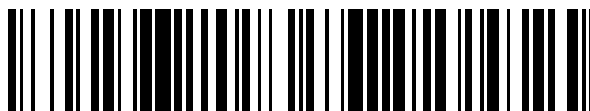


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 566 365**

51 Int. Cl.:

C12N 9/99 (2006.01)

C11D 3/39 (2006.01)

C11D 3/386 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.02.2012 E 12704077 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.01.2016 EP 2814957**

54 Título: **Método de inactivación de enzimas**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.04.2016

73 Titular/es:

**ECOLAB USA INC. (100.0%)
370 Wabasha Street N
St. Paul, Minnesota 55102-1390, US**

72 Inventor/es:

**PATTEN, ANJA;
NOLDE, CHRISTOF y
VOGT, PETRA**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 566 365 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

Método de inactivación de enzimas

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método químico de inactivación de enzimas, en particular de enzimas hidrolíticas usadas en aplicaciones de limpieza.

10

Antecedentes

El uso de enzimas, por ejemplo, proteasas y lipasas, ofrece ventajas considerables en aplicaciones de limpieza. Por ejemplo, el documento WO 97/02753 A1 desvela que pueden utilizarse enzimas para eliminar manchas que contienen proteínas y lípidos, a bajas temperaturas y sin necesidad de productos químicos adicionales. Por lo tanto, el uso de enzimas en aplicaciones de limpieza aumenta la compatibilidad de los materiales, disminuye los costes energéticos, reduce el consumo de agua y reduce los riesgos ambientales y los relacionados con la salud que resultarían de la utilización de productos químicos.

15

20

Los productos de limpieza basados en enzimas se utilizan, por ejemplo, en la industria alimentaria, en particular para la limpieza *in situ* de los equipos que se utilizan para procesar alimentos o bebidas. En este contexto, limpieza *in situ* se refiere a la limpieza de equipos de procesado distribuyendo una solución limpiadora a través de los mismos sin necesidad de desmontarlos antes de realizar el procedimiento de limpieza. Un ejemplo particular del uso de enzimas en aplicaciones de limpieza es el uso de enzimas proteolíticas para la limpieza de las membranas utilizadas para procesar productos lácteos.

25

También pueden emplearse enzimas para la limpieza a baja temperatura de artículos textiles u otros artículos de lavandería.

30

Un problema asociado con el uso de enzimas en la limpieza *in situ* de los equipos de procesado de alimentos es que podrían contaminar y posiblemente degradar los productos alimentarios si no están completamente inactivadas después de la etapa de limpieza. Por ejemplo, una lipasa podría degradar cualquier producto lácteo que entrara en contacto con la enzima. Esto podría cambiar el sabor del producto alimentario y podría impedir su uso comercial. Por lo tanto, se necesita una manera eficaz y rentable para inactivar las enzimas.

35

El documento US6197739 desvela la eliminación de manchas de alimentos de los equipos de fabricación usando composiciones que contienen enzimas. Como etapa adicional, las proteasas residuales se desnaturalizan usando agentes oxidantes tales como peroxiácidos acuosos.

40

De manera similar, las enzimas residuales de las aplicaciones de limpieza de artículos de lavandería podrían degradar los componentes de dichos artículos, especialmente si el material de lavandería es un artículo textil de origen biológico, por ejemplo, lana, dando como resultado productos de degradación que tienen un olor desagradable. Las proteasas se inactivan normalmente a un pH muy alto o muy bajo. Por otro lado, las lipasas son menos sensibles al pH y requieren la combinación de un pH menor de 2 y una temperatura en el intervalo de 40 °C a 70 °C para su inactivación. Sin embargo, es posible que este método de inactivación dañe el equipo que va a limpiarse. Por ejemplo, un tratamiento con ácidos podría tener un efecto corrosivo sobre las superficies del equipo de procesado y sobre las membranas de filtración que se utilizan en dicho equipo. Además, la temperatura necesaria, más bien alta, conlleva un incremento en los costes energéticos. Asimismo, el uso de grandes volúmenes de composiciones de inactivación ácidas requiere su neutralización y la evacuación apropiada del residuo líquido.

45

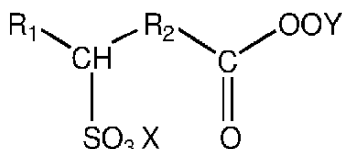
50

Por lo tanto, el objetivo técnico de la presente invención es proporcionar un método de inactivación de enzimas que afecte a una amplia gama de enzimas, que sea eficaz a temperatura ambiente (es decir, de 20 °C a 30 °C), que no requiera condiciones fuertemente ácidas o básicas y que tenga una alta compatibilidad con materiales para usarse en aplicaciones de limpieza *in situ*.

55

Sumario de la invención

La presente invención proporciona un método para la inactivación de enzimas con una composición que comprende un ácido peroxicarboxílico sulfonado de acuerdo con la fórmula 1

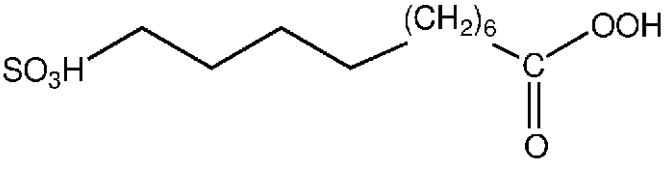
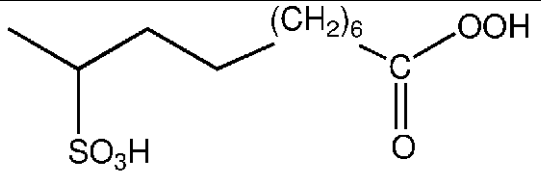
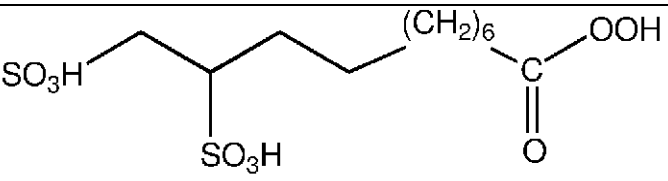
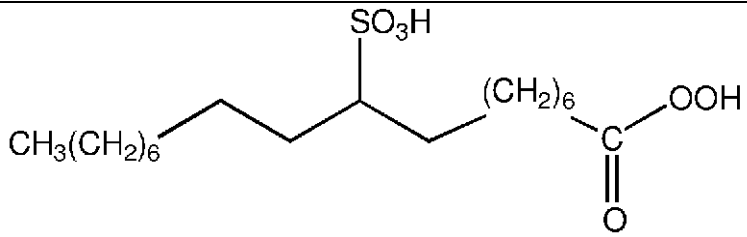
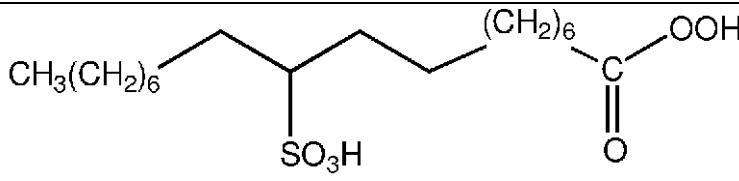
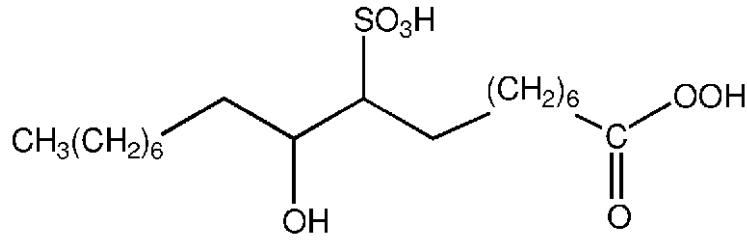


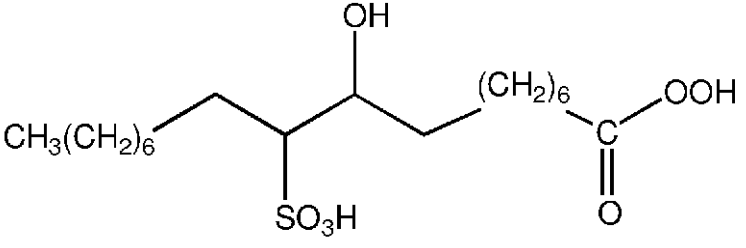
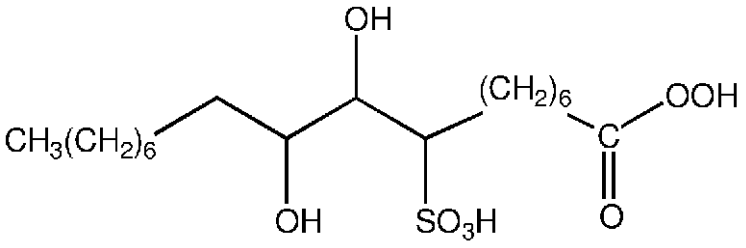
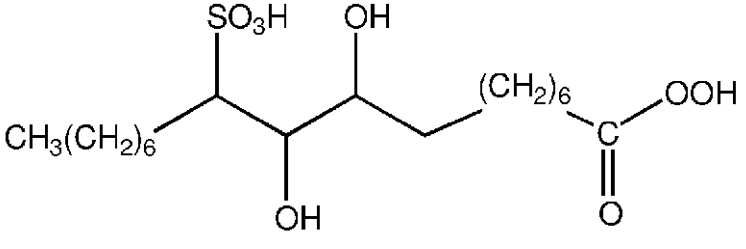
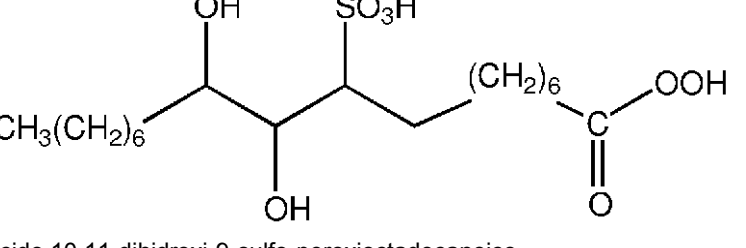
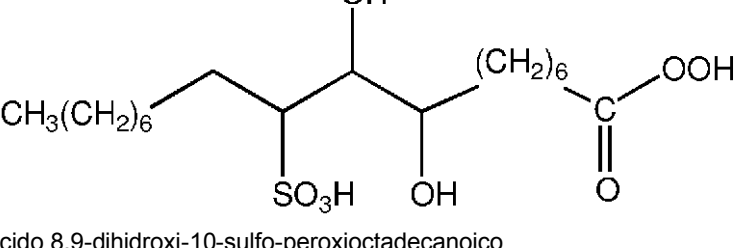
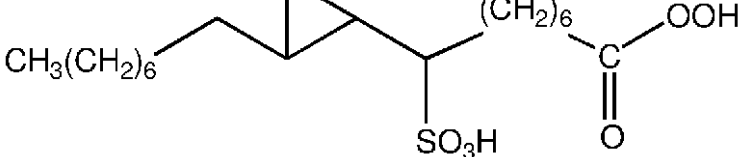
(Fórmula 1)

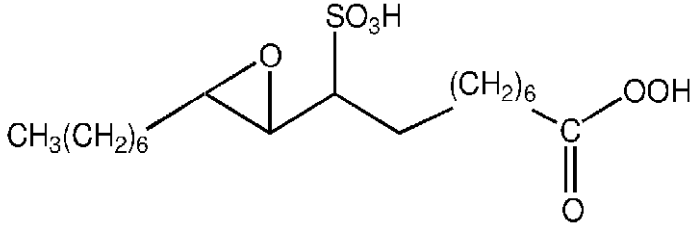
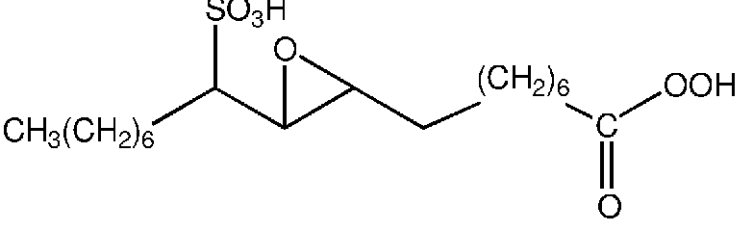
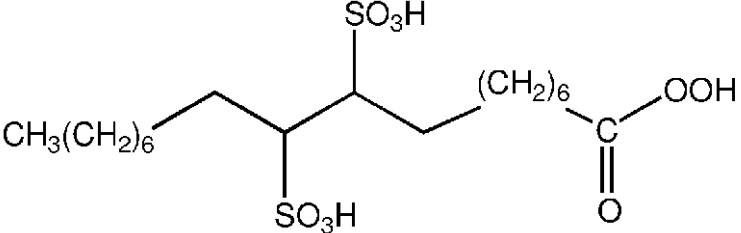
60

La siguiente tabla muestra ejemplos de realizaciones preferidas de ácidos peroxicarboxílicos sulfonados adecuados para su uso en la composición de la presente invención. En algunas realizaciones, la composición de la presente invención incluye un ácido peroxicarboxílico sulfonado que se selecciona del grupo que consiste en los compuestos mostrados en esta tabla, o sales y mezclas de los mismos.

5

ID	Estructura y nombre del compuesto
A	 <p>Ácido 11-sulfo-peroxiundecanoico</p>
B	 <p>Ácido 10-sulfo-peroxiundecanoico</p>
C	 <p>Ácido 10,11-disulfo-peroxiundecanoico</p>
D	 <p>Ácido 9-sulfo-peroxioctadecanoico</p>
E	 <p>Ácido 10-sulfo-peroxioctadecanoico</p>
F	 <p>Ácido 10-hidroxi-9-sulfo-peroxioctadecanoico</p>

G	 <p>Ácido 9-hidroxi-10-sulfo-peroxioctadecanoico</p>
H	 <p>Ácido 9,10-dihidroxi-8-sulfo-peroxioctadecanoico</p>
I	 <p>Ácido 9,10-dihidroxi-11-sulfo-peroxioctadecanoico</p>
J	 <p>Ácido 10,11-dihidroxi-9-sulfo-peroxioctadecanoico</p>
K	 <p>Ácido 8,9-dihidroxi-10-sulfo-peroxioctadecanoico</p>
L	 <p>Ácido 8-(3-octiloxiran-2-il)-8-sulfo-peroxioctanoico</p>

M	 <p>Ácido 9-(3-heptiloxiran-2-il)-9-sulfo-peroxinonanoico</p>
N	 <p>Ácido 8-(3-(1-sulfo-octil)-oxiran-2-il)-peroxioctanoico</p>
O	 <p>Ácido 9,10-disulfo-peroxioctadecanoico</p>

Los ácidos peroxicarboxílicos sulfonados pueden prepararse, por ejemplo, a partir de ácidos grasos sulfonados o de ácidos grasos no sulfonados que pueden sulfonarse. Si como material de partida se usan ácidos grasos no sulfonados, estos pueden sulfonarse antes de su conversión en la forma de ácido peroxicarboxílico o pueden sulfonarse al mismo tiempo o después de la formación de la forma de ácido peroxicarboxílico. La sulfonación puede realizarse mediante cualquier método conocido por un experto en la materia.

Son ácidos grasos sulfonados preferidos para su uso en la formación de los compuestos de la presente invención, por ejemplo, el ácido 11-sulfo-undecanoico, el ácido 10,11-disulfo-undecanoico, el ácido oleico sulfonado, el ácido linoleico sulfonado, el ácido palmitoleico sulfonado o el ácido esteárico sulfonado.

El ácido peroxicarboxílico puede formarse usando diversos mecanismos de reacción. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el ácido percarboxílico se forma mediante la acción directa de peróxido de hidrógeno en equilibrio catalizada por ácido con el material de partida.

En una realización preferida se usa ácido oleico sulfonado como material de partida. Se piensa que, dado que el ácido oleico sulfonado procede de fuentes naturales, no es químicamente puro, es decir, no contiene solamente una forma de ácido oleico sulfonado. Por lo tanto, la forma peroxicarboxílica del ácido oleico sulfonado puede comprender una mezcla de los compuestos F, G, J y K de la tabla anterior.

Los ácidos peroxicarboxílicos sulfonados de la presente invención pueden estar presentes en una composición que comprende uno o más componentes adicionales. En una realización preferida, la composición incluye además reactivos oxidantes, ácidos carboxílicos y percarboxílicos, tensioactivos y agentes estabilizantes. La composición de la presente invención también puede usarse junto con agentes de limpieza convencionales, por ejemplo, detergentes alcalinos, o composiciones que contienen urea, ácido nítrico, ácido fosfórico o mezclas de los mismos.

La composición de la presente invención puede comprender al menos un agente oxidante. El agente oxidante puede ser un agente oxidante orgánico o inorgánico. Son ejemplos de agentes oxidantes inorgánicos adecuados el peróxido de hidrógeno, peróxidos inorgánicos tales como, por ejemplo, el peróxido de sodio, perboratos tales como, por ejemplo, el perborato de sodio, sales del ácido monoperoxosulfúrico tales como, por ejemplo, monopersulfato de potasio, aductos de peróxido de hidrógeno con compuestos inorgánicos tales como, por ejemplo, percarbonato de sodio, así como aductos de peróxido de hidrógeno con fosfatos de sodio. Los ejemplos de agentes oxidantes orgánicos adecuados incluyen ácidos peroxicarboxílicos tales como, por ejemplo, ácido peroxiacético. En una realización preferida, la composición de la presente invención comprende peróxido de hidrógeno como reactivo

oxidante.

Además del ácido peroxicarboxílico sulfonado, la composición de la presente invención puede comprender al menos un ácido carboxílico. El ácido carboxílico puede ser cualquier ácido carboxílico de C₁ a C₂₂. El ácido carboxílico puede estar saturado o insaturado. Son ejemplos de ácidos monocarboxílicos adecuados el ácido fórmico, acético, propiónico, butírico, pentanoico, hexanoico, heptanoico, octanoico, nonanoico, decanoico, undecanoico, dodecanoico, tetradecanoico, hexadecanoico, octadecanoico o icosanoico, así como sus isómeros ramificados tales como, por ejemplo, ácido neopentanoico, neoheptanoico o neodecanoico. Son ejemplos de ácidos dicarboxílicos adecuados el ácido oxálico, malónico, succínico, glutárico, adípico, pimélico o subérico. Son ejemplos de ácidos tricarboxílicos adecuados el ácido cítrico o el ácido isocítrico. Son ejemplos de ácidos hidroxicarboxílicos adecuados el ácido hidroxiaacético o láctico. Otros ejemplos de ácidos carboxílicos adecuados son el ácido ascórbico o el ácido maleico.

La composición de la presente invención también puede incluir las formas peroxicarboxílicas de cualquiera de los ácidos carboxílicos mencionados anteriormente. La forma peroxicarboxílica puede prepararse mediante cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, combinando el ácido carboxílico con peróxido de hidrógeno. Puede obtenerse una solución de ácido peroxioctanoico, por ejemplo, combinando ácido octanoico y peróxido de hidrógeno y un hidrótopo, un disolvente o un vehículo.

La composición de la presente invención puede incluir uno o más tensioactivos. En general, en la presente invención son apropiados todos los tipos de tensioactivos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, tensioactivos aniónicos, tensioactivos no iónicos, tensioactivos catiónicos y tensioactivos anfipróticos. Un tensioactivo adecuado es, por ejemplo, cumeno sulfonato de sodio.

La composición de la presente invención puede incluir uno o más agentes estabilizantes. Los agentes estabilizantes sirven para estabilizar el ácido peroxicarboxílico y los compuestos de peróxido de la presente composición. Los agentes estabilizantes adecuados incluyen, por ejemplo, agentes quelantes de cationes metálicos. Los ejemplos de agentes quelantes incluyen ácidos aminopolicarboxílicos tales como ácido etilendiaminotetraacético, o ácidos polifosfónicos y ácidos aminopolifosfónicos tales como ácido hidroxietanodifosfónico, ácido etilendiaminotetrametilenfosfónico y ácido dietilentriaminopentametenfosfónico, y sales hidrosolubles de los mismos.

En una realización preferida, la composición de la presente invención incluye de un 10 % a un 20 % en peso de ácido oleico sulfonado, hasta un 10 % en peso de ácido acético, de un 5 % a un 10 % de ácido peracético, de un 1 % a un 5 % en peso de ácido octanoico, de un 1 % a un 5 % en peso de ácido peroxioctanoico, de un 1 % a un 5 % en peso de ácido hidroxietanodifosfónico y de un 8 % a un 35 % en peso de peróxido de hidrógeno.

De acuerdo con la presente invención, la composición descrita anteriormente puede usarse para inactivar enzimas. Preferentemente, las enzimas que pueden inactivarse usando la presente invención son hidrolasas tales como, por ejemplo, proteasas, lipasas, nucleasas o glicosidasas. Las enzimas pueden ser parte de una composición enzimática que comprenda cualquiera de las enzimas descritas en el presente documento o mezclas de las mismas. Preferentemente, la composición enzimática se usa en condiciones alcalinas, más preferentemente de pH 7 a pH 9.

Las proteasas pueden incluir, por ejemplo, las de origen animal, vegetal o microbiano. También se incluyen proteasas modificadas química o genéticamente. Preferentemente, las proteasas incluyen serina proteasas, por ejemplo, subtilisinas o proteasas de tipo tripsina. Más preferentemente, las proteasas son subtilisinas procedentes, por ejemplo, de microorganismos alcalófilos tales como *Bacillus* sp., *Aspergillus* sp., *Bacillus licheniformis* o *Bacillus lentus*, o variantes de esas subtilisinas.

Las lipasas pueden incluir, por ejemplo, las de origen bacteriano o fúngico. También se incluyen mutantes de lipasas modificados química o genéticamente. Preferentemente, las lipasas proceden, por ejemplo, de *Humicola lanuginosa*, *Pseudomonas mendocina*, *Chromobacter* o *Rhizopus arrhizus*. Más preferentemente, las lipasas incluyen las procedentes de *Humicola lanuginosa* o variantes de las mismas. Las lipasas también pueden incluir fosfolipasas tales como, por ejemplo, las obtenidas a partir de páncreas bovino o porcino, de veneno de serpiente o de abeja, o las de origen microbiano, y otros tipos de enzimas lipolíticas tales como, por ejemplo, cutinasas.

Las glicosidasas pueden incluir amilasas y celulasas. Las amilasas incluyen, por ejemplo, las de origen fúngico o bacteriano. También se incluyen mutantes de amilasas modificados química o genéticamente. Preferentemente, las amilasas proceden, por ejemplo, de *Bacillus amyloliquefaciens* o de *Bacillus licheniformis* termoestable. Las celulasas incluyen, por ejemplo, las de origen fúngico o bacteriano. También se incluyen mutantes de celulasas modificados química o genéticamente. Preferentemente, las celulasas proceden, por ejemplo, de *Humicola insolens* o *Trichoderma longibrachiatum*. Preferentemente, las celulasas incluyen aquellas que tienen un pH óptimo entre pH 5 y pH 9,5.

La presente invención también puede usarse para inactivar enzimas que están, por ejemplo, en solución o inmovilizadas en cualquier tipo de sustrato. La inactivación puede realizarse, por ejemplo, mezclando la composición

de la presente invención con la solución enzimática, o poniendo en contacto la composición con el sustrato.

En una realización preferida, la presente invención desvela un método para inactivar enzimas procedentes de un producto de limpieza basado en enzimas. Esto puede conseguirse, por ejemplo, poniendo en contacto el producto de limpieza con la composición de la presente invención. La composición de la presente invención también puede ponerse en contacto con un objeto que haya estado en contacto con el producto de limpieza en una etapa anterior, para inactivar cualquier enzima residual que quede en el objeto. Se puede aplicar la composición directamente después del uso del producto de limpieza o se puede realizar cualquier número de etapas de limpieza adicionales (por ejemplo, enjuague) entre la aplicación del producto de limpieza y de la composición.

Preferentemente, la composición de la presente invención se usa para inactivar enzimas en equipos de procesado.

Los equipos de procesado incluyen equipos que se usan para el procesamiento de alimentos y bebidas, tales como, por ejemplo, los que se usan para el procesamiento de productos lácteos, alimentos y bebidas, en mataderos, en fábricas de cerveza, para la producción de pescado o harina de pescado o para la producción de comida o pienso granulado para animales. Preferentemente, la composición se usa como parte de un procedimiento de limpieza *in situ*, en el que el producto de limpieza y la composición se distribuyen por el equipo, sin tener que desmontarlo previamente.

La composición de la presente invención también puede usarse para inactivar enzimas en procesos tales como la limpieza enzimática de telas y productos textiles o en la limpieza de superficies en cocinas u hospitales.

Como ejemplo particular, la composición de la presente invención puede usarse para inactivar enzimas usadas para la limpieza de artículos de lavandería. Los artículos de lavandería pueden ser telas o productos textiles con manchas que se limpian agitando los artículos en un producto de limpieza, por ejemplo, una solución de detergente que contiene enzimas, durante un periodo de tiempo determinado seguido del aclarado de los artículos con agua. La composición para la inactivación de las enzimas procedentes del producto de limpieza puede ponerse en contacto con el artículo de lavandería antes de la etapa de aclarado, o puede aplicarse después de la etapa de aclarado y posteriormente realizar una etapa de aclarado adicional. El procedimiento de limpieza puede realizarse en una lavadora automática o puede realizarse como un lavado a mano. En particular, el procedimiento de limpieza puede ser parte de una aplicación en instalaciones de lavandería.

La composición también puede usarse para inactivar enzimas en membranas que se usan, por ejemplo, en cualquiera de las aplicaciones de procesamiento de alimentos descritas anteriormente. Las membranas incluyen, por ejemplo, membranas de ultrafiltración, microfiltración, nanofiltración y de ósmosis inversa. Las membranas pueden ser parte de un equipo de procesado que se limpia en un procedimiento de limpieza *in situ*. Las membranas pueden consistir, por ejemplo, en celulosa, acetato de celulosa, nitrocelulosa, polisulfona, polietersulfona, poliamida totalmente aromática, fluoruro de polivinilideno, politetrafluoroetileno, poliacrilonitrilo, polipropileno, carbono, materiales de membrana inorgánicos tales como α -alúmina u óxido de circonio, y pueden incluir un material de soporte no especificado adicionalmente.

La inactivación de enzimas de acuerdo con la presente invención puede realizarse a una temperatura de 5 °C a 95 °C, preferentemente de 10 °C a 60 °C, más preferentemente de 20 °C a 30 °C.

Ejemplos

Inactivación de lipasas en membranas de microfiltración

Se efectuaron ensayos de inactivación de lipasas en una planta de ensayo de laboratorio de MF/UF de superficies planas DDS M38. Se incubaron membranas de microfiltración de tipo Alfa Laval GRM 0,2 durante un periodo de 30 minutos a 60 minutos a 50 °C distribuyendo una solución acuosa que contenía un 0,2 % de una composición enzimática a pH 9. La composición enzimática contenía de un 5 % a un 10 % en peso de Rizolipasa (una lipasa de *Rhizopus arrhizus*) y de un 5 % a un 10 % en peso de Subtilisina. Posteriormente, las membranas se sometieron a uno de los procedimientos de limpieza e inactivación que se describen más adelante. Inmediatamente antes y después de los procedimientos de limpieza e inactivación, las muestras de las membranas se congelaron y se conservaron congeladas hasta el análisis de concentración y actividad de lipasas. El análisis de la concentración y actividad de lipasas lo realizó Novozymes A/S mediante ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA). La concentración de lipasa se presenta como μg de lipasa por g de membrana, y la actividad específica de lipasa se presenta como KLU por g de lipasa.

En el procedimiento 1 (ejemplo comparativo), las membranas se trataron distribuyendo una solución acuosa que contenía un 0,1 % en peso de urea, un 24 % en peso de ácido fosfórico y un 29 % en peso de ácido nítrico, complementado con un 0,3 % en peso de una solución acuosa que contenía un 26,7 % en peso de peróxido de hidrógeno, un 6,7 % en peso de ácido acético y un 4,5 % en peso de ácido peracético. La distribución se realizó durante 30 minutos a 25 °C. Este tratamiento redujo la concentración de lipasa de 295 $\mu\text{g/g}$ a 44 $\mu\text{g/g}$ y su actividad específica de 1,7 KLU/g a 0,26 KLU/g.

5 En el procedimiento 2 (ejemplo comparativo), las membranas se trataron distribuyendo una solución acuosa que contenía un 0,1 % en peso de urea, un 24 % en peso de ácido fosfórico y un 29 % en peso de ácido nítrico, complementado con un 0,3 % en peso de una solución acuosa que contenía un 5,1 % en peso de peróxido de hidrógeno, un 42,09 % en peso de ácido acético, un 8,6 % en peso de ácido peracético, un 3,37 % en peso de ácido octanoico y un 0,7 % en peso de ácido peroctanoico. La distribución se realizó durante 30 minutos a 25 °C. Este tratamiento redujo la concentración de lipasa de 229 µg/g a 1,91 µg/g y su actividad específica de 1,4 KLU/g a 0,011 KLU/g.

10 En el procedimiento 3, las membranas se trataron distribuyendo una solución acuosa que contenía un 0,1 % en peso de urea, un 24 % en peso de ácido fosfórico y un 29 % en peso de ácido nítrico, complementado con un 0,3 % en peso de una solución acuosa de acuerdo con la presente invención que contenía un 8-35 % en peso de peróxido de hidrógeno, un 10-20 % en peso de ácido oleico sulfonado, menos de un 10 % en peso de ácido acético, un 5-10 % en peso de ácido peracético, un 1-5 % en peso de ácido octanoico, un 1-5 % en peso de ácido hidroxietanodifosfónico y un 1-5 % en peso de ácido peroxioctanoico. La distribución se realizó durante 30 minutos a 15 25 °C. Este tratamiento redujo la concentración de lipasa de 220 µg/g a un nivel por debajo del límite de detección y su actividad específica de 1,3 KLU/g a un nivel por debajo del límite de detección.

20 En el procedimiento 4 (ejemplo comparativo), las membranas se trataron distribuyendo una solución acuosa que contenía un 0,1 % en peso de urea, un 24 % en peso de ácido fosfórico y un 29 % en peso de ácido nítrico. La distribución se realizó durante 30 minutos a 50 °C. Este tratamiento redujo la concentración de lipasa de 314 µg/g a 0,1 µg/g y su actividad específica de 1,8 KLU/g a 0,0006 KLU/g.

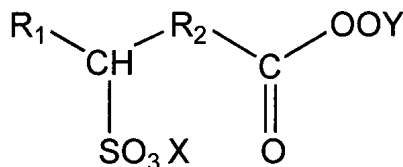
25 La siguiente tabla resume los resultados de las mediciones de la concentración y actividad de lipasa para cada procedimiento. Debe tenerse en cuenta que los procedimientos 1, 2 y 4 son ejemplos comparativos y que el procedimiento 3 representa un método de acuerdo con la presente invención.

Procedimiento	Concentración de lipasa (µg de proteína/g de membrana)		Actividad de lipasa (KLU/g de proteína)	
	Antes del tratamiento	Después del tratamiento	Antes del tratamiento	Después del tratamiento
	1	295	44	1,7
2	229	1,91	1,4	0,011
3	220	n.d.	1,3	n.d.
4	314	0,1	1,8	0,0006

30 Este ensayo demuestra que el procedimiento que usa una composición que comprende un ácido peroxicarboxílico sulfonado de acuerdo con la presente invención inactiva eficazmente las lipasas procedentes de un producto de limpieza basado en enzimas a una temperatura de 25 °C. Además, este procedimiento es más eficaz que cualquiera de los otros procedimientos ensayados, demostrado por el hecho de que la concentración y actividad de las lipasas se redujeron por debajo del límite de detección del ensayo ELISA en el procedimiento 3. En particular, la composición de la presente invención inactiva enzimas de un modo más eficaz que las composiciones que únicamente comprenden ácidos peroxicarboxílicos (procedimientos 1 y 2) o un tratamiento ácido convencional a 35 50 °C (procedimiento 4).

REIVINDICACIONES

1. Un método para la inactivación de enzimas con una composición que comprende un ácido peroxicarboxílico sulfonado de acuerdo con la fórmula 1



(fórmula 1)

- 5 en la que: R₁ es hidrógeno o un grupo alquilo C_m sustituido o no sustituido; R₂ es un grupo alquilo C_n sustituido o no sustituido; X es un átomo de hidrógeno, un grupo catiónico o un resto que forma un éster; Y es un átomo de hidrogeno, un grupo catiónico o un resto que forma un éster; n es de 1 a 10; m es de 1 a 10; y n + m es menor que, o igual a, 18, en el que la composición se pone en contacto con la enzima.
- 10 2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Y es un átomo de hidrógeno.
3. Un método de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que la composición comprende además un reactivo oxidante que no es un compuesto que contiene cloro.
- 15 4. Un método de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que la composición comprende además peróxido de hidrógeno.
- 20 5. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la composición comprende además un ácido carboxílico o peroxicarboxílico de C₁ a C₂₂.
6. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las enzimas son hidrolasas.
- 25 7. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las enzimas se seleccionan del grupo que consiste en proteasas, lipasas, glicosidasas o mezclas de las mismas.
8. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la inactivación de las enzimas se realiza después de al menos una etapa de limpieza usando un producto de limpieza basado en enzimas para inactivar las enzimas procedentes del producto de limpieza.
- 30 9. Un método de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el producto de limpieza basado en enzimas se usa para la limpieza *in situ* de equipos de procesado que se han ensuciado, en el que la composición de inactivación se pone en contacto con los equipos.
- 35 10. Un método de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el producto de limpieza basado en enzimas se usa para la limpieza de artículos de lavandería, en el que la composición de inactivación se pone en contacto con artículos de lavandería.
- 40 11. Un método de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el producto de limpieza basado en enzimas se usa para la limpieza de membranas de microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa, en el que las membranas se ponen en contacto con la composición.
- 45 12. Un método de acuerdo con la reivindicación 11, en el que las membranas consisten en celulosa, acetato de celulosa, nitrocelulosa, polisulfona, polietersulfona, poliamida totalmente aromática, fluoruro de polivinilideno, politetrafluoroetileno, poliacrilonitrilo, polipropileno, carbono, α-alúmina u óxido de circonio, combinado con un material de soporte no especificado adicionalmente.
- 50 13. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la inactivación de las enzimas se realiza a una temperatura que está en el intervalo de 10 °C a 70 °C.