enzimático que comprende celulasa para biopulido, donde el proceso de biopulido y lavado con agente blanqueante de peróxido de hidrógeno combinado tiene lugar después de un paso de blanqueo con peróxido de hidrógeno para tratar el textil.
- 10 2. Proceso según la reivindicación 1, donde el textil comprende tejidos que contienen celulosa o celulósicos.
3. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde el sistema enzimático para biopulido comprende una endoglucanasa.
- 15 4. Proceso según la reivindicación 1, donde la celulasa es una celulasa de familia 45, preferiblemente, la celulasa de familia 45 es seleccionada del grupo que consiste en un polipéptido que comprende la secuencia de SEC ID n.º: 1 o SEC ID n.º 2, o una variante de estas que tiene al menos un 70 % de identidad con SEC ID n.º: 1 o SEC ID n.º: 2.
- 20 5. Proceso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la catalasa es derivada de bacterias tales como cepa de *Bacillus*, *Pseudomonas* o *Streptomyces*; levadura tales como *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Yarrowia* o *Schizosaccharomyces*; hongos tales como cepa de *Acremonium*, *Scytalidium*, *Aspergillus*, *Coprinus*, *Aureobasidium*, *Bjerkandera*, *Humicola*, *Ceriporiopsis*, *Coriolus*, *Cryptococcus*, *Filibasidium*, *Fusarium*, *Magnaporthe*, *Mucor*, *Myceliphthora*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Phlebia*, *Piromyces*, *Pleurotus*, *Schizophyllum*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, *Trametes*, *Micrococcus* o *Trichoderma*; o animal tal como hígado de cerdo, hígado de res.
- 25 6. Proceso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el pH de la solución está entre aproximadamente 4 y aproximadamente 12, preferiblemente entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8.
- 30 7. Proceso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el proceso se realiza a una temperatura entre 20 grados Celsius y 80 grado Celsius, preferiblemente entre 50 grados Celsius y 60 grados Celsius.
- 35 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la solución se suplementa con uno o más tintes y el método comprende incubar el textil durante un tiempo suficiente para conseguir tejido teñido.