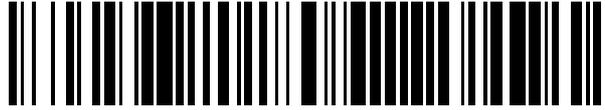


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 509 877**

51 Int. Cl.:

D06L 1/14 (2006.01)

D06L 3/11 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2007 E 07755284 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.07.2014 EP 2007942**

54 Título: **Tratamiento de textiles en una sola etapa**

30 Prioridad:

14.04.2006 US 792111 P

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

20.10.2014

73 Titular/es:

**DANISCO US INC. (100.0%)
925 Page Mill Road
Palo Alto, California 94304, US**

72 Inventor/es:

**AUTERINEN, ANNA-LIISA;
POULOSE, AYROOKARAN J. y
YOON, MEE-YOUNG**

74 Agente/Representante:

RIZZO, Sergio

ES 2 509 877 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

Tratamiento de textiles en una sola etapa

CAMPO DE LA INVENCIÓN

5 **[0001]** La presente invención se refiere a métodos para el tratamiento enzimático en una sola etapa para el descrudado y blanqueo de textiles.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

10 **[0002]** En el procesamiento textil de fibras, hilos y tejidos textiles, normalmente se requiere una etapa de pretratamiento o preparación para preparar adecuadamente los materiales naturales para uso posterior y, en concreto, para las fases de tintura, estampación y acabado requeridas normalmente para mercancías. Estas etapas de tratamiento de textiles eliminan impurezas y sustancias que colorean los textiles, ya sea las presentes de forma natural o las añadidas a las fibras y/o tejidos en las etapas de hilado y tejeduría.

15 **[0003]** Si bien los tratamientos de textiles pueden incluir un número de tratamientos y fases diferentes, los más comunes incluyen: desaprestado, que consiste en la eliminación de los agentes de apresto, tales como almidones, mediante empapado con enzimas, álcali u oxidantes; descrudado, que consiste en la eliminación de lubricantes, aceites, ceras, sustancias pécticas, motas, proteínas y grasas mediante contacto con una solución de hidróxido de sodio a temperaturas cerca de la ebullición; y blanqueo, que consiste en la eliminación y decoloración de las sustancias que colorean los textiles utilizando normalmente agentes oxidantes (como peróxido de hidrógeno, hipoclorito y dióxido de cloro) o utilizando agentes reductores (como dióxido de azufre o sales de hidrosulfito).

20 **[0004]** El procesamiento enzimático comercial de textiles normalmente requiere la separación de estas etapas de pretratamiento debido a la amplia variación de condiciones presentes en cada una de las etapas. No obstante, esta separación de etapas de tratamiento conlleva unos costes adicionales elevados añadidos al proceso de tratamiento total debido al empleo de varios baños consecutivos con condiciones de temperatura, adiciones químicas y pH variables y la necesidad de varias etapas de enjuague entre las respectivas fases, y altos costes de energía debidos a altas temperaturas de procesamiento por encima de 95°C. Las etapas de enjuague y/o secado adicionales añaden enormes costes adicionales y derroche de materiales al proceso de tratamiento.

[0005] Por consiguiente, la combinación de varias fases de pretratamiento en un tratamiento en una sola etapa tendría un impacto significativo en el tratamiento comercial de textiles en forma de reducción de costes y de material derrochado con respecto a los procesos comerciales empleados normalmente.

30 **[0006]** No obstante, la combinación de estas tres etapas comunes, aunque previamente investigada, no ha sido satisfactoria. La tecnología de blanqueo empleada actualmente conlleva el empleo de blanqueo con peróxido de hidrógeno alcalino a temperaturas superiores a 95°C. Dichas temperaturas elevadas e intensos sistemas de blanqueo son totalmente incompatibles con las enzimas amilasa necesarias en un proceso de desaprestado. De esta manera, la combinación de la tecnología de desaprestado y blanqueo a temperaturas superiores a 95°C conlleva la destrucción de las enzimas de desaprestado y un resultado de desaprestado no satisfactorio. Técnicas alternativas de desaprestado como empapado con álcali u oxidantes conllevan el uso de sustancias químicas agresivas que dañan las fibras. Por otro lado, la reducción de la temperatura a la que se lleva a cabo el tratamiento en una sola etapa para permitir un desaprestado enzimático efectivo da como resultado un blanqueo pobre e inaceptable con valores de blancura por debajo del límite aceptable comercialmente. Además, este tipo de proceso a baja temperatura sin una enzima de descrudado produce un tejido de baja humectabilidad que es inaceptable para posteriores procesos de tintura, estampación y acabado.

[0007] WO00/26464 describe una pectato liasa termostable. US6.410.498 describe una enzima modificada que comprende una secuencia de aminoácidos catalíticamente activos de una transferasa unida a una secuencia de aminoácidos que comprende un dominio de unión a celulosa.

45 **[0008]** US2002-0007516 y WO01/64993 describen un proceso en una sola etapa que utiliza un activador de blanqueo hidrófobo o perácido preformado en conjunción con peróxido de hidrógeno. No obstante, esta tecnología todavía requiere una entidad química que necesita procesamiento adicional del flujo de residuos que resulta en costes aumentados al procesador textil. De forma similar, US2003-041387 y WO03/002810 describen la utilización de un sistema de blanqueo que emplea un perácido que se añade como un componente y que no se genera *in situ*.

50 **[0009]** Ninguno de estos sistemas dependen de composiciones enzimáticas para el desaprestado, descrudado y blanqueo simultáneo de algodón y textiles a base de algodón y textiles celulósicos que no son de algodón, ni proporcionan un proceso enzimático respetuoso con el medioambiente para tal proceso de textiles en una sola etapa. Aunque puedan resultar una mejora con respecto a los métodos convencionales, todavía se pueden mejorar en gran medida.

[0010] Por consiguiente, se sigue necesitando un proceso enzimático efectivo de tratamiento de textiles en una sola etapa y, en concreto, la combinación del desaprestado, descrudado y blanqueo en el tratamiento de textiles que pueda proporcionar una humectabilidad superior y beneficios de blancura a la vez que minimiza el impacto medioambiental y los costes a las fábricas textiles y proporciona una retención de resistencia de la tejido mejorada y daños de las fibras reducidos en comparación a los procesos de blanqueo de textiles convencionales.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

[0011] Los solicitantes describen en el presente documento métodos para el tratamiento enzimático de textiles en una sola etapa. Se proporciona un método para el tratamiento de un textil que comprende: poner en contacto dicho textil con una composición de procesamiento de textiles en una sola etapa que comprende una o más enzimas de biodescrudado y uno o más sistemas de blanqueo enzimático, durante un periodo de tiempo y bajo condiciones suficientes para permitir el descrudado y el blanqueo del textil, donde dicha una o más enzimas de biodescrudado es pectato liasa o es una combinación de enzimas que incluye pectato liasa. Los textiles que se pueden tratar mediante los métodos descritos en el presente documento son textiles celulósicos o que contienen sustancias celulósicas, como el algodón y mezclas de algodón, pero el tratamiento no está limitado a celulósicos.

[0012] En un modo de realización, el blanqueo enzimático comprende poner en contacto el textil que necesita blanqueo con una composición enzimática de blanqueo que comprende una fuente de éster, una aciltransferasa y una fuente de peróxido de hidrógeno durante un periodo de tiempo y bajo condiciones adecuadas para permitir el blanqueamiento apreciable del textil. La fuente de éster puede ser cualquier éster de acetato adecuado. La fuente de éster está presente en el líquido de blanqueo en una concentración comprendida entre aproximadamente 100 ppm y 10.000 ppm, entre aproximadamente 1.000 ppm y 5000 ppm o entre aproximadamente 2.000 ppm y 4.000 ppm.

[0013] Un éster de acetato adecuado se selecciona de entre diacetato de propilenglicol, diacetato de etilenglicol, triacetina, acetato de etilo, tributirina y similares. También se contemplan combinaciones de los ésteres de acetato anteriores.

[0014] La aciltransferasa puede ser cualquier transferasa que tenga una relación de perhidrólisis con respecto a hidrólisis mayor de 1. La concentración de la aciltransferasa en el líquido de blanqueo está comprendida entre aproximadamente 0,005 ppm y 100 ppm, entre aproximadamente 0,01 y 50 ppm o entre 0,05 y 10 ppm.

[0015] El peróxido de hidrógeno se puede añadir de una fuente exógena. Alternativamente, el peróxido de hidrógeno se puede generar enzimáticamente *in situ* por una oxidasa que genere peróxido de hidrógeno y un sustrato adecuado. La oxidasa que genera peróxido de hidrógeno puede ser una carbohidrato oxidasa como glucosa oxidasa. El sustrato adecuado puede ser glucosa. La concentración del peróxido de hidrógeno en el líquido de blanqueo está comprendida entre aproximadamente 100 ppm y 5.000 ppm, una concentración comprendida entre aproximadamente 500 ppm y 4.000 ppm o una concentración comprendida entre aproximadamente 1.000 ppm y 3.000 ppm.

[0016] Las condiciones adecuadas dependerán de las enzimas y del método de procesamiento empleado (p. ej.; continuo vs. batch vs. pad-batch), pero se contempla que comprenda temperaturas, pHs y tiempo de procesamiento variables y similares.

[0017] Condiciones de pH adecuadas comprenden un pH entre aproximadamente 5 y 11, un pH entre aproximadamente 6 y 10 y un pH entre 6 y 8. Las condiciones de tiempo adecuadas para el blanqueo enzimático del textil comprenden preferentemente entre aproximadamente 5 minutos y 24 horas, un tiempo entre aproximadamente 15 minutos y 12 horas o un tiempo entre aproximadamente 30 minutos y 6 horas.

[0018] Condiciones de temperatura adecuadas comprenden una temperatura entre aproximadamente 15°C y 90°C, una temperatura entre aproximadamente 24°C y 80°C o una temperatura entre aproximadamente 40°C y 60°C.

[0019] En un modo de realización, métodos para el tratamiento de textiles con una composición de tratamiento en una sola etapa comprenden poner en contacto un textil que necesita procesamiento con una composición de tratamiento en una sola etapa durante un periodo de tiempo bajo condiciones suficientes para permitir el desaprestado, descrudado y blanqueo del textil.

[0020] La composición de tratamiento en una sola etapa comprende preferentemente i) una o más enzimas de biodescrudado, ii) una o más enzimas de desaprestado y iii) uno o más sistemas de blanqueo enzimático. La composición de tratamiento en una sola etapa puede comprender además uno o más componentes auxiliares seleccionados de entre tensioactivos, emulsionantes, agentes quelantes y/o estabilizadores.

[0021] El sistema de blanqueo enzimático, las condiciones adecuadas y el periodo de tiempo para este modo de realización son los que se describen para el primer modo de realización.

[0022] La enzima de biodescudado es una pectato liasa o una combinación de pectato liasa y otras enzimas como cutinasa, celulasas, proteasas, lipasas y hemicelulasas.

[0023] La enzima de desaprestado se selecciona de un grupo consistente en amilasas y mananasas. Una amilasa específica que sirve como una enzima de desaprestado es una alfa-amilasa.

5 [0024] La composición de tratamiento en una sola etapa puede comprender además componentes auxiliares seleccionados de entre tensioactivos, emulsionantes, agentes quelantes y/o estabilizadores. El tensioactivo puede ser un tensioactivo no iónico o una combinación de tensioactivos no iónicos y aniónicos.

10 [0025] Se puede utilizar un agente de blanqueo químico en conjunción con la composición de tratamiento en una sola etapa. Se puede seleccionar agente(s) de blanqueo químico adecuados de entre blanqueadores oxidantes, peróxido de sodio, perborato de sodio, permanganato de potasio, hipoclorito de sodio, hipoclorito de calcio y dicloroisocianurato de sodio.

15 [0026] En una composición a modo de ejemplo descrita en el presente documento, la composición de tratamiento en una sola etapa comprende i) enzimas de biodescudado seleccionadas de entre pectato liasa o combinación de enzimas que incluye pectato liasa y ii) un sistema de blanqueo enzimático. La composición puede incluir una o más enzimas de desaprestado. La composición de tratamiento en una sola etapa puede comprender además uno o más componentes auxiliares seleccionados de entre tensioactivos, emulsionantes, agentes quelantes y/o estabilizadores.

20 [0027] Otros objetivos, características y ventajas de la presente invención se pondrán de manifiesto en la siguiente descripción detallada. No obstante, debería entenderse que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indiquen modos de realización de la invención preferidos, se proporcionan a modo de ilustración únicamente, puesto que para un experto en la materia resultarán evidentes varios cambios y modificaciones de esta descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

25 [0028] La figura 1 ilustra los efectos de blanqueo de varios tratamientos. Imágenes de muestras de tejido después de tratamientos con A) tampón, B) tampón + tensioactivo + fosfogluconato deshidrogenasa (conocido como PGDA por su sigla en inglés) + H₂O₂, C) tampón + tensioactivo + BP 3000L y D) tampón + tensioactivo + PGDA + H₂O₂ + AcT + OxAm + BP 3000L + cutinasa.

30 [0029] La figura 2 muestra imágenes de muestras de tejidos tomadas después de 12 horas de tratamiento pad-batch con Control (las dos muestras de la parte superior) y Control + enzima (las dos muestras de la parte inferior).

[0030] La figura 3 muestra muestras justo después de una coloración con yodo: A) tampón, B) tampón + tensioactivo + PGDA + H₂O₂, C) tampón + tensioactivo + OxAm. D) tampón + tensioactivo + PGDA + H₂O₂ + mezclas de enzimas, E) algodón blanqueado comercialmente (control positivo), F) tampón + tensioactivo + PGDA + H₂O₂ (pad-batch), G) tampón + tensioactivo + PGDA + H₂O₂ + mezclas de enzimas (pad-batch).

35 [0031] La figura 4 muestra imágenes de muestras después de una coloración con Rojo de Rutenio: A) algodón blanqueado comercialmente (control positivo), B) tampón, C) tampón + tensioactivo + BP 3000L, D) tampón + tensioactivo + PGDA + H₂O₂, E) tampón + tensioactivo + PGDA + H₂O₂ + mezcla de enzimas, F) tampón + tensioactivo + PGDA + H₂O₂ + (pad-batch), G) tampón + tensioactivo + PGDA + H₂O₂ + mezcla de enzimas (pad-batch).

40 [0032] La figura 5 proporciona un gráfico que muestra la capacidad de blanqueo del AcT probada en algodón.

[0033] La figura 6 proporciona un gráfico que muestra la capacidad de blanqueo del AcT probada en lino.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0034] A continuación se describirá detalladamente la invención a modo de referencia utilizando únicamente las definiciones y ejemplos que siguen.

45 [0035] Los intervalos numéricos incluyen los números que definen el intervalo.

[0036] A menos que se indique lo contrario, los ácidos nucleicos están escritos de izquierda a derecha en una orientación de 5' a 3'; las secuencias de aminoácidos están escritas de izquierda a derecha en orientación de amino a carboxi, respectivamente.

50 [0037] Los encabezamientos proporcionados en el presente documento no son limitaciones de los diversos aspectos o modos de realización de la invención, que se pueden tomar haciendo referencia a la memoria en conjunto. Por consiguiente, los términos definidos inmediatamente a continuación están definidos más exhaustivamente haciendo referencia a la memoria en conjunto.

Definiciones

[0038] A menos que se defina de otra manera en el presente documento, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto habitual en la materia al cual pertenece esta invención. Por ejemplo, Singleton y Sainsbury, *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*, 2ª ed., John Wiley and Sons, NY (1994); y Hale y Marham, *The Harper Collins Dictionary of Biology*, Harper Perennial, NY (1991), ofrecen a los expertos en la materia un diccionario general de muchos de los términos utilizados en la invención. Aunque cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento sirvan en la práctica de la presente invención, los métodos y materiales preferidos se describen en el presente documento. Por consiguiente, los términos definidos inmediatamente a continuación se describen más exhaustivamente haciendo referencia a la memoria en conjunto. Además, según se utilizan en el presente documento, los términos en singular “un/a” y “el/la” incluyen la referencia en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A menos que se indique lo contrario, los ácidos nucleicos se escriben de izquierda a derecha en una orientación de 5’ a 3’; las secuencias de aminoácidos están escritas de izquierda a derecha en orientación de amino a carboxi, respectivamente. Ha de entenderse que la presente invención no se limita a la metodología, protocolos y reactivos concretos descritos, ya que estos pueden variar, dependiendo del contexto en el que los expertos en la materia los utilizan.

[0039] Se entiende que cada limitación numérica máxima proporcionada a lo largo de esta memoria incluye cada limitación numérica inferior, como si dichas limitaciones numéricas inferiores estuvieran expresamente escritas en el presente documento. Cada limitación numérica mínima proporcionada a lo largo de esta memoria incluirá cada limitación numérica superior, como si dichas limitaciones numéricas superiores estuvieran expresamente escritas en el presente documento. Cada intervalo numérico proporcionado a lo largo de esta memoria incluirá cada intervalo numérico más pequeño que esté dentro de dicho intervalo numérico más amplio, como si dichos intervalos numéricos más pequeños estuvieran todos expresamente escritos en el presente documento.

[0040] El término “blanqueo”, según se utiliza en el presente documento, indica el proceso consistente en tratar materiales textiles, como una fibra, hilo, tejido, prenda y no tejidos, para producir un color más claro en dicha fibra, hilo, tejido, prenda o no tejidos. Por ejemplo, blanqueo, según se utiliza en el presente documento, indica el blanqueamiento del tejido mediante eliminación, modificación o enmascaramiento de los compuestos que causan color en los celulósicos u otros materiales textiles. De esta manera, “blanqueo” se refiere al tratamiento de un textil durante un periodo de tiempo suficiente y bajo condiciones de pH y temperatura adecuadas para lograr una aclarado (es decir, blanqueamiento) del textil. El blanqueo se puede llevar a cabo utilizando agentes químicos de blanqueo y/o agentes de blanqueo generados mediante enzimas. Ejemplos de agentes de blanqueo adecuados incluyen, sin carácter limitativo, ClO₂, H₂O₂, perácidos, NO₂, etc. En los procesos, métodos y composiciones presentes, el H₂O₂ y los perácidos se generan preferentemente con enzimas.

[0041] El término “agente de blanqueo”, según se utiliza en el presente documento, abarca cualquier radical que sea capaz de blanquear tejidos.

[0042] “Agente(s) químico(s) de blanqueo” son entidades capaces de blanquear un textil sin la presencia de una enzima. Pueden requerir la presencia de un activador de blanqueo. Ejemplos de agentes químicos de blanqueo adecuados útiles en los procesos, métodos y composiciones descritos en el presente documento son peróxido de sodio, perborato de sodio, permanganato de potasio, otros perácidos. En algunos aspectos, H₂O₂ puede considerarse un agente químico de blanqueo cuando no ha sido generado mediante enzimas *in situ*.

[0043] El término “composición de procesamiento de textiles en una sola etapa” se refiere a una preparación que comprende al menos una enzima de biodescudado y al menos un agente de blanqueo generado mediante enzimas. En algunos modos de realización, la composición de procesamiento comprende además al menos una enzima de desaprestado. El agente de blanqueo generado mediante enzimas es preferentemente un perácido. En un aspecto el perácido se genera por la acción catalítica de una aciltransferasa en un sustrato adecuado en presencia de peróxido de hidrógeno. La composición de procesamiento de textiles en una sola etapa contendrá enzimas suficientes para proporcionar los niveles de enzimas previstos en el presente documento en el líquido de tratamiento, es decir, el medio acuoso. Enzimas útiles en el presente documento son enzimas naturales, así como variantes de las mismas. Preferentemente, las variantes han sido creadas para ser estables a la oxidación, es decir, estables en presencia de peróxido de hidrógeno.

[0044] La expresión “sistema de blanqueo enzimático” indica enzimas y sustratos capaces de generar mediante enzimas un agente de blanqueo. Un sistema de blanqueo enzimático puede comprender una fuente de éster, una aciltransferasa (o perhidrolasa) y una fuente de peróxido de hidrógeno.

[0045] “Fuente de éster” se refiere a sustratos de perhidrolasa que contienen enlace éster. Los ésteres que comprenden ácidos carboxílicos alifáticos y/o aromáticos y alcoholes se utilizan con las enzimas perhidrolasa. En modos de realización preferidos, la fuente de éster es un éster de acetato. En algunos modos de realización preferidos, la fuente de éster se selecciona de entre uno o más de los siguientes: diacetato de propilenglicol, diacetato de etilenglicol, triacetina, acetato de etilo y tributirina. En algunos modos de realización preferidos, las fuentes de éster se seleccionan de entre ésteres de uno o más de los siguientes ácidos: ácido fórmico, ácido

acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido nonanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico y ácido oleico.

[0046] El término “fuente de peróxido de hidrógeno” indica peróxido de hidrógeno que se añade al baño de tratamiento de textiles, ya sea a partir de una fuente exógena (es decir, externa o exterior) o generada *in situ* por la acción de una oxidasa que genera peróxido de hidrógeno en un sustrato.

[0047] El término “oxidasa que genera peróxido de hidrógeno” indica una enzima que cataliza una reacción de oxidación/reducción que conlleva oxígeno molecular (O₂) como el aceptor de electrones. En estas reacciones, el oxígeno se reduce a agua (H₂O) o peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Oxidasas adecuadas para la utilización en la presente invención son las oxidasas que generan peróxido de hidrógeno (en vez de agua) en su sustrato. Un ejemplo de una oxidasa que genera peróxido de hidrógeno y su sustrato adecuada para la utilización en la presente invención sería glucosa oxidasa y glucosa. Otras enzimas (p. ej., alcohol oxidasa, etilenglicol oxidasa, glicerol oxidasa, aminoácido oxidasa, etc.) que pueden generar peróxido de hidrógeno también sirven con sustratos de éster en combinación con las enzimas de perhidrolasa de la presente invención para generar perácidos. En algunos modos de realización, la oxidasa que genera peróxido de hidrógeno es una carbohidrato oxidasa.

[0048] Según se utiliza en el presente documento, los términos “perhidrolasa” y “aciltransferasa” se emplean indistintamente y se refieren a una enzima que es capaz de catalizar una reacción que resulta en la formación de cantidades suficientemente elevadas de perácido adecuadas para el blanqueo. En modos de realización particularmente preferidos, las enzimas perhidrolasa útiles en los procesos, métodos y composiciones descritos en el presente documento producen relaciones de perhidrólisis con respecto a hidrólisis muy elevadas. Las relaciones de perhidrólisis con respecto a hidrólisis elevadas de estas enzimas diferenciadas hacen a estas enzimas adecuadas para su utilización en los procesos, métodos y composiciones descritos en el presente documento. En modos de realización particularmente preferidos, las perhidrolasas son las descritas en WO 05/056782. No obstante, no se pretende que los procesos, métodos y composiciones presentes se limiten a esta perhidrolasa *M. smegmatis* específica, ni a variantes específicas de esta perhidrolasa, ni a homólogos específicos de esta perhidrolasa.

[0049] Según se utiliza en el presente documento, la expresión “relación de perhidrólisis con respecto a hidrólisis” es la relación de la cantidad de perácido producido mediante enzimas con respecto a la de ácido producido mediante enzimas por la perhidrolasa, bajo condiciones definidas y en un periodo de tiempo definido. En algunos modos de realización preferidos, los ensayos proporcionados en WO 05/056782 se utilizan para determinar las cantidades de perácido y ácido producidas por la enzima.

[0050] Según se utiliza en el presente documento, “textil” se refiere a fibras, hilos, tejidos, prendas y no tejidos. El término abarca textiles naturales, sintéticos (es decir, fabricados) y varias mezclas naturales y sintéticas. De este modo, el término “textil(es)” se refiere a fibras, hilos, tejidos o tejido de punto, no tejidos y prendas sin procesar y procesadas. En la presente memoria, los términos “textil(es)”, “tejido(s)” y “prenda(s)” se utilizarán indistintamente a menos que se disponga expresamente lo contrario. El término “textil(es) que necesita(n) procesamiento” se refiere a textiles que necesitan desaprestado y/o descrudado y/o blanqueo o que pueden necesitar otros tratamientos como biopulido.

[0051] El término “textil(es) que necesita(n) blanqueo” se refiere a textiles que necesitan ser blanqueados sin referencia a otros posibles tratamientos. Estos textiles pueden haber sido ya sometidos o no a otros tratamientos. De forma similar, estos textiles pueden necesitar o no tratamientos posteriores.

[0052] Según se utiliza en el presente documento, “materiales textiles” es un término general para fibras, hilos intermedios, hilos, tejidos, productos fabricados a partir de tejidos (es decir, prendas y otros artículos) y no tejidos.

[0053] Según se utiliza en el presente documento, el término “compatible” indica que los componentes de una composición de procesamiento de textiles en una sola etapa no reducen la actividad enzimática de la perhidrolasa hasta tal punto que la perhidrolasa no sea efectiva como se desea durante situaciones normales de uso. Más adelante en el presente documento se ejemplifican en detalle materiales de composición específicos.

[0054] Según se utiliza en el presente documento, “cantidad efectiva de enzima perhidrolasa” se refiere a la cantidad de enzima perhidrolasa necesaria para lograr la actividad enzimática requerida en los tratamientos o métodos descritos en el presente documento. Un experto habitual en la materia determina fácilmente tales cantidades efectivas y éstas se basan en muchos factores, como la variante de enzima concreta utilizada, el pH utilizado, la temperatura utilizada y similares, así como los resultados deseados (es decir, nivel de blancura).

[0055] Según se utiliza en el presente documento, “sustancia química oxidante” se refiere a una sustancia química que tiene la capacidad de blanquear un textil. La sustancia química oxidante está presente con una cantidad, pH y temperatura adecuados para el blanqueo. El término incluye, sin carácter limitativo, peróxido de hidrógeno y perácidos.

[0056] Según se utiliza en el presente documento, “acilo” es el nombre general para grupos de ácidos orgánicos, que son los residuos de ácidos carboxílicos después de la eliminación del grupo -OH (es decir, cloruro de etanoilo, $\text{CH}_3\text{CO}-\text{Cl}$, es el cloruro de acilo formado a partir de ácido etanoico, $\text{CH}_3\text{COO}-\text{H}$). Los nombres de los grupos de acilo individuales se forman reemplazando el “-ico” del ácido por “-ilo”.

5 **[0057]** Según se utiliza en el presente documento, el término “transferasa” se refiere a una enzima que cataliza la transferencia de compuestos funcionales a una gama de sustratos.

10 **[0058]** Según se utiliza en el presente documento, el término “conversión enzimática” se refiere a la modificación de un sustrato a un intermedio o la modificación de un intermedio a un producto final poniendo en contacto el sustrato o intermedio con una enzima. En algunos modos de realización, el contacto se lleva a cabo exponiendo directamente el sustrato o intermedio a la enzima adecuada. De esta manera, la producción de peróxido de hidrógeno mediante, por ejemplo, glucosa oxidasa resulta de la conversión enzimática de glucosa a ácido glucónico en presencia de oxígeno. De forma similar, por ejemplo, se puede generar un perácido mediante la conversión enzimática de un éster por una aciltransferasa en presencia de peróxido de hidrógeno.

15 **[0059]** Según se utiliza en el presente documento, la expresión “estabilidad con respecto a proteólisis” se refiere a la capacidad de una proteína (es decir, una enzima) de soportar proteólisis. No se pretende que el término se limite a la utilización de ninguna proteasa particular para evaluar la estabilidad de una proteína.

20 **[0060]** Según se utiliza en el presente documento, “estabilidad oxidativa” se refiere a la capacidad de una proteína de funcionar bajo condiciones oxidativas. En concreto, el término se refiere a la capacidad de una proteína de funcionar en presencia de diferentes concentraciones de H_2O_2 y/o perácido. La estabilidad bajo diferentes condiciones oxidativas se puede medir por procedimientos estándar que conocen los expertos en la materia y/o por los métodos descritos en el presente documento. Se evidencia un cambio sustancial en la estabilidad oxidativa mediante al menos un 5 % aproximadamente o aumento o disminución mayor (en la mayoría de modos de realización, es preferible un aumento) en la vida media de una actividad enzimática, en comparación con la actividad enzimática presente en ausencia de compuestos oxidativos.

25 **[0061]** Según se utiliza en el presente documento, “estabilidad de pH” se refiere a la capacidad de una proteína de funcionar con un pH concreto. En general, la mayoría de enzimas tienen un intervalo de pH finito con el que funcionarán. Además de las enzimas que funcionan en intervalos de pH medios (es decir, alrededor de pH 7), hay enzimas que son capaces de trabajar bajo condiciones con pHs muy elevados o muy bajos. La estabilidad en varios pHs se puede medir por procedimientos estándar que los expertos en la materia conocen y/o por los métodos descritos en el presente documento. Se evidencia un cambio sustancial en la estabilidad de pH mediante al menos un 5 % aproximadamente o aumento o disminución mayor (en la mayoría de modos de realización, es preferible un aumento) en la vida media de una actividad enzimática, en comparación con la actividad enzimática con el pH óptimo de la enzima. No obstante, no se pretende que los presentes procesos, métodos y/o composiciones descritos en el presente documento se limiten a ningún nivel de estabilidad de pH ni intervalo de pH.

40 **[0062]** Según se utiliza en el presente documento, “estabilidad térmica” se refiere a la capacidad de una proteína de funcionar a una temperatura concreta. En general, la mayoría de enzimas tiene un intervalo finito de temperaturas a las que funcionarán. Además de las enzimas que funcionan en intervalos de temperatura medios (es decir, temperatura ambiente), hay enzimas que son capaces de trabajar a temperaturas muy elevadas o muy bajas. La estabilidad térmica se puede medir por procedimientos conocidos o por los métodos descritos en el presente documento. Se evidencia un cambio sustancial en la estabilidad térmica mediante al menos un 5 % aproximadamente o aumento o disminución mayor (en la mayoría de modos de realización, es preferible un aumento) en la vida media de la actividad catalítica de un mutante cuando se expone a una temperatura diferente (es decir, superior o inferior) a la temperatura óptima para la actividad enzimática. No obstante, no se pretende que los procesos, métodos y/o composiciones descritos en el presente documento se limiten a ningún nivel estabilidad de temperatura ni intervalo de temperatura.

50 **[0063]** Según se utiliza en el presente documento, el término “estabilidad química” se refiere a la estabilidad de una proteína (es decir, una enzima) con respecto a sustancias químicas que afectan negativamente a su actividad. En algunos modos de realización, tales sustancias químicas incluyen, sin carácter limitativo, peróxido de hidrógeno, perácidos, tensioactivos aniónicos, tensioactivos catiónicos, tensioactivos no iónicos, quelantes, etc. No obstante, no se pretende que los procesos, métodos y/o composiciones descritos en el presente documento se limiten a ningún nivel estabilidad química ni intervalo de estabilidad química en concreto.

55 **[0064]** Según se utiliza en el presente documento, los términos “purificado” y “aislado” se refieren a la eliminación de contaminantes de una muestra. Por ejemplo, las perhidrolasas se purifican mediante eliminación de proteínas contaminantes y otros compuestos en una solución o preparación que no son perhidrolasas. En algunos modos de realización, las perhidrolasas recombinantes se expresan en células huésped bacterianas o fúngicas y estas perhidrolasas recombinantes se purifican mediante la eliminación de otros componentes de la célula huésped; de esta manera, se aumenta el porcentaje de polipéptidos de perhidrolasas recombinantes en la muestra.

[0065] Según se utiliza en el presente documento, “proteína” se refiere a cualquier composición que comprende aminoácidos y que los expertos en la materia reconocen como una proteína. Los términos “proteína”, “péptido” y “polipéptido” se usan indistintamente en el presente documento. Donde un péptido es una porción de una proteína, los expertos en la materia entienden el uso del término en contexto.

5 **[0066]** Según se utiliza en el presente documento, las proteínas funcionalmente y/o estructuralmente similares se consideran “proteínas relacionadas”. En algunos modos de realización, estas proteínas derivan de un género y/o especie diferente, incluyendo diferencias entre clases de organismos (p. ej., una proteína bacteriana y una proteína fúngica). En algunos modos de realización, estas proteínas derivan de un género y/o especie diferente, incluyendo diferencias entre clases de organismos (p. ej., una enzima bacteriana y una enzima fúngica). En
10 modos de realización adicionales, se proporcionan proteínas relacionadas de la misma especie. De hecho, no se pretende que los procesos, métodos y/o composiciones descritos en el presente documento se limiten a proteínas relacionadas de ninguna fuente(s) en concreto. Además, el término “proteínas relacionadas” abarca homólogos de estructura terciaria y homólogos de secuencia primaria. En más modos de realización, el término abarca proteínas que reaccionan inmunológicamente de forma cruzada. En los métodos de realización más
15 particularmente preferidos, las proteínas de perhidrolasa relacionadas útiles en la presente invención tienen relaciones muy elevadas de perhidrólisis con respecto a hidrólisis.

[0067] Según se utiliza en el presente documento, el término “derivado” se refiere a una proteína que se deriva de una proteína mediante la adición de uno o más aminoácidos ya sea en uno o en ambos extremos C- y N-terminales, la sustitución de uno o más aminoácidos en un sitio o número de sitios diferentes en la secuencia de
20 aminoácidos, y/o la eliminación de uno o más aminoácidos ya sea en uno o en ambos extremos de la proteína o en uno o más sitios en la secuencia de aminoácidos, y/o la inserción de uno o más aminoácidos en uno o más sitios de la secuencia de aminoácidos. La preparación de una proteína derivada se consigue preferentemente modificando una secuencia de ADN que codifica la proteína nativa, la transformación de esa secuencia de ADN en un huésped adecuado, y la expresión de la secuencia de ADN modificada para formar la proteína derivada.

25 **[0068]** Las proteínas relacionadas (y derivadas) comprenden “proteínas variantes”. En algunos modos de realización preferidos, las proteínas variantes se diferencian de una proteína original, es decir, una proteína natural, y entre sí por un pequeño número de residuos de aminoácidos. El número de residuos de aminoácidos diferentes puede ser uno o más, preferentemente 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más residuos de aminoácidos. El número de aminoácidos diferentes entre variantes oscila entre 1 y 10. En algunos aspectos, las
30 proteínas relacionadas y, en concreto, las proteínas variantes comprenden al menos 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55%, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos. Además, una proteína relacionada o una proteína variante, según se utiliza en el presente documento, se refiere a una proteína que difiere de otra proteína relacionada o proteína original en el número de regiones prominentes. Por ejemplo, en algunos modos de realización, las proteínas variantes tienen 1, 2, 3, 4, 5,
35 o 10 regiones prominentes correspondientes que difieren de la proteína original.

[0069] En la técnica se conocen varios métodos que son adecuados para generar variantes de las enzimas descritas en el presente documento, incluyendo, pero sin carácter limitativo, mutagénesis de saturación de sitio, mutagénesis de barrido, mutagénesis insercional, mutagénesis aleatoria, mutagénesis de sitio dirigido, y evolución dirigida, así como otros varios enfoques recombinatorios.

40 **[0070]** En modos de realización particularmente preferidos, se crean proteínas homólogas para producir enzimas con la(s) actividad(es) deseada(s).

[0071] Según se utiliza en el presente documento, el término “secuencia análoga” se refiere a una secuencia en una proteína que proporciona función, estructura terciaria y/o residuos conservados similares a la proteína de interés (es decir, normalmente la proteína de interés original). Por ejemplo, en regiones epitópicas que contienen
45 una estructura de hélice alfa o lámina beta, los aminoácidos de reemplazo en la secuencia análoga mantienen preferentemente la misma estructura específica. El término también se refiere a secuencias nucleotídicas, así como a secuencias aminoacídicas. En algunos modos de realización, se desarrollan secuencias análogas, de tal manera que los aminoácidos de reemplazo dan como resultado una enzima variante que muestra una función similar o mejorada. En algunos modos de realización preferidos, la estructura terciaria y/o los residuos conservados de los aminoácidos en la proteína de interés se encuentran en o cerca del segmento o fragmento de interés. De esta manera, donde el segmento o fragmento de interés contiene, por ejemplo, una estructura de hélice alfa o lámina beta, los aminoácidos de reemplazo mantienen preferentemente esa estructura específica.

[0072] Según se utiliza en el presente documento, “proteína homóloga” se refiere a una proteína (p. ej., perhidrolasa) que tiene acción y/o estructura similares a una proteína de interés (p. ej., una perhidrolasa de otra fuente). No se pretende que los homólogos estén necesariamente relacionados evolutivamente. De esta manera, se pretende que el término abarque la(s) misma(s) o similar(es) enzima(s) (es decir, en términos de estructura y función) obtenida(s) de diferentes especies. En algunos modos de realización preferidos, es deseable identificar un homólogo que tenga una estructura cuaternaria, terciaria y/o primaria similar a la proteína de interés, ya que el reemplazo del segmento o fragmento en la proteína de interés por un segmento análogo del homólogo reducirá
55

la inestabilidad del cambio. En algunos modos de realización, las proteínas homólogas tienen respuesta(s) inmunológica(s) inducida(s) similar(es) a una proteína de interés.

[0073] Según se utiliza en el presente documento, las proteínas “naturales” y “nativas” son las que se encuentran en la naturaleza. Los términos “secuencia natural” y “gen natural” se utilizan indistintamente en el presente documento para referirse a una secuencia que es nativa o natural en una célula huésped. En algunos modos de realización, la secuencia natural se refiere a una secuencia de interés que es el punto de partida de un proyecto de creación de una proteína. Los genes que codifican la proteína natural se pueden obtener de acuerdo con los métodos generales que los expertos en la materia conocen. Los métodos generalmente comprenden sintetizar sondas marcadas que tienen secuencias putativas que codifican regiones de la proteína de interés, preparar bibliotecas genómicas a partir de organismos que expresan la proteína, y examinar las bibliotecas para encontrar el gen de interés mediante hibridación con las sondas. Se mapean y se secuencian entonces los clones de hibridación positiva.

[0074] El grado de homología entre secuencias se puede determinar utilizando cualquier método adecuado conocido en la técnica (véanse p. ej., Smith y Waterman, *Adv. Appl. Math.*, 2:482 [1981]; Needleman y Wunsch, *J. Mol. Biol.*, 48:443 [1970]; Pearson y Lipman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444 [1988]; programas como GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package (Genetics Computer Group, Madison, WI); y Devereux *et al.*, *Nucl. Acid Res.*, 12:387-395 [1984]).

[0075] Por ejemplo, PILEUP es un programa útil para determinar los niveles de homología de secuencias. PILEUP crea un alineamiento de secuencia múltiple a partir de un grupo de secuencias relacionadas utilizando alineaciones progresivas y por parejas. También puede representar un árbol que muestra las relaciones de agrupamiento utilizadas para crear el alineamiento. PILEUP utiliza una simplificación del método de alineamiento progresivo de Feng y Doolittle, (Feng y Doolittle, *J. Mol. Evol.*, 35:351-360 [1987]). El método es similar al descrito por Higgins y Sharp (Higgins y Sharp, *CABIOS* 5:151-153 [1989]). Parámetros útiles de PILEUP incluyen una ponderación de hueco por defecto de 3,00, una ponderación de longitud de hueco por defecto de 0,10 y huecos finales ponderados. Otro ejemplo de un algoritmo útil es el algoritmo BLAST, descrito por Altschul *et al.*, (Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 215:403-410, [1990]; y Karlin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5787 [1993]). Un programa de BLAST particularmente útil es el programa WU-BLAST-2 (véase Altschul *et al.*, *Meth. Enzymol.* 266:460-480 [1996]). Los parámetros “W”, “T” y “X” determinan la sensibilidad y velocidad del alineamiento. El programa BLAST utiliza por defecto una longitud de palabra (W) de 11, la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915 [1989]), alineaciones (B) de 50, expectativa (E) de 10, M’5, N’-4 y una comparación de ambas hebras.

[0076] Las expresiones “sustancialmente similar” y “sustancialmente idéntico” en el contexto de al menos dos ácidos nucleicos o polipéptidos normalmente indican que un polinucleótido o polipéptido comprende una secuencia que tiene al menos 40 % aproximadamente de identidad, más preferentemente al menos 50 % aproximadamente de identidad, todavía más preferentemente al menos 60 % aproximadamente de identidad, preferentemente al menos 75 % aproximadamente de identidad, más preferentemente al menos 80 % aproximadamente de identidad, todavía más preferentemente al menos 90 % aproximadamente, aún más preferentemente 95 % aproximadamente, siendo lo más preferente 97 % aproximadamente de identidad, a veces del orden de 98 % aproximadamente y 99 % aproximadamente de identidad de secuencias, en comparación con la secuencia de referencia (es decir, natural). La identidad de secuencias se puede determinar utilizando programas conocidos como BLAST, ALIGN y CLUSTAL que utilizan parámetros estándar. (Véase, p. ej., Altschul, *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215:403-410 [1990]; Henikoff *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915 [1989]; Karin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873 [1993]; y Higgins *et al.*, *Gene* 73:237 - 244 [1988]). El software para llevar a cabo los análisis BLAST está disponible al público en el National Center for Biotechnology Information. Además, se pueden buscar bases de datos utilizando FASTA (Pearson *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:244.4-2448 [1988]). Un indicio de que dos polipéptidos son sustancialmente idénticos es que el primer polipéptido reacciona inmunológicamente de forma cruzada con el segundo polipéptido. Normalmente, los polipéptidos que difieren en sustituciones de aminoácidos conservativas reaccionan inmunológicamente de forma cruzada. De esta manera, un polipéptido es sustancialmente idéntico a un segundo polipéptido, por ejemplo, cuando los dos péptidos difieren sólo en una sustitución conservativa. Otro indicio de que dos secuencias de ácido nucleico son sustancialmente idénticas es que las dos moléculas se hibridan entre sí bajo condiciones rigurosas (es decir, en un intervalo de rigor de medio a alto).

[0077] Los términos “simultáneamente” o “simultáneo” o “en una sola etapa” pretenden indicar que al menos una parte (es decir, preferentemente 75 % aproximadamente o más, más preferiblemente 90 % aproximadamente o más) del desprestado, descrudado y blanqueo se llevan a cabo en una sola operación. No se pretende que el término indique que los textiles tratados mediante los métodos y composiciones no puedan ser tratados más de una vez. Más bien, el término indica que para cada ciclo de tratamiento se utilizan varios componentes, según se detalla en otra parte de esta solicitud, al tratar el textil de una sola vez. Asimismo, los componentes del tratamiento se pueden añadir de uno en uno, todos a la vez o en grupos siempre que al menos en una parte del ciclo de tratamiento estén todos los componentes presentes. La parte del ciclo de tratamiento en la que todos los componentes están presentes puede variar dependiendo de la longitud total del ciclo de tratamiento.

- 5 **[0078]** El término “simultáneamente” también pretende indicar en algunos modos de realización que al menos una parte del biodescudado y blanqueo enzimático se llevan a cabo en una sola operación. Esto tiene la ventaja obvia de que ya no se requiere el lavado y otros tratamientos normalmente llevados a cabo entre etapas de descudado y blanqueo separadas. De esta manera, se reduce considerablemente la demanda de agua, tiempo y energía, así como la demanda de diferentes equipos a utilizar en cada uno de los procesos. Además, dependiendo del tipo de tejido a tratar y la naturaleza de las impurezas presentes en el mismo, se puede obtener un efecto de desaprestado durante la realización del proceso de la invención. Así, en tales casos, no es necesario realizar tratamientos de desaprestado adicionales. Si bien se prefiere que todo el desaprestado se lleve a cabo en conjunción con la etapa de blanqueo, un experto habitual en la materia reconocerá que se puede llevar a cabo alguna parte del desaprestado por separado de la etapa de blanqueo sin alejarse del espíritu de la invención.
- 10 **[0079]** Una “preparación purificada” o una “preparación sustancialmente pura” de un polipéptido (como una enzima), según se utiliza en el presente documento, indica un polipéptido que ha sido separado de otras proteínas, lípidos y ácidos nucleicos con los que se encuentra de forma natural. Preferentemente, el polipéptido también se separa de sustancias, por ejemplo, anticuerpos o matriz de gel (es decir, poli(acrilamida)), que se utilizan para purificarlo. Preferentemente, el polipéptido constituye al menos 10 %, 20 %, 50 %, 70 %, 80 % o 95% en peso seco de la preparación purificada. Las enzimas se pueden utilizar o suministrar en algunos modos de realización como una preparación purificada.
- 15 **[0080]** Los términos “péptidos”, “proteínas” y “polipéptidos” se usan indistintamente en el presente documento. “Enzimas” son un tipo de proteínas que son capaces de catalizar reacciones bioquímicas. En los presentes procesos, métodos y composiciones las enzimas son predominantemente enzimas capaces de descomponer (es decir, degradar) varias sustancias naturales tales como, pero sin carácter limitativo, proteínas y carbohidratos.
- 20 **[0081]** Los términos “apresto” o “aprestado” se refieren a compuestos utilizados en la industria textil para mejorar la realización del tejido aumentando la resistencia a la abrasión y la resistencia del hilo. El apresto está compuesto normalmente, por ejemplo, de almidón o compuestos similares al almidón.
- 25 **[0082]** Los términos “desapresto” o “desaprestado”, según se utilizan en el presente documento, se refieren al proceso consistente en eliminar el apresto, generalmente almidón, de los textiles normalmente antes de aplicar, tintes, blanqueos o acabados especiales.
- 30 **[0083]** “Enzima(s) de desaprestado”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a enzimas que se utilizan para eliminar el apresto mediante enzimas. Ejemplos de enzimas son amilasas, celulasas y mananasas.
- [0084]** El término “perhidrolización” o “perhidrolizado”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a una reacción en la que se genera ácido peracético a partir de sustratos de éster en presencia de peróxido de hidrógeno. En un modo de realización preferido, la reacción de perhidrolización se cataliza con la enzima aciltransferasa.
- 35 **[0085]** El término “ácido peracético”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a un perácido derivado de los grupos de éster de una molécula donante. En general, un perácido se deriva de un éster de ácido carboxílico que se ha hecho reaccionar con peróxido de hidrógeno para formar un producto de perácido altamente reactivo que es capaz de transferir de sus átomos de oxígeno. Esta capacidad de transferir átomos de oxígeno es la que permite al ácido peracético funcionar como un agente de blanqueo.
- 40 **[0086]** El término “descudado”, según se utiliza en el presente documento, indica la eliminación de impurezas, por ejemplo, gran parte de los compuestos no celulósicos (p. ej., pectinas, proteínas, cera, motas, etc.) que se encuentran de forma natural en el algodón o en otros textiles. Además de las impurezas no celulósicas naturales, el descudado puede eliminar, en algunos modos de realización, residuos de materiales introducidos en la fabricación como lubricantes de hilado, enconado o encolado.
- 45 **[0087]** El término “enzima(s) de biodescudado” se refiere por tanto a una(s) enzima(s) capaz de eliminar al menos una parte de las impurezas que se encuentran en el algodón o en otros textiles.
- [0088]** El término “motas” se refiere a impurezas indeseadas, tales como fragmentos de semillas de algodón, hojas, tallos y otras partes de la planta, que se adhieren a la fibra incluso después de un proceso de desmotado mecánico.
- 50 **[0089]** El término “tejidos crudos”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a textiles que no han recibido ningún tratamiento de blanqueo, tinte o acabado después de ser producidos. Por ejemplo, cualquier tejido o tejido de punto fuera del telar que aún no se ha acabado (desaprestado, descudado, etc.), blanqueado o teñido se denomina un tejido crudo. Los textiles utilizados en los ejemplos que aparecen más adelante son tejidos crudos.
- 55 **[0090]** El término “tintura”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a la aplicación de color, especialmente empapando, por ejemplo, textiles, en una solución colorante.

[0091] El término fibra, hilo o tejido “celulósico que no es de algodón” indica fibras, hilos o tejidos que están compuestos principalmente por una composición basada en celulosa que no es algodón. Ejemplos de dichas composiciones incluyen lino, ramio, yute, linaza, rayón, lyocell, acetato de celulosa y otras composiciones similares que se derivan de celulósicos que no son de algodón.

5 **[0092]** El término “proteasa” indica un dominio de proteína o polipéptido de una proteína o polipéptido derivado de un microorganismo, p. ej., un hongo, bacteria o de una planta o animal, y que tiene la capacidad de catalizar la escisión de los enlaces peptídicos en una o más posiciones diferentes de una estructura de carbohidrato de proteína.

10 **[0093]** El término “aciltransferasa”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a enzimas funcionales en la descomposición de ésteres y otras composiciones a base de aceite que se necesita eliminar en el procesamiento (p. ej., el descrudado) de textiles. Aciltransferasa, en el contexto de la composición, se refiere a las enzimas que catalizan la conversión de compuestos adecuados (p. ej., diacetato de propilenglicol) en varios componentes incluyendo ácido peracético.

15 **[0094]** El término “cutinasa”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a una enzima derivada vegetal, bacteriana o fúngica utilizada en el procesamiento de textiles. Las cutinasas son enzimas lipolíticas capaces de hidrolizar la cutina del sustrato. Las cutinasas pueden descomponer ésteres de ácido graso y otras composiciones a base de aceite que se necesita eliminar en el procesamiento (p. ej., el descrudado) de textiles. “Cutinasa” indica una enzima que presenta actividad de hidrólisis de cutina vegetal significativa. De forma específica, una cutinasa tendrá actividad hidrolítica en la cutina de polímero de biopolíester hallada en las hojas
20 de las plantas. Las cutinasas adecuadas se pueden aislar de muchas fuentes vegetales, fúngicas y bacterianas diferentes. Se ofrecen ejemplos de cutinasas en *Lipases: Structure, Mechanism and Genetic Engineering*, VCH Editores, editado por Alberghina, Schmid & Verger (1991) pp. 71-77; *Lipases*, Elsevier, editado por Borgstrom & Brockman (1984) pp. 471-477; y Sebastian *et al.*, *J. Bacteriology*, vol. 169, núm. 1, pp. 131-136 (1987).

25 **[0095]** El término “pectato liasa”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a un tipo de pectinasa. “Pectinasa” denota una enzima pectinasa definida según la técnica en la que las pectinasas son un grupo de enzimas que rompen enlaces glicosídicos de sustancias pécticas principalmente poli(1,4-alfa-D-galacturónido) y sus derivados (véase Sakai *et al.* “Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties and applications”, pp. 213-294 en: *Advances in Applied Microbiology* vol:39, 1993). Una pectinasa útil en el presente documento es una enzima pectinasa que cataliza la escisión aleatoria de enlaces alfa-1,4-glicosídicos en ácido péctico también
30 denominado ácido poligalacturónico mediante transeliminación, en concreto la clase de enzima liasa poligalaturonato (EC 4.2.2.2) (PGL), también conocida como liasa poli(1,4-alfa-D-galacturónido), también conocida como pectato liasa.

[0096] El término “pectina” denota pectato, ácido poligalacturónico y pectina que se pueden esterificar a un grado superior o inferior.

35 **[0097]** El término “ α -amilasa”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a una enzima que rompe los enlaces a (1-4)glicosídicos de amilosa para producir moléculas de maltosa (disacáridos de α -glucosa). Las amilasas son enzimas digestivas halladas en la saliva y también las producen muchas plantas. Las amilasas descomponen carbohidratos de cadena larga (como almidón) en unidades más pequeñas. Una α -amilasa “oxidativamente estable” es una α -amilasa que resiste a la degradación mediante medios oxidativos, cuando se
40 compara con una α -amilasa oxidativamente no estable, especialmente cuando se compara con la α -amilasa oxidativamente no estable de la que se derivó la α -amilasa oxidativamente estable.

[0098] Según se utiliza en el presente documento, “microorganismo” se refiere a una bacteria, un hongo, un virus, un protozoo y otros microbios u organismos microscópicos.

45 **[0099]** Según se utiliza en el presente documento, el término “derivado” indica una proteína que se deriva de una proteína precursora (p. ej., la proteína nativa) mediante la adición de uno o más aminoácidos tanto en uno como en ambos extremos C- y N- terminales, la sustitución de uno o más aminoácidos en un sitio o número de sitios diferentes en la secuencia de aminoácidos, la eliminación de uno o más aminoácidos tanto en uno como en
50 ambos extremos de la proteína o en uno o más sitios en la secuencia de aminoácidos, o la inserción de uno o más aminoácidos en uno o más sitios en la secuencia de aminoácidos. Las enzimas pueden ser derivadas de enzimas conocidas siempre y cuando funcionen como la enzima no derivada en la medida necesaria para ser útiles en los presentes procesos, métodos y composiciones.

[0100] Según se utiliza en el presente documento, una sustancia (p. ej., un polinucleótido o proteína) “derivada de” un microorganismo indica que la sustancia es nativa en el microorganismo.

Enzimas de desaprestado

55 **[0101]** Se puede utilizar en la presente invención cualquier enzima de desaprestado adecuada. Preferentemente, la enzima de desaprestado en una enzima amilolítica. Las mananasas y glucoamilasas también sirven en la

presente invención. Más preferentemente, la enzima de desaprestado es una α - o β -amilasa y combinaciones de la misma.

Amilasas

5 [0102] Las alfa y beta amilasas que son adecuadas en el contexto de la presente invención incluyen las de origen bacteriano o fúngico. Los mutantes de dichas amilasas modificados química o genéticamente también se incluyen en esta relación. Las α -amilasas preferidas incluyen, por ejemplo, α -amilasas obtenibles de especies *Bacillus*. Amilasas útiles incluyen, sin carácter limitativo, Optisize 40, Optisize 160, Optisize HT 260, Optisize HT 520, Optisize HT Plus, Optisize FLEX (todas de Genencor Int. Inc.), Duramyl™, Termamyl™, Fungamyl™ y BAN™ (todas disponibles en Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca). Otras enzimas amilolíticas preferidas son

10 CGTasas (ciclodextrina glucanotransferasas, EC 2.4.1.19), p. ej., las obtenidas de especies de *Bacillus*, *Thermoanaerobacter* o *Thermoanaero-bacterium*.

[0103] La actividad de Optisize 40 y Optisize 160 se expresa en RAU/g de producto. Un RAU es la cantidad de enzima que convertirá 1 gramo de almidón en azúcares solubles en una hora bajo condiciones estándares. La actividad de Optisize HT 260, Optisize HT 520 y Optisize HT Plus se expresa en TTAU/g. Un TTAU es la cantidad

15 de enzima que se necesita para hidrolizar 100 mg de almidón en azúcares solubles por hora bajo condiciones estándares. La actividad de Optisize FLEX se determina en TSAU/g. Un TSAU es la cantidad de enzima necesaria para convertir 1 mg de almidón en azúcares solubles en un minuto bajo condiciones estándares.

[0104] La dosis de la amilasa varía dependiendo del tipo de proceso. Dosis más pequeñas requerirían más tiempo que dosis más grandes de la misma enzima. No obstante, no hay un tope en la cantidad de amilasa de

20 desaprestado distinto a lo que puedan dictar las características físicas de la solución. El exceso de enzima no daña el tejido; permite un tiempo de procesamiento más corto. Basándose en lo anterior y en la enzima utilizada, se sugieren las siguientes dosis mínimas para el desaprestado:

Producto amilasa	Dosis mínima (por litro de líquido de desaprestado)	Intervalo normal (por litro de líquido de desaprestado)
Optisize 40	1.000 RAU	2.000-70.000 RAU
Optisize 160	1.000 RAU	2.000-70.000 RAU
Optisize HT 260	1.000 TTAU	3.000-100.000 TTAU
Optisize HT 520	1.000 TTAU	3.000-100.000 TTAU
Optisize HT Plus	1.000 TTAU	3.000-100.000 TTAU
Optisize FLEX	5.000 TSAU	13.000-65.000 TSAU

[0105] Las enzimas de desaprestado también se pueden derivar preferentemente de las enzimas listadas

25 anteriormente en las que se han añadido, eliminado o sustituido uno o más aminoácidos, incluyendo polipéptidos híbridos, siempre y cuando los polipéptidos resultantes muestren actividad de desaprestado. Dichas variantes útiles en la práctica de la presente invención se pueden crear utilizando procedimientos de mutagénesis convencionales e identificar utilizando, por ejemplo, técnicas de cribado de alto rendimiento como el procedimiento de cribado mediante una placa de agar.

[0106] La enzima de desaprestado se añade a la solución acuosa (es decir, la composición de tratamiento) en una cantidad efectiva para desaprestar los materiales textiles. Normalmente, se incorporan enzimas de

30 desaprestado, como α -amilasas, a la composición de tratamiento en una cantidad comprendida entre 0.00001 % y 2 % de proteína de enzima por peso del tejido, preferentemente en una cantidad comprendida entre 0.0001 % y 1 % de proteína de enzima por peso del tejido, más preferentemente en una cantidad comprendida entre 0.001% y 0.5 % de proteína de enzima por peso del tejido, más preferentemente y todavía más preferentemente en una

35 cantidad comprendida entre 0.01 % y aproximadamente 0.2 % de proteína de enzima por peso del tejido.

Enzimas de biodescruddo

Pectinasas

[0107] Cualquier composición de enzima pectinolítica con la capacidad de degradar la composición de pectina

40 de, por ejemplo, peces celulosas vegetales, se puede utilizar en la práctica de la presente invención. Pectinasas adecuadas incluyen, sin carácter limitativo, las de origen fúngico o bacteriano. También se incluyen pectinasas modificadas química o genéticamente. Preferentemente, las pectinasas utilizadas en la invención se producen de manera recombinante o son de origen natural. Pueden ser enzimas de un solo componente.

[0108] Las pectinasas se pueden clasificar en función de su sustrato preferente, pectina altamente metil-

45 esterificada o pectina de baja metil-esterificación y ácido poligalacturónico (pectato), y de su mecanismo de

reacción, β -eliminación o hidrólisis. Las pectinasas pueden ser principalmente endoactivas, que cortan el polímero en sitios aleatorios en la cadena para dar como resultado una mezcla de oligómeros, o pueden ser exoactivas, que atacan desde un extremo del polímero y producen monómeros o dímeros. Varias actividades de las pectinasas que actúan en las regiones lisas de la pectina se incluyen en la clasificación de enzimas proporcionada en *Enzyme Nomenclature* (1992), por ejemplo, pectato liasa (EC 4.2.2.2), pectina liasa (EC 4.2.2.10), poligalacturonasa (EC 3.2.1.15), exo-poligalacturonasa (EC 3.2.1.67), exo-poligalacturonato-liasa (EC 4.2.2.9) y exo-poli-alfa-galacturonosidasa (EC 3.2.1.82). Los métodos de la invención utilizan pectato liasas, de manera opcional, en combinación con otras enzimas.

[0109] La actividad enzimática de la pectato liasa, según se utiliza en el presente documento, se refiere a la catálisis de la escisión aleatoria de enlaces α -1,4-glicosídicos en ácido péctico (también llamado ácido poligalacturónico) mediante transeleliminación. Las pectato liasas también se denominan poligalacturonato liasas y poli(1,4-D-galacturonido) liasas. Para propósitos de la siguiente invención, la actividad enzimática de la pectato liasa es la actividad determinada midiendo el aumento en la absorbancia a 253 nm de una solución de 0,1 % en peso/volumen de poligalacturonato de sodio en un tampón de glicina 0,1M con pH 10 (véase Collmer *et al.*, 1988, (1988). *Assay methods for pectic enzymes. Methods Enzymol* 161, 329-335). La actividad enzimática se expresa normalmente en x mol/min, es decir, la cantidad de enzima que cataliza la formación de x producto mol/min. Un ensayo alternativo mide la disminución en viscosidad de una solución de 5 % en peso/volumen de poligalacturonato de sodio en un tampón de glicina 0,1 M con pH 10, medido en viscometría de vibración (unidades APSU). Se entenderá que se puede utilizar cualquier pectato liasa en la práctica de la presente invención.

[0110] Ejemplos no limitantes de pectato liasas cuyo uso se incluye en la presente invención incluyen pectato liasas que han sido clonadas a partir de diferentes géneros bacterianos tales como *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Klebsiella* y *Xanthomonas*. Las pectato liasas adecuadas para su utilización en la presente invención son *Bacillus subtilis* (Nasser, *et al.* (1993) *FEBS Letts.* 335:319-326) y *Bacillus sp.* YA-14 (Kim, *et al.* (1994) *Biosci. Biotech. Biochem.* 58:947-949). También se han descrito otras pectato liasas producidas por *Bacillus pumilus* (Dave y Vaughn (1971) *J. Bacteriol.* 108:166-174), *B. polymyxa* (Nagel y Vaughn (1961) *Arch. Biochem. Biophys.* 93:344-352), *B. stearothermophilus* (Karbassi y Vaughn (1980) *Can. J. Microbiol.* 26:377-384), *Bacillus sp.* (Hasegawa y Nagel (1966) *J. Food Sci.* 31:838-845) y *Bacillus sp.* RK9 (Kelly y Fogarty (1978) *Can. J. Microbiol.* 24:1164-1172) y se contempla su utilización en las presentes composiciones y métodos. En la práctica de la invención se puede utilizar cualquiera de las anteriores, así como pectato liasas independientes de cationes divalentes, y/o pectato liasas termoestables.

[0111] En modos de realización preferidos, la pectato liasa comprende, por ejemplo, las descritas en WO 04/090099 (Diversa) y WO 03/095638 (Novo).

[0112] Una cantidad efectiva de enzima pectolítica para utilizarse según el método de la presente invención depende de muchos factores, pero, según la invención, la concentración de la enzima pectolítica en el medio acuoso puede comprender entre aproximadamente 0.0001 % y aproximadamente 1 % microgramos de proteína de enzima por peso del tejido, preferentemente comprendida entre 0.0005 % y 0.2 % de proteína de enzima por peso del tejido, más preferentemente comprendida entre 0.001 % y aproximadamente 0.05 % de proteína de enzima por peso del tejido.

40 *Cutininas*

[0113] Se puede utilizar cualquier cutinasa adecuada para su utilización en la presente invención, incluyendo, por ejemplo, la cutinasa derivada de una cepa de cutinasa *Humicola insolens* DSM 1800, como se describe en Ejemplo 2 de la patente estadounidense núm. 4.810.414 o, en un modo de realización preferido, la cutinasa microbiana derivada de *Pseudomonas mendocina* descrita en la patente estadounidense núm. 5.512.203, variantes de las mismas y/o equivalentes. Variantes adecuadas se describen, por ejemplo, en WO 03/76580.

[0114] Cutininas bacterianas adecuadas se pueden derivar de una especie *Pseudomonas* o *Acinetobacter*, preferentemente de *P. stutzeri*, *P. alcaligenes*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. aeruginosa* o *A. calcoaceticus*, más preferentemente de la cepa *P. stutzeri* Thai IV 17-1 (CBS 461.85), PG-1-3 (CBS 137.89), PG-1-4 (CBS 138.89), PG-II-11.1 (CBS 139.89) o PG-II-11.2 (CBS 140.89), *P. aeruginosa* PAO (ATCC 15692), *P. alcaligenes* DSM 50342, *P. pseudoalcaligenes* IN II-5 (CBS 468.85), *P. pseudoalcaligenes* M-1 (CBS 473.85) o *A. calcoaceticus* G V-39 (CBS 460.85). Con respecto a la utilización de cutininas derivadas de plantas, se sabe que las cutininas están presentes en el polen de muchas plantas y dichas cutininas serían útiles en los presentes procesos, métodos y composiciones. Las cutininas también se pueden derivar de un hongo, como, *Absidia spp.*; *Acronium spp.*; *Agaricus spp.*; *Anaeromyces spp.*; *Aspergillus spp.*, including *A. auculealus*, *A. awamori*, *A. flavus*, *A. foetidus*, *A. fumaricus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. oryzae*, *A. terreus* and *A. versicolor*; *Aeurobasidium spp.*; *Cephalosporum spp.*; *Chaetomium spp.*; *Coprinus spp.*; *Dactylium spp.*; *Fusarium spp.*, including *F. conglomerans*, *F. decemcellulare*, *F. javanicum*, *F. lini*, *F. oxysporum* and *F. solani*; *Gloociadium spp.*; *Humicola spp.*, including *H. insolens* and *H. lanuginosa*; *Mucor spp.*; *Neurospora spp.*, including *N. crassa* and *N. sitophila*; *Neocallimastix spp.*; *Orpinomyces spp.*; *Penicillium spp.*; *Phanerochaete spp.*; *Phlebia spp.*; *Piromyces*

spp.; *Pseudomonas* spp.; *Rhizopus* spp.; *Schizophyllum* spp.; *Trametes* spp.; *Trichoderma* spp., including *T. reesei*, *T. reesei* (*longibrachiatum*) y *T. viride*; y *Zygorhynchus* spp. De forma similar, se prevé que se puede encontrar una cutinasa en bacterias como *Bacillus* spp.; *Cellulomonas* spp.; *Clostridium* spp.; *Myceliophthora* spp.; *Pseudomonas* spp., including *P. mendocina* and *P. putida*; *Thermomonospora* spp.; *Thermomyces* spp., including *T. lanuginose*; *Streptomyces* spp., que incluye *S. olivochromogenes*; y en bacterias ruminales de degradación de fibras como *Fibrobactersuccinogenes*; y en levadura que incluye *Candida* spp., including *C. Antarctica*, *C. rugosa*, *torresii*; *C. parapsilosis*; *C. sake*; *C. zeylanoides*; *Pichia minuta*; *Rhodotorula glutinis*; *R. mucilaginosa*; y *Sporobolomyces holsaticus*.

[0115] Las cutinasas se incorporan preferentemente en la solución enzimática acuosa en una cantidad comprendida entre 0,00001 % y 2 % de proteína de enzima por peso del tejido, preferentemente en una cantidad comprendida entre 0,0001 % y 1 % de proteína de enzima por peso del tejido, más preferentemente en una cantidad comprendida entre 0,005 % y 0,5 % de proteína de enzima por peso del tejido y todavía más preferentemente en una cantidad comprendida entre 0,001 % y 0,5 % de proteína de enzima por peso del tejido.

Celulasas

[0116] También se contempla la utilización de las celulasas en los métodos y composiciones descritos en el presente documento para el biodescudado. Las celulasas se clasifican en una serie de familias de enzimas que incluyen endo- y exo- actividades, así como capacidad de hidrolizar celobiosa. La celulasa utilizada en la práctica de la presente invención se puede derivar de microorganismos que se sabe que son capaces de producir enzimas celulolíticas, como, por ejemplo, especies de *Humicola*, *Thermomyces*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Myceliophthora*, *Phanerochaete*, *Irpex*, *Scytalidium*, *Schizophyllum*, *Penicillium*, *Aspergillus* o *Geotricum*. Conocidas especies capaces de producir enzimas celulolíticas incluyen *Humicola insolens*, *Fusarium oxysporum* o *Trichoderma reesei*. Ejemplos no limitativos de celulasas adecuadas se describen en la patente estadounidense núm. 4.435.307; en la solicitud de patente europea núm. 0 495 257; en la solicitud de patente PCT núm. WO91/17244; y en la solicitud de patente europea núm. EP-A2-271 004.

[0117] Las celulasas también son útiles para el biopulido del textil. El algodón y otras fibras naturales a base de celulosa se pueden mejorar mediante un tratamiento enzimático conocido como "biopulido." Este tratamiento proporciona al tejido una apariencia más suave y brillante. El tratamiento se utiliza para eliminar la "pelusa" (las pequeñas hebras de fibra que sobresalen de la superficie del hilo). En el comercio textil, una bola de pelusa se llama "frisado". Después del biopulido se reducen la pelusa y el frisado. Los otros beneficios de eliminar la pelusa son un tacto más terso y suave y un mayor brillo del color.

[0118] En un modo de realización del proceso de la invención, se puede utilizar la celulasa en una concentración en el intervalo comprendido entre 0,0001 % y 1 % de proteína de enzima por peso del tejido, preferentemente entre 0,0001 % y 0,05 % de proteína de enzima por peso del tejido, especialmente entre 0,0001 y aproximadamente 0.01 % de proteína de enzima por peso del tejido.

[0119] Determinación de la actividad de la celulasa (ECU). La actividad celulósica se puede determinar en unidades de endocelulasa (ECU en su sigla en inglés) midiéndola capacidad de la enzima para reducir la viscosidad de una solución de carboximetil celulosa (CMC). El ensayo ECU cuantifica la cantidad de actividad catalítica presente en la muestra midiendo la capacidad de la muestra para reducir la viscosidad de una solución de carboximetilcelulosa (CMC). El ensayo se lleva a cabo en un viscosímetro de vibración (p. ej., MIVI 3000 de Sofraser, Francia) a 40 °C; pH 7,5; tampón de fosfato 0,1 M; tiempo de 30 minutos utilizando un estándar de enzima relativa para reducir la viscosidad del sustrato CHIC (Hercules 7 LED), concentración enzimática aproximadamente 0,15 ECU/ml. El arco estándar se define a 8200 ECU/g.

[0120] Un ECU es la cantidad de enzima que reduce la viscosidad a la mitad bajo dichas condiciones.

Otras enzimas de biodescudado

[0121] La presente invención no se limita a la utilización de las enzimas mencionadas anteriormente para el biodescudado. Se pueden utilizar otras enzimas en combinación con pectato liasa. Por ejemplo, se pueden utilizar proteasas en la presente invención. Proteasas adecuadas incluyen las de origen animal, vegetal o microbiano, preferentemente las de origen microbiano. La proteasa puede ser una serín proteasa o una metaloproteasa, preferentemente una proteasa microbiana alcalina o una proteasa de tipo tripsina. Ejemplos de proteasas incluyen aminopeptidasas, entre las que se incluyen proil 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); serín endopeptidasas, entre las que se incluyen quimotripsina (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, entre las que se incluyen papaína (3.4.22.2), ficaina (3.4.22.3), quimopapaína (3.4.22.6), asclepaína (3.4.22.7), actinidina (3.4.22.14), caricaína (3.4.22.30) y ananaína (3.4.22.31); aspártico endopeptidasas, entre las que se incluyen pepsina A (3.4.23.1), Aspergillopepsina I (3.4.23.18), Penicilopepsina (3.4.23.20) y Sacaropepsina (3.4.23.25); y metaloendopeptidasas, entre las que se incluye Bacilolisina (3.4.24.28).

[0122] Ejemplos no limitativos de subtilisinas incluyen subtilisina BPN', subtilisina amilosacárfica, subtilisina 168, subtilisina mesentericopeptidasa, subtilisina Carlsberg, subtilisina DY, subtilisina 309, subtilisina 147, termitasa, acualisina, proteasa Bacillus PB92. proteinasa K, proteasa TW7, y proteasa TW3.

[0123] Proteasas disponibles en el comercio incluyen Alcalase™, Savinase™, Primase™, Duralase™, Esperase™, Kannase™, y Durazym™ (Novo Nordisk A/S), Maxatase™, Maxacal™, Maxapem™, Properase™, Purafect™, Purafect OxP™, FN2™ y FN3™ (Genencor International Inc.).

[0124] También son útiles en la presente invención variantes de proteasas, como las descritas en las patentes o solicitudes de patentes publicadas 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, pp. 375-376, Thomas, *et al.*, (1987), *J. Mol. Biol.*, 193, pp. 803-813, Russel, *et al.*, (1987), *Nature*, 328, pp. 496-500, WO 88/08028 (Genex), WO 88/08033 (Amgen), WO 89/06279 (Novo Nordisk A/S), WO 91/00345 (Novo Nordisk A/S), EP 525 610 (Solvay) y WO 94/02618 (Gist-Brocades N.V.), las cuales se incorporan todas en el presente documento como referencias.

[0125] La actividad de las proteasas se puede determinar según se describe en *Methods of Enzymatic Analysis*, tercera edición, 1984, Verlag Chemie, Weinheim, vol. 5.

[0126] En otros modos de realización de la presente invención, se contempla que las lipasas se utilizan para el biodescrudado de textiles con otras enzimas de biodescrudado de la presente invención. Lipasas adecuadas (también denominadas hidrolasas de éster carboxílico) incluyen sin carácter limitativo, las de origen bacteriano o fúngico, entre las que se incluyen triacilglicerol lipasas (3.1.1.3) y Fosfolipasa A₂ (3.1.1.4.). Lipasas para utilizarse en la presente invención incluyen, sin carácter limitativo, lipasas de Humicola (sinónimo Thermomyces), como de *H. lanuginosa* (*T. lanuginosus*) como se describe en las patentes o solicitudes de patentes publicadas EP 258.068 y EP 305.216 o de *H. insolens* como se describe en WO 96/13580; una Pseudomonas lipasa, como de *P. alcaligenes* o *P. pseudoalcaligenes* (EP 218.272), *P. cepacia* (EP 331.376), *P. stutzeri* (GB 1.372.034), *P. fluorescens*, cepa de *Pseudomonas sp.* SD 705 (WO 95/06720 y WO 96/27002). *P. wisconsinensis* (WO 96/12012); una lipasa Bacillus, por ejemplo de *B. subtilis* (Dartois, *et al.*, *Biochem. Biophys. Acta*, 1131:253-360, 1993); *B. stearothermophilus* (JP 64/744992) o *B. pumilus* (WO 91/16422). Otros ejemplos son variantes de lipasas como las descritas en WO 92/05249, WO 94/01541, EP 407 225, EP 260 105, WO 95/35381, WO 96/00292, WO 95/30744, WO 94/25578, WO 95/14783, WO 95/22615, WO 97/04079 y WO 97/07202. Enzimas de lipasa preferidas disponibles en el comercio incluyen Lipolase™ y Lipolase Ultra™, Lipozyme™, Palatase™, Novozym™ 435 y Lecitase™ (todas disponibles en Novo Nordisk A/S). La actividad de la lipasa se puede determinar según se describe en *Methods of Enzymatic Analysis*, tercera Edition, 1984, Verlag Chemie, Weinheim, vol. 4.

[0127] Se entenderá que cualquier enzima que muestre actividad de biodescrudado se puede utilizar en la práctica de la invención. Es decir, se pueden utilizar enzimas de biodescrudado derivadas de otros organismos, o enzimas de biodescrudado derivadas de las enzimas listadas anteriormente en las que se ha añadido, eliminado o sustituido uno o más aminoácidos, incluyendo polipéptidos híbridos, siempre y cuando los polipéptidos resultantes muestren actividad de biodescrudado. Dichas variantes útiles en la práctica de la presente invención se pueden crear utilizando procedimientos de mutagénesis convencionales e identificar utilizando, por ejemplo, técnicas de cribado de alto rendimiento como el procedimiento de cribado mediante una placa de agar. Por ejemplo, se puede medir la actividad de la pectato liasa aplicando una solución de prueba en agujeros de 4 mm perforados en placas de agar (como, por ejemplo, LB agar), que contiene 0,7 % en peso/volumen de poligalacturonato de sodio (Sigma P 1879). A continuación se incuban las placas durante 6 horas a una temperatura concreta (como, por ejemplo, 75°C). Después se dejan en remojo las placas en (i) 1 M CaCl₂ durante 0,5 horas o (ii) 1 % de alquil trimetilamonio Br (MTAB, Sigma M-7635) mezclado durante una hora. Ambos procedimientos provocan la precipitación de poligalacturonato en el agar. La actividad de la pectato liasa se puede detectar por la aparición de zonas transparentes en un fondo de poligalacturonato precipitado. La sensibilidad del ensayo se calibra utilizando disoluciones de una precipitación estándar de pectato liasa.

Agentes de blanqueo

[0128] En la presente invención, se utiliza un sistema de blanqueo enzimático para tratar los textiles de la presente invención. La presente invención no se limita a la utilización de un solo agente de blanqueo. Ejemplos de agentes de blanqueo útiles en la presente invención son, por ejemplo, peróxido de hidrógeno, peróxido de carbamida, peróxido de carbonato sódico, peróxido de sodio, perborato de sodio, hipoclorito de sodio, hipoclorito de calcio y dicloroisocianurato de sodio. Los agentes de biBlanqueo enzimático se pueden utilizar solos o con agentes de blanqueo no enzimático. Ejemplos no limitativos de agentes de biBlanqueo enzimático son peroxidases (Colonna, *et al.*, *Recent biological developemtns in the use of peroxidases*, Tibtech, 17:163-168, 1999) y oxidoreductasas (p. ej., glucosa oxidasas) (Prמוד, *Liquid laundry detergents containing stabilized glucose-glucose oxidative system for hydrogen peroxide generation*, EE.UU. 5288746).

[0129] La utilización de las perhidrolasas de los presentes métodos en combinación con agente(s) de blanqueo químico adicionales como percarbonato de sodio, perborato de sodio, aducto de sulfato de sodio/peróxido de

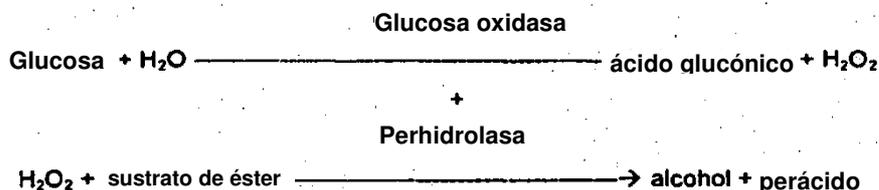
hidrógeno y aducto de cloruro de sodio/peróxido de hidrógeno y/o tinte de blanqueo fotosensible como sal de aluminio o cinc de ftalocianina sulfonada mejora aún más los efectos blanqueantes. En modos de realización adicionales, las perhidrolasas de la presente invención se utilizan en combinación con reforzadores de blanqueo (p. ej., TAED, NOBS).

5 Sistemas de blanqueo enzimático

[0130] Los componentes clave para la producción de perácido mediante perhidrólisis enzimática son enzima, sustrato de éster y peróxido de hidrógeno.

Peróxido de hidrógeno

10 **[0131]** El peróxido de hidrógeno se puede añadir directamente en lotes o generado continuamente "*in situ*". Las enzimas de aciltransferasa también sirven con cualquier otra fuente adecuada de H₂O₂, incluyendo la generada por medios químicos, electroquímicos y/o enzimáticos. Ejemplos de fuentes químicas son los percarbonatos y perboratos, y un ejemplo de una fuente electroquímica es una pila de combustible alimentada por gas hidrógeno y oxígeno, y un ejemplo enzimático incluye producción de H₂O₂ a partir de la reacción de glucosa con glucosa oxidasa. La siguiente ecuación proporciona un ejemplo de un sistema acoplado que sirve en la presente
15 invención.



20 **[0132]** No se pretende que la presente invención se limite a cualquier enzima específica, puesto que ninguna enzima que genera H₂O₂ con un sustrato adecuado sirve en los métodos de la presente invención. Por ejemplo, las lactato oxidasas de la especie *Lactobacillus* que se sabe que crean H₂O₂ a partir de ácido láctico y oxígeno sirven en la presente invención. De hecho, una ventaja de los métodos de la presente invención es que la generación de ácido (p. ej., ácido glucónico en el ejemplo anterior) reduce el pH de una solución básica con respecto al intervalo de pH en el que el perácido es más efectivo para blanquear (es decir, en o por debajo del pKa). Otras enzimas (p. ej., alcohol oxidasa, etilenglicol oxidasa, glicerol oxidasa, aminoácido oxidasa, etc.) que pueden generar peróxido de hidrógeno también sirven con sustratos de éster en combinación con las enzimas de
25 perhidrolasa de la presente invención para generar perácidos. En algunos modos de realización preferidos, los sustratos de éster se seleccionan de entre uno o más de los siguientes ácidos: ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido nonanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico y ácido oleico. De esta manera, según se describe en el presente documento, la presente invención proporciona ventajas claras sobre los métodos y composiciones utilizados actualmente para el blanqueo de textiles.

Aciltransferasa

[0133] Acetiltransferasas que sirven en el presente documento están descritas en WO 05/056782.

35 **[0134]** La utilización de enzimas obtenidas a partir de microorganismos es antigua. De hecho, hay numerosos biocatalizadores conocidos en la técnica. Por ejemplo, la patente estadounidense núm. 5.240.835 proporciona una descripción de la actividad transacilasa obtenida a partir de *C. Oxydans* y su producción. Además, la patente estadounidense núm. 3.823.070 proporciona una descripción de un *Corynebacterium* que produce ciertos ácidos grasos a partir de una n-parafina. La patente estadounidense núm. 4.594.324 proporciona una descripción de un *Methylcoccus capsulatus* que oxida alquenos. En la técnica se conocen biocatalizadores adicionales (véase, por ejemplo, la patente estadounidense núms. 4.008.125 y 4.415.657). EP 0 280 232 describe la utilización de una
40 enzima *C. Oxydans* en una reacción entre un diol y un éster de ácido acético para producir monoacetato. Referencias adicionales describen la utilización de una enzima *C. Oxydans* para hacer ácido hidroxicarboxílico quiral a partir de un diol proquiral. Se proporcionan detalles adicionales con respecto a la actividad de la transacilasa *C. Oxydans*, así como el cultivo de *C. Oxydans*, preparación y purificación de la enzima en la patente estadounidense núm. 5.240.835. De esta manera, se conocieron las capacidades de transesterificación de esta enzima, utilizando en su mayoría ésteres de ácido acético. No obstante, la determinación de que esta enzima pudiera llevar a cabo reacción de perhidrólisis fue bastante inesperada. Fue aún más sorprendente que estas enzimas mostraran eficiencias muy elevadas en reacciones de perhidrólisis. Por ejemplo, en presencia de tributirina y agua, la enzima actúa para producir ácido butírico, mientras que en presencia de tributirina, agua y peróxido de hidrógeno, la enzima actúa para producir ácido peracético en su mayoría y muy poco ácido butírico.
50 Esta relación elevada de perhidrólisis a hidrólisis es una propiedad única mostrada por la clase de enzimas

perhidrolasa de la presente invención y es una característica única que no muestran las lipasas, cutinasas ni esterases descritas previamente.

5 **[0135]** La perhidrolasa de la presente invención es activa en un intervalo amplio de pH y temperatura y acepta un intervalo amplio de sustratos para transferencia de acilo. Los aceptores incluyen agua (hidrólisis), peróxido de hidrógeno (perhidrólisis) y alcoholes (transferencia de acilo clásica). Para las mediciones de perhidrólisis, la enzima se incuba en un tampón de elección a una temperatura especificada con un sustrato de éster en presencia de peróxido de hidrógeno. Sustratos típicos utilizados para medir la perhidrólisis incluyen ésteres como acetato de etilo, triacetina, tributirina y otros. Además, la enzima natural hidroliza nitrofenilésteres de ácidos de cadena corta. Estos últimos son sustratos prácticos para medir la concentración enzimática. El ácido acético y 10 perácido se puede medir mediante los ensayos descritos en el presente documento. También se describe la hidrólisis de nitrofeniléster.

[0136] Aunque el ejemplo principal utilizado durante el desarrollo de la presente invención es la perhidrolasa *M. Smegmatis*, en la presente invención sirve cualquier perhidrolasa obtenida de cualquier fuente que convierta el éster en mayormente perácidos en presencia de peróxido de hidrógeno.

15 **[0137]** En un modo de realización del proceso, se puede utilizar la perhidrolasa en una concentración en líquido de lavado en el intervalo comprendido entre 0,0001 y 100 ppm; preferentemente entre 0,0001 y 50 ppm; más preferentemente entre 0,0001 y 25 ppm; preferentemente entre 0,0001 y 10 ppm. En otro modo de realización del proceso, se puede utilizar la perhidrolasa en una concentración de: 0,0001 a 1 % por gramo de tejido; más preferentemente 0,0001 a 0,1 % por gramo de tejido, o 0,0001 a 0,01 % por gramo de tejido.

20 Sustratos

[0138] En algunos modos de realización preferidos de la presente invención, los ésteres que comprenden ácidos carboxílicos alifáticos y/o aromáticos y alcoholes se utilizan con las enzimas de perhidrolasa en las presentes composiciones. En algunos modos de realización preferidos, los sustratos de éster se seleccionan de entre uno o más de los siguientes: ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido nonanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico y ácido oleico. De esta manera, en algunos modos de realización preferidos, se proporcionan composiciones que comprenden al menos una perhidrolasa, al menos una fuente de peróxido de hidrógeno, y al menos un ácido de éster. En modos de realización adicionales, triacetina, tributirina y otros ésteres sirven como donantes de acilo para la formación de perácido.

30 Condiciones de proceso

[0139] La manera en la que la se pone en contacto la solución acuosa que contiene la(s) enzima(s) y el sistema de blanqueo con el material textil dependerá de si el régimen de procesamiento es continuo, semicontinuo, pad-batch discontinuo, batch (o flujo continuo). Por ejemplo, para un procesamiento pad-batch continuo o discontinuo la solución enzimática acuosa se contiene preferentemente en un baño saturador y se aplica de forma 35 continuada al material textil según viaja por el baño, proceso durante el cual el material textil normalmente absorbe el líquido de procesamiento en una cantidad de, por ejemplo, 0,5 a 1,5 veces su peso. En las operaciones batch, el tejido se expone a la solución enzimática durante un periodo que comprende entre aproximadamente 2 minutos y 24 horas con una relación líquido/tejido de 5:1-50:1. Estos son parámetros generales. En algunos modos de realización, se puede acortar el tiempo utilizando soluciones más concentradas de las enzimas y otros compuestos de la presente invención. Un experto en la materia es capaz de determinar los parámetros más adecuados para sus necesidades particulares.

[0140] Los métodos descritos en el presente documento se pueden llevar a cabo a una temperatura inferior que las técnicas tradicionales de descrudado, desaprestado y blanqueo. En un modo de realización, los métodos se llevan a cabo a temperaturas inferiores a 95°C, preferentemente entre aproximadamente 15°C y 95°C. En un modo de realización más preferido, los métodos de la presente invención se llevan a cabo entre 45 aproximadamente 24°C y 80°C. En el modo de realización preferido, los métodos de la presente invención se llevan a cabo entre aproximadamente 40°C y aproximadamente 60°C con resultados satisfactorios.

[0141] Los métodos de la presente invención se pueden llevar a cabo con un intervalo de pH más cercano al neutro que las técnicas tradicionales de desaprestado, descrudado o blanqueo. Aunque los presentes métodos sirven con un pH comprendido entre 5 y 11, se prefiere un pH inferior a 9. En un modo de realización, el pH con 50 que se llevan a cabo los métodos de la presente invención está comprendido entre aproximadamente 6 y 9, y preferentemente entre 6 y 8. En un modo de realización más preferido, el pH con que se llevan a cabo los métodos de la presente invención está comprendido entre aproximadamente 7,5 y 8,5. En un modo de realización aún más preferido, el pH es aproximadamente 8,0.

55 **[0142]** Un experto habitual en la materia reconocerá que las condiciones del proceso a utilizar en la realización de la presente invención se pueden seleccionar de manera que coincida un equipo concreto o un tipo concreto de proceso que es deseable utilizar. Por ejemplo, cuando el textil que necesita tratamiento preferentemente

permanece en contacto con la solución de tratamiento a una temperatura comprendida entre aproximadamente 15°C y aproximadamente 90°C, preferentemente entre aproximadamente 24°C y aproximadamente 80°C, más preferentemente entre aproximadamente 40°C y aproximadamente 60°C y durante un periodo de tiempo adecuado para tratar el textil que comprende al menos entre aproximadamente 2 minutos y 24 horas, más preferentemente entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 12 horas, preferentemente entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 6 horas y siendo lo más preferente entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 90 minutos. Por supuesto, un experto habitual en la materia reconocerá que las condiciones de reacción tales como tiempo y temperatura variarán dependiendo del equipo y/o proceso empleado y los tejidos tratados.

5
10
15
20
[0143] Ejemplos preferidos de tipos de proceso a utilizar en relación a la presente invención incluyen, pero sin carácter limitativo, los tipos Jet, Jigger/Winch, Pad-Roll y Pad-Steam, e intervalo de blanqueo continuo. El proceso combinado de la invención se puede llevar a cabo mediante un proceso batch, semicontinuo o continuo utilizando vapor o los principios del blanqueo en frío. Como ejemplo, el proceso puede comprender las siguientes etapas: a) impregnar el tejido en un baño de descrudado y blanqueo como se describe en el presente documento y después escurrir el exceso de líquido para mantener la cantidad de líquido necesaria para que se lleve a cabo la reacción (normalmente entre 60 % y 120 % del peso del tejido en seco), (b) someter el tejido impregnado a vapor para poner el tejido a la temperatura de reacción deseada, generalmente entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 80°C y (c) sostener el tejido enrollándolo o plegándolo en un J-Box, U-Box, máquina de alforbrado o similar durante un periodo de tiempo suficiente para permitir que se realice el descrudado y blanqueo.

[0144] Como se menciona en otra parte del presente documento, el desaprestado puede ser un resultado deseado. Por lo tanto, para ciertos tipos de tejido puede ser beneficioso y/o necesario someter el tejido a un tratamiento de desaprestado para obtener un producto final de una calidad deseada. En dichos casos, se puede utilizar la presente invención como un proceso combinado de desaprestado, blanqueo y descrudado.

25
30
[0145] El método de la presente invención incluye proporcionar un componente textil no acabado en la solución de tratamiento como se describe. El componente textil puede comprender fibras, hilos, telas que incluyen tejidos, tejidos de punto, prendas y no-tejidos. Por no acabado se entiende que el componente textil es un material que no ha sido desaprestado, descrudado, blanqueado, tintado, estampado o que no se le ha proporcionado otro tipo de etapa de acabado como planchado duradero. Por supuesto, un experto habitual en la materia reconocerá que los textiles de la presente invención son los que no han pasado por una prenda u otro proceso de fabricación que implica cortar y coser el material.

35
[0146] Se puede emplear el presente proceso con cualquier material textil, entre los que se incluyen celulósicos, como algodón, lino, ramio, cáñamo, rayón, lyocell, acetato de celulosa y triacetato de celulosa, y material sintético, que incluye, pero sin carácter limitativo, poliéster, nailon, elastano, licra, acrílicos y otras mezclas diferentes de materiales naturales y sintéticos. Para los propósitos de la presente invención, los materiales naturales pueden incluir fibras de proteínas como lana, seda, cachemir, así como celulósicos como se describe en el presente documento.

40
[0147] Se puede emplear el presente proceso para blanquear sin daño apreciable en las fibras o tejidos varios tipos de textiles sintéticos y sus mezclas, incluyendo, pero sin carácter limitativo, poliéster, rayón, acetato, nailon, algodón/poliéster, algodón/licra, etc., que pueden ser susceptibles a hidrólisis alcalina y degradación.

45
[0148] El método de la presente invención puede incluir las etapas adicionales de chamuscado y mercerizado después de la etapa de tratamiento. Aunque el desaprestado se puede emplear en una etapa separada, en modos de realización preferidos la etapa de desaprestado está incluida en el tratamiento en una sola etapa de la presente invención mediante la inclusión de una(s) enzima(s) de desaprestado en el baño de tratamiento combinando de esta manera el blanqueo, desaprestado y descrudado en una sola etapa.

50
[0149] Por supuesto el proceso de la presente invención incluye en la aplicación preferida una etapa o una serie de etapas de lavado a continuación de los métodos de tratamiento en una sola etapa proporcionados en el presente documento. El lavado de los textiles tratados es muy conocido y está dentro del nivel de habilidad del experto. Las etapas de lavado estarán presentes normalmente después de cada etapa de desaprestado, descrudado y blanqueo cuando estén presentes, así como después de la etapa de tratamiento de la presente invención. Además, las etapas de tratamiento, independientemente de su orden y/o combinaciones, pueden incluir en modos de realización preferidos una etapa de impregnación o humectación previa para asegurar una humectabilidad regular o uniforme en el textil.

55
[0150] El método de la presente invención proporciona humectabilidad superior a los componentes textiles tratados mediante el método. La humectabilidad de los textiles es importante para cualquier tintura y acabado de los textiles. La humectabilidad proporciona una penetración superior del tinte o de los agentes de acabado en el textil y un resultado de tintura y/o acabado superior. En consecuencia, la humectabilidad del textil es una indicación de la efectividad del proceso de tratamiento. Mayor humectabilidad significa un proceso de tratamiento más efectivo y superior, es decir, un menor periodo de tiempo para la humectación. El blanqueo con peróxido

textil convencional ha proporcionado perfiles de humectabilidad aceptables sólo a temperaturas por encima de 95°C. Mientras que el blanqueo a temperaturas más bajas (70°C) resulta en perfiles de humectabilidad superiores a aproximadamente 40 %. No obstante, el proceso de la presente invención proporciona tejidos que presentan un aumento en el índice de humectabilidad de menos de aproximadamente 10 %, preferentemente menos de aproximadamente 5 % donde el índice de humectabilidad se define como:

$$\frac{[(\text{humectabilidad a } 70^\circ\text{C}) - (\text{humectabilidad a } 95^\circ\text{C})]}{(\text{humectabilidad a } 95^\circ)}$$

en tanto por ciento. Se puede utilizar un test alternativo para la absorbancia, por ejemplo, el método de prueba AATCC 79-1995, para comprobar rápidamente la humectabilidad después del tratamiento.

[0151] Para propósitos de la presente invención, el daño en las fibras basado en la fluidez se mide mediante el método de prueba AATCC 82-1996, que conlleva la dispersión de las fibras en cuprietilendiamina (CP). Se corta y se disuelve en CP una muestra representativa de fibras de 1,5 mm aproximadamente como se define en la ecuación $CP=120.\text{por.peso de la muestra.por.}0,98$ en una botella de espécimen con varias bolas de cristal, situadas bajo nitrógeno y disueltas mediante agitación durante aproximadamente 2 horas. Se añade CP adicional como se define en la ecuación $CP=80.\text{por.peso de la muestra.por.}0,98$ y agitación adicional bajo nitrógeno durante tres horas. La solución se coloca bajo agitación constante para prevenir la separación de la dispersión. Se mide entonces la solución en un viscosímetro calibrado Oswald Canon Fenske a una temperatura de baño constante de 25°C para determinar el tiempo de eflujo. La fluidez se calcula entonces con la fórmula $F=100/ctd$, donde c =constante del viscosímetro, t =tiempo de eflujo y d =densidad de la solución 1.052.

Componentes auxiliares

[0152] Las soluciones de tratamiento de la presente invención pueden incluir también diferentes componentes auxiliares, también denominados en el presente documento sustancias químicas auxiliares. Dichos componentes incluyen, pero sin carácter limitativo, agentes secuestrantes o quelantes, agentes de humectabilidad, agentes emulsionantes, agentes de control del pH (p. ej., tampones), catalizadores de blanqueo, agentes estabilizadores, agentes dispersantes, agente antiespumantes, detergentes y mezclas de los mismos. Se entiende que dichos componentes auxiliares se añaden a las enzimas de la presente invención, peróxido de hidrógeno y/o fuente de peróxido de hidrógeno y material que comprende un radical de éster. Los agentes de humectabilidad se seleccionan normalmente de entre tensioactivos y, en concreto, tensioactivos no iónicos. Cuando los agentes de humectabilidad empleados se incluyen normalmente a niveles comprendidos entre aproximadamente 0,1 g/L y aproximadamente 20 g/L, más preferentemente entre aproximadamente 0,5 g/L y aproximadamente 10 g/L, y más preferentemente entre 0,5 g/L y aproximadamente 5 g/L del baño. Los agentes estabilizadores se emplean por una variedad de razones que incluyen la capacidad de tampón, secuestro, dispersión y además mejora del rendimiento de los tensioactivos. Los agentes estabilizadores pueden ralentizar la velocidad de descomposición de peróxido y se combinan con o neutralizan las impurezas metálicas que pueden catalizar la descomposición de peróxido e inducir daños en las fibras. Los agentes estabilizadores son muy conocidos con ambas especies inorgánicas y orgánicas muy conocidas y silicatos y organofosforados ganando la aceptación más amplia y cuando están presentes se emplean a niveles que oscilan entre aproximadamente 0,01 g/L y aproximadamente 30 g/L, más preferentemente entre aproximadamente 0,01 g/L y aproximadamente 10 g/L y siendo lo más preferente entre aproximadamente 0,01 g/L y aproximadamente 5 g/L del baño.

Tensioactivos

[0153] Los tensioactivos adecuados para utilizarse en la práctica de la presente invención incluyen, sin carácter limitativo, tensioactivos no iónicos (véase, por ejemplo, la patente estadounidense núm. 4.565.647); aniónicos; catiónicos; y zwitteriónicos (véase, por ejemplo, la patente estadounidense núm. 3.929.678); que están presentes normalmente a una concentración comprendida entre aproximadamente 0,2 % y aproximadamente 15 % en peso, preferentemente entre aproximadamente 1 % y aproximadamente 10 % en peso. Los tensioactivos aniónicos incluyen, sin carácter limitativo, sulfonato de alquilbenceno lineal, α -olefinsulfonato, sulfato de alquilo (sulfato de alcohol graso), etoxisulfato de alcohol, alcanosulfonato secundario, alfa-sulfo éster metílico de ácido graso, ácido alquil o ácido alquencil succínico y jabón. Los tensioactivos no iónicos incluyen, sin carácter limitativo, etoxilato de alcohol, etoxilato de nonilfenol, alquilpoliglicósido, óxido de alquildimetilamina, monoetanolamida de ácido graso etoxilado, monoetanolamida de ácido graso, amida de ácido graso polihidroxi alquilo, y N-acil N-alquil derivados de glucosamina ("glucamidas"). Un tensioactivo preferido para su utilización en modos de realización de la presente invención es un tensioactivo no iónico o una mezcla no iónica y aniónica.

Agentes quelantes

[0154] También se pueden emplear agentes quelantes y se pueden seleccionar del grupo consistente en aminocarboxilatos, aminofosfonatos, agentes quelantes aromáticos polifuncionalmente sustituidos y mezclas de los mismos, todos como se define más adelante en el texto.

[0155] Los aminocarboxilatos útiles como agentes quelantes opcionales incluyen etilendiaminotetraacetatos, N-hidroxietilendiaminotetraacetatos, nitrilotriacetatos, etilendiaminotetrapropionatos, trietilentetraaminohexacetatos, fosfonatos que no contienen grupos alquilo o alqueno con más de aproximadamente 6 átomos de carbono.

5 [0156] Los agente quelantes aromáticos polifuncionalmente sustituidos también son útiles en las composiciones del presente documento. Véase la patente estadounidense núm. 3.812.044, publicada el 21 de mayo de 1974, de Connor *et al.* Compuestos preferidos de este tipo en forma ácida son dihidroxidisulfobencenos tales como 1,2-dihidroxi-3,5- disulfobenzodietilendiaminopentaacetatos, y etanoldiglicinas, metal alcalino, amonio y sales de amonio sustituidas del mismo y mezclas de los mismos.

10 [0157] Los aminofosfonatos también son adecuados para su utilización como agentes quelantes en las composiciones de la invención cuando se permiten al menos niveles bajos de fósforo total.

[0158] Un quelante biodegradable preferido para su utilización en la presente invención es el disuccinato de etilendiamina (conocido como "EDDS" por su sigla en inglés), especialmente el isómero [S,S] como se describe en la patente estadounidense núm. 4.704.233, del 3 de noviembre de 1987, de Hartman y Perkins.

15 [0159] Cuando están presentes, los agentes quelantes se utilizan a niveles que comprenden entre aproximadamente 0,01 g/L y aproximadamente 10 g/L, más preferentemente entre aproximadamente 0,1 g/L y aproximadamente 5 g/L y siendo lo más preferente entre aproximadamente 0,2 g/L y aproximadamente 2 g/L.

Aplicaciones industriales de la invención

20 [0160] La presente invención tiene muchas aplicaciones prácticas en la industria, como se contempla en el presente documento, y se pretende que esta descripción sea a modo de ejemplo y no inclusiva.

[0161] En un modo de realización, la presente invención ha contemplado la utilización en la industria textil, principalmente en el procesamiento de fibras, hilos, tejidos, prendas y no tejidos. Las aplicaciones principales incluyen: el procesamiento enzimático de textiles en una sola etapa que incluye el descrudado y blanqueo de textiles. El desaprestado de los textiles también se puede llevar a cabo simultáneamente con el descrudado, el
25 blanqueo, y el descrudado y blanqueo.

[0162] La dosis dada (es decir, los niveles) de los componentes enzimáticos en la composición depende de la actividad específica, las condiciones del proceso y el resultado deseado. Un experto habitual en la materia puede determinar los niveles de dosificación.

30 [0163] Las composiciones y métodos descritos en el presente documento proporcionan tratamientos de textiles efectivos con pérdida de resistencia reducida en comparación con los tratamientos tradicionales a base de sustancias químicas, es decir, descrudado con álcali, blanqueo, etc. Sin estar limitado por la teoría, se cree que las composiciones y métodos dañan en menor medida las fibras y, por lo tanto, reducen la pérdida de resistencia en comparación a los tratamientos químicos convencionales. La pérdida de resistencia se puede medir con técnicas muy conocidas en la técnica tales como ASTM D 5034 (prueba de agarre), ASTM D 5035 (prueba de rasgado), ASTM D 3787 (prueba de rotura), y/o ASTM D 3786 (resistencia a la rotura hidráulica de géneros de punto y no tejidos).
35

[0164] En la descripción experimental que sigue, se aplican las siguientes abreviaciones: eq (equivalentes); M (Molar); μM (micromolar); N (Normal); mol (moles); mmol (milimoles); μmol (micromoles); nmol (nanomoles); g (gramos); mg (miligramos); kg (kilogramos); μg (microgramos); L (litros); ml (mililitros); μl (microlitros); cm (centímetros); mm (milímetros); μm (micrometros); nm (nanometros); $^{\circ}\text{C}$ (grados Centígrados); h (horas); min (minutos); seg (segundos); mseg (milisegundos); Ci (Curios) mCi (milicurios); μCi (microcurios); CCF (cromatografía en capa fina); Ts (tosil); Bn (benzil); Ph (fenil); Ms (mesil); Et (etil), Me (metil).
40

EJEMPLOS

45 [0165] La presente invención se describe con más detalle en los siguientes ejemplos que no pretenden en ningún modo limitar el alcance de la invención tal como se reivindica. Las Figuras adjuntas se han de considerar como partes integrales de la memoria y descripción de la invención.

[0166] Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar la invención reivindicada.

Ejemplo 1

Pretratamiento enzimático de algodón en una sola etapa

50 [0167] Este ejemplo ilustra un modo de realización para el pretratamiento enzimático en una sola etapa (desaprestado, descrudado y blanqueo) de fibras y tejidos de algodón y que contienen algodón.

[0168] Las pruebas se llevaron a cabo en tejido crudo satén de algodón cardado militar de Testfabrics (West Pittiston, PA), estilo #428R y tejido satén de algodón cardado militar, desaprestado pero no blanqueado de Testfabrics, estilo #428U.

[0169] Las enzimas utilizadas fueron:

- 5 Variante de acetiltransferasa S51A98T (de Genencor; WO 05/056782) a 1 ppm
 Purastar OxAm 4000E (α -amilasa oxidativamente estable de Genencor) a 1 g/L
 Optisize 160 (α -amilasa convencional de Genencor) a 2 mill
 Bioprep 3000L (pectato liasa de Novozymes) a 6 ml/L
 10 Cutinasa (de Genencor; cutinasa *P. mendocina* descrita en la patente estadounidense núm. 5.512.203 o una variante descrita en WO 03/76580 que tiene las siguiente mutaciones: F180P/S205G) a 4 ppm

[0170] Otros compuesto utilizados fueron:

- Tensioactivo: Triton X-100 a 0,25 g/L
 Diacetato de propilenglicol a 3000 ppm
 15 Peróxido de hidrógeno a 2000 ppm
 0,01 % de tinte rojo de Rutenio con pH 6,8, solución de tampón de fosfato 50 mM solución de yodo (la solución de yodo se preparó disolviendo 10 g de yoduro de potasio en 100 mL de agua desionizada seguido de la adición de 0,65 g de yodo y agitación de la solución hasta su completa disolución. A continuación llevar la solución a 800 mL con agua desionizada y después a 1 L con etanol.)

- 20 [0171] Para comprobar los efectos del desaprestado, descrudado y blanqueo combinados, se realizaron los experimentos mostrados en la Tabla 1 utilizando tres muestras de tejidos crudos satén de algodón cardado militar de 10,16 cm x 7,62 cm (4 pulgadas x 3 pulgadas) (estilo #428R) de Testfabrics. Todos los experimentos de agotamiento (1-19) se realizaron en un laundrómetro a 50 °C con pH 8 durante 60 minutos. Los experimentos pad-batch se realizaron después de empapar el tejido en la solución de reacción durante 5 minutos, pasando por rodillos y después incubarlo a temperatura ambiente (24 °C) durante 24 horas. Después de los tratamientos, 25 todas las muestras de tejidos se enjuagaron minuciosamente con agua entrante y después se secaron al aire antes de la evaluación. Se utilizaron satenes cardados militar de Testfabrics blanqueados comercialmente como controles positivos para todos los tratamientos.

TABLA 1

No.	Tratamientos
1	Tampón
2	Tampón + Tensioactivo
3	Tampón + Tensioactivo + PGDA
4	Tampón + Tensioactivo + PGDA + H ₂ O ₂
5	Tampón + Tensioactivo + OxAm
6	Tampón + Tensioactivo + BP 3000L
7	Tampón + Tensioactivo + Cutinasa
8	Tampón + Tensioactivo + PGDA + H ₂ O ₂ + BP 3000L
9	Tampón + Tensioactivo + PGDA + H ₂ O ₂ + Cutinasa
10	Tampón + Tensioactivo + PGDA + H ₂ O ₂ + AcT
11	Tampón + Tensioactivo + PGDA + H ₂ O ₂ + AcT + OxAm + BP 3000L + Cutinasa
12	Tampón + PDGA + H ₂ O ₂ + AcT
13	Tampón + PDGA + H ₂ O ₂ + OxAm
14	Tampón + PDGA + H ₂ O ₂ + BP 3000L
15	Tampón + PDGA + H ₂ O ₂ + Cutinasa
16	Tampón + PDGA + H ₂ O ₂ + AcT + OxAm + BP 3000L + Cutinasa
17	Tampón + PDGA + H ₂ O ₂
18	Tampón + Tensioactivo + PGDA + H ₂ O ₂ (Pad Batch)
19	Tampón + Tensioactivo + PGDA + H ₂ O ₂ + AcT + OS 160 + BP 3000L (Pad Batch)
428R	Tejido en crudo
428U	Desaprestado de Testfabrics
428	Blanqueo comercial de Testfabrics

[0172] Los efectos de blanqueo se cuantificaron midiendo valores CIE L *, que indican blancura, utilizando un espectrofotómetro de Minolta, modelo número CR-2000. Un CIE L * superior indica blanqueo mejorado.

5 **[0173]** Se midieron los efectos de desaprestado con pruebas de yodo para medir el almidón residual que quedaba en el tejido después de cada tratamiento. Se cortó un disco de tejido de cinco 0,95 cm (3/8 pulgadas) de cada muestra y se colocó en 2 ml de la solución de yodo por disco durante aproximadamente un minuto. Los discos se enjuagaron a continuación rápidamente con agua fría y se secaron con papel de filtro. Se midieron inmediatamente los valores CIE L * de los discos con un reflectómetro. Valores superiores de CIE L * indican una menor cantidad de almidón restante en el tejido e indicaron una mejor realización del desaprestado.

10 **[0174]** Los efectos de descrudado se midieron mediante la prueba de caída de agua. Coloración con rojo de Rutenio y evaluación visual de motas. La prueba de caída de agua se llevó a cabo dejando caer 10 µl de agua en una superficie de tejido tratado y a continuación se midió el tiempo que tardó el tejido en absorber el agua. Además, todos los tejidos tratados se tiñeron con 0,01 % de solución colorante de rojo de Rutenio durante 5 minutos para cuantificar la cantidad de pectina que queda en el tejido después de los tratamientos. Después, los tejidos tintados se enjuagaron minuciosamente y se secaron al aire antes de medir los valores CIE L *. El valor CIE L * inferior indica una unión de pectina superior con respecto a una realización de descrudado inferior. La eliminación de motas se cuantificó mediante unidades de puntuación del panel (PSU en su sigla en inglés) donde 0 indica ninguna mota y 5 indica una cantidad elevada de motas. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

TABLA 2

	CIE L* Blanqueo	Seg caída de agua Desaprestado	CIE L* Desaprestado	CIE L* Descrudado	PSU Descrudado (Eliminación de motas)
1	85,5	8	48,4	33,0	5
2	86,1	1	51,0	35,3	5
3	85,9	1	46,6	31,4	5
4	89,1	1	49,7	31,2	4
5	86,4	1	52,8	45,6	5
6	86,2	1	55,6	34,4	5
7	86,0	1	47,6	33,6	5
8	89,4	1	54,4	33,0	3
9	89,5	1	49,9	31,4	3
10	91,8	1	47,5	35,3	1
11	91,6	1	55,5	45,1	1
12	89,1	24	48,2	28,8	4
13	91,8	16	49,5	29,0	2
14	89,8	1	48,7	41,9	4
15	89,4	18	54,9	27,7	4
16	89,5	11	48,4	28,3	4
17	91,4	1	53,3	40,5	1
18	87,7	1	47,4	28,4	4
19	90,1	1	54,4	36,0	1
428R	86,1	300+	51,0	30,4	5
428U	NA	NA	NA	49,8	NA
428	94,3	1	62,4	77,6	0

20 **[0175]** Como se muestra en la Tabla 2 y en las Figuras 1 – 4, los tejidos satén de algodón cardado militar se trataron simultáneamente con aciltransferasa, a-amilasa, pectato liasa en presencia de peróxido de hidrógeno y diacetato de propilenglicol; cantidades significativas mostradas de resultados de desaprestado, descrudado (con eliminación de motas) y blanqueo.

Ejemplo 2

BLANQUEO DE ALGODÓN

[0176] En este Ejemplo, se describen los experimentos para evaluar la utilización de la perhidrolasa de la presente invención para el blanqueo de tejidos de algodón.

5 [0177] En estos experimentos, se trataron seis muestras de algodón por recipiente a 55°C durante 60 minutos en un launderómetro. Los sustratos empleados en estos experimentos fueron: 3 7,62 cm x 7,62 cm (3"x3") 428U y 3 7,62 x 7,67 cm (3"x3") 400U por experimentos. Se probaron dos tipos diferentes de tejidos de algodón 100 % sin blanquear de Testfabrics (estilo 428U (satén de algodón cardado militar desaprestado pero no blanqueado); y estilo 400U (tela de algodón estampada desaprestada pero no blanqueada). La relación de líquido fue de 26 a 1 (-7,7 g tejido/- 200 ml volumen líquido). Se probó la enzima de perhidrolasa a 12,7 mgP/ml, con acetato de etilo (3 % (v/v)), peróxido de hidrógeno (1500 ppm), y Triton X-100 (0,001 %), en un tampón de fosfato de sodio (100 mM) para pH 7 y pH 8; así como en un tampón de carbonato de sodio (100 mM), para pH 9 y pH 10.

[0178] Se cuantificaron los efectos blanqueantes con diferencia total de color tomando 4 valores CIE L*a*b* por cada muestra antes y después de los tratamientos utilizando un Chroma Meter CR-200 (Minolta), y se calculó la diferencia total de color de las muestras después de los tratamientos conforme a lo siguiente:

15
$$\text{Diferencia total de color } (\Delta E) = \sqrt{(\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)}$$

(donde ΔL, Δa, Δb son diferencias en los valores CIE L*. CIE a*, y CIE b* respectivamente antes y después de los tratamientos).

20 [0179] Valores superiores de AE indican efectos de blanqueo mayores. Los resultados (Véase, la Figura 5) indicaron que la perhidrolasa mostró efectos de blanqueo significativamente mejorados en ambos tipos de tejidos de algodón 100 % con pH 7 y pH 8 bajo las condiciones probadas.

[0180] También se observó que cantidades elevadas de motas (es decir, manchas pigmentadas) desaparecían en los sustratos de enzima tratados.

Ejemplo 3

25 BLANQUEO DE LINO

[0181] En este ejemplo, se describen los experimentos llevados a cabo para evaluar la capacidad de blanqueo del lino de la perhidrolasa de la presente invención. Para probar las muestras de lino se utilizaron los mismos métodos y condiciones que se describen anteriormente para probar el algodón (en el Ejemplo 2). Según se indica anteriormente, los experimentos se llevaron a cabo en un launderómetro utilizando un tejido de lino (tela para trajes de lino. Estilo L-53; Testfabrics).

30 [0182] En estos experimentos, se trataron muestras de lino de 3 10,16 cm x 10,16 cm (4"x4") con 12,7 mgP/ml de la enzima de perhidrolasa con acetato de etilo (3 % v/v), peróxido de hidrógeno (1200 ppm), y Triton X-100 (0,001 %), en un tampón de fosfato de sodio (100 mM) para pH 7 y pH 8. Los efectos de blanqueo se calcularon según se describe anteriormente en el Ejemplo 2. La figura 6 proporciona un gráfico que muestra los efectos de blanqueo de la perhidrolasa de la presente invención probado con pH 7 y pH 8 en lino.

[0183] Se entiende que los ejemplos y modos de realización descritos en el presente documentos son únicamente para fines ilustrativos y que expertos en la materia sugerirán diferentes modificaciones o cambios teniendo en cuenta la presente invención.

40

Reivindicaciones

1. Un método para el tratamiento de un textil que comprende:

Poner en contacto dicho textil con una composición de procesamiento de textil en una etapa que comprende una o más enzimas de biodescudado y uno o más sistemas de blanqueo enzimático, durante un periodo de tiempo y bajo condiciones suficientes para permitir el descudado y el blanqueo del textil, donde dicha una o más enzimas de biodescudado es pectato liasa o es una combinación de enzimas que incluye pectato liasa.
2. Método de la reivindicación 1, donde la composición de tratamiento comprende además una o más enzimas de desaprestado.
3. Método de la reivindicación 1, donde el sistema de blanqueo enzimático comprende una aciltransferasa, una fuente de éster y una fuente de peróxido de hidrógeno.
4. Método de la reivindicación 3, donde la fuente de peróxido de hidrógeno comprende una oxidasa que genera peróxido de hidrógeno y un sustrato adecuado.
5. Método de la reivindicación 4, donde la oxidasa es una carbohidrato oxidasa.
6. Método de la reivindicación 1, donde dicha enzima de biodescudado es una combinación de pectato liasa y otras enzimas seleccionadas del grupo consistente en cutinasas, celulasas, proteasas, lipasas y hemicelulasas.
7. Método de la reivindicación 2, donde dicha enzima de desaprestado se seleccionada de un grupo consistente en amilasas, celulasas y mananasas.
8. Método de la reivindicación 7, donde dicha enzima de desaprestado es a-amilasa.
9. Método de la reivindicación 1, donde la composición de procesamiento comprende además componentes auxiliares seleccionados de entre tensioactivos, emulsionantes, agentes quelantes, dispersantes y/o estabilizadores.
10. Método de la reivindicación 9, donde dicho tensioactivo es un tensioactivo no iónico.
11. Método de la reivindicación 1, donde dicho sistema de blanqueo enzimático genera un agente de blanqueo, además donde dicho agente de blanqueo es ácido peracético generado mediante la perhidrolización de grupos éster de acetato en presencia de peróxido de hidrógeno y el cual se cataliza mediante aciltransferasa.
12. Método de la reivindicación 1, donde la composición comprende además un agente de blanqueo químico seleccionado de entre blanqueadores oxidantes, peróxido de sodio, hipoclorito de sodio, hipoclorito de calcio y dicloroisocianurato de sodio o combinaciones de los mismos.
13. Método de la reivindicación 1, donde dicho textil se selecciona del grupo consistente en textiles celulósicos, que contienen celulosa y no celulósicos.
14. Método de la reivindicación 13, donde dichos textiles celulósicos o que contienen celulosa comprenden algodón.
15. Método de la reivindicación 1, donde dichas condiciones suficientes para permitir el descudado y el blanqueo de dicho textil son una temperatura comprendida entre aproximadamente 15°C y 95°C y un pH comprendido entre aproximadamente 5 y 11 durante un periodo de tiempo comprendido entre aproximadamente 2 minutos y 24 horas.

Figura 1

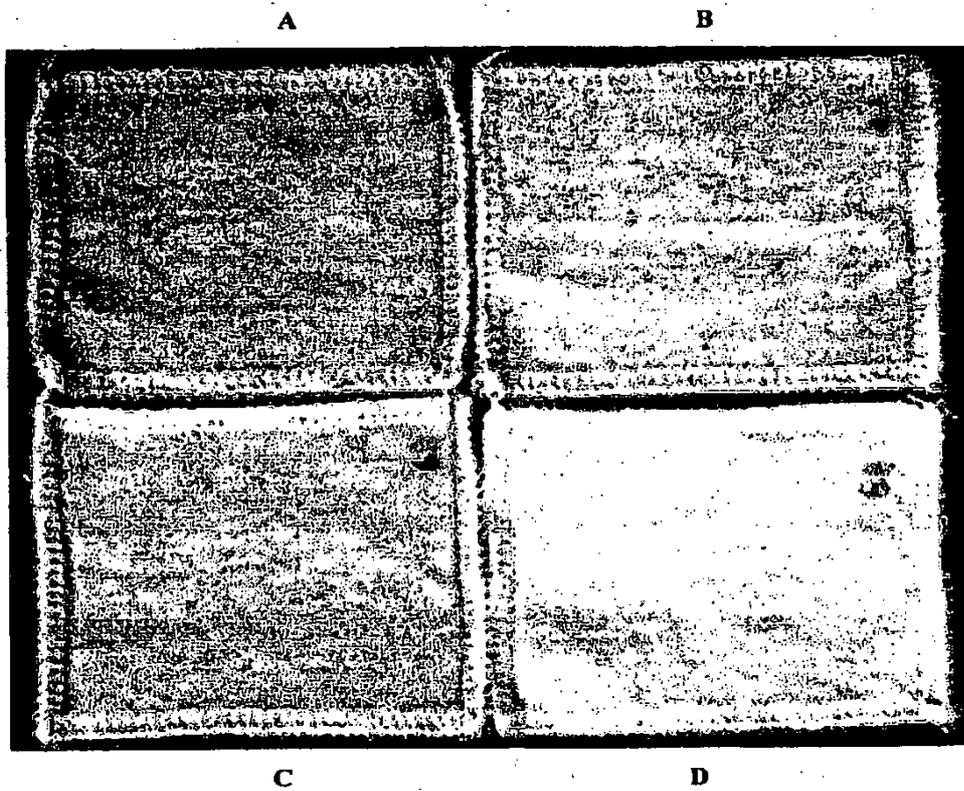
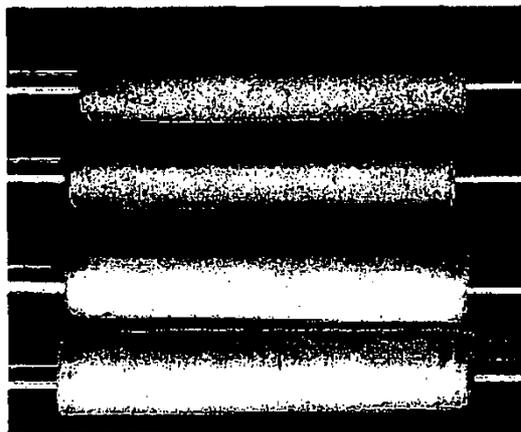


Figura 2



Control

Control + Mezcla de enzimas

Figura 3

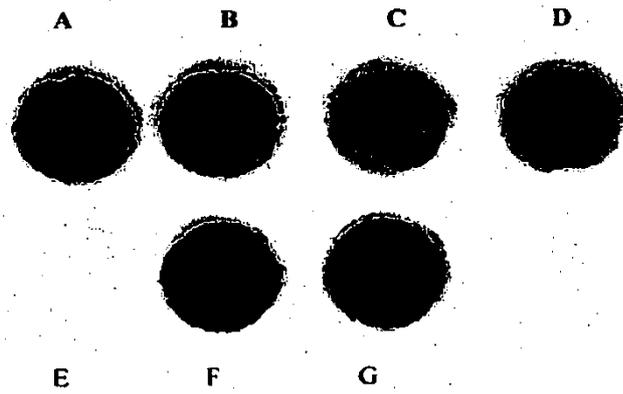
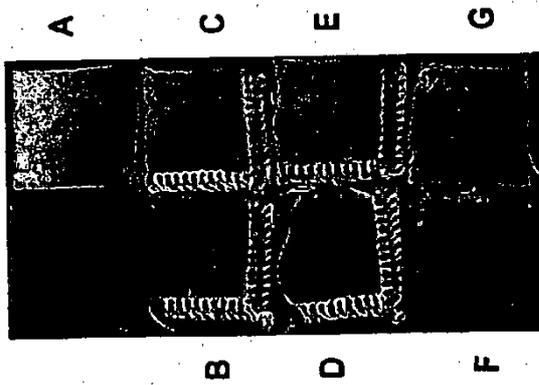


Figura 4



Diferencia total de color de tejidos de algodón después del pretratamiento

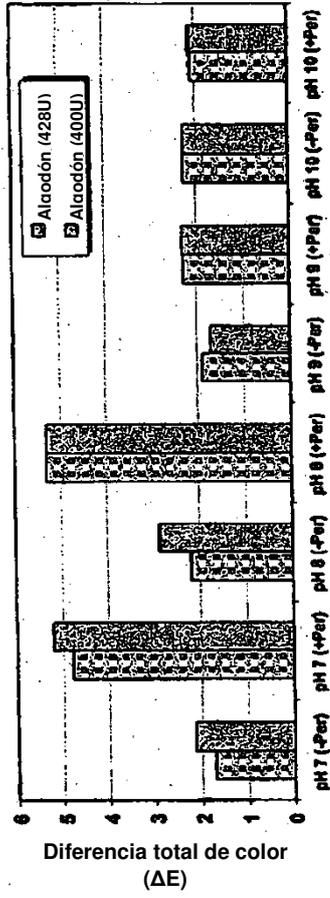


Figura 5

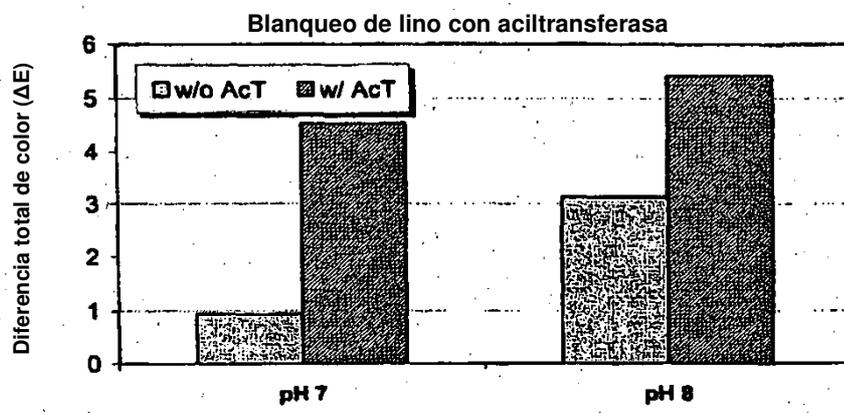


Figura 6