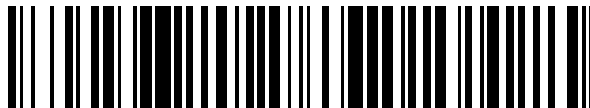


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 339**

51 Int. Cl.:

C11D 3/386 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.01.2013 PCT/EP2013/051392**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.08.2013 WO13113619**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2013 E 13701758 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.01.2017 EP 2809763**

54 Título: **Lavavajillas líquido estable en almacenamiento que contiene proteasa y amilasa**

30 Prioridad:

02.02.2012 DE 102012201522

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

03.07.2017

73 Titular/es:

**BASF SE (100.0%)
Carl-Bosch-Strasse 38
67056 Ludwigshafen am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**MUSSMANN, NINA;
EITING, THOMAS;
BASTIGKEIT, THORSTEN;
BENDA, KONSTANTIN y
JANKE, HANS, HARTMUT**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 621 339 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

Lavavajillas líquido estable en almacenamiento que contiene proteasa y amilasa

La invención se encuentra en el campo de los lavavajillas líquidos. La invención se refiere en particular a lavavajillas líquidos que contienen enzimas, que contienen proteasas definidas en combinación con una amilasa, y propone además procedimientos en los que se usan tales agentes. La invención se refiere además a usos de proteasas definidas en lavavajillas líquidos que contienen una amilasa.

Para lavavajillas se usan preferentemente proteasas del tipo subtilisina. Las proteasas usadas en los lavavajillas conocidos por el estado de la técnica proceden o bien originariamente de microorganismos, por ejemplo de los géneros *Bacillus*, *Streptomyces*, *Humicola*, *Thermomyces* o *Pseudomonas*, y/o se producen según procedimientos biotecnológicos en sí conocidos mediante microorganismos adecuados, por ejemplo mediante huéspedes de expresión transgénicos de los géneros *Bacillus* o mediante hongos filamentosos.

En particular en lavavajillas modernos están contenidas cada vez más otras enzimas, entre éstas en particular amilasas. Una amilasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de enlaces glicosídicos, en particular en polisacáridos tal como almidón. Entre las amilasas se usan en lavavajillas con frecuencia α -amilasas que hidrolizan los enlaces $\alpha(1-4)$ -glicosídicos de la amilosa. Dentro de la clasificación EC de las enzimas, el sistema de clasificación numérica para enzimas, presentan las α -amilasas el número EC (en inglés "Enzyme Commission number") 3.2.1.1 y pertenecen por consiguiente a la tercera de las seis clases principales de enzimas, las hidrolasas (E.C.3.-.-), entre éstas a las glicosilasas (E.C. 3.2.-.-) y a su vez entre éstas a las glicosidasas (E.C. 3.2.1.-), es decir enzimas que hidrolizan los enlaces O- y/o S-glicosílicos. En la degradación del almidón mediante α -amilasas se producen dextrinas y a partir de éstas maltosa, glucosa y oligosacáridos ramificados. Las amilasas actúan por consiguiente en particular contra residuos en la colada que contienen almidón y catalizan su hidrólisis.

En las solicitudes de patente internacionales WO 95/23221 y WO 92/21760 se divulgan variantes de la proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483, que son adecuadas para su uso en agentes de lavado o de limpieza, entre éstos también lavavajillas, así como agentes de lavado y de limpieza que contienen proteasas de este tipo. Además se divulgan en la solicitud de patente internacional WO 2011/032988 agentes de lavado y de limpieza que contienen igualmente variantes de la proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483. Las variantes de proteasa divulgadas en estos documentos pueden estar modificadas, además de otras posiciones, en las posiciones 3, 4, 193 y 199 en la enumeración de la proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483 y pueden presentar por ejemplo en las posiciones en cuestión los aminoácidos 3T, 4I, 193M o 199I. Además se divulga que los agentes de lavado pueden contener otras enzimas, entre éstas también una amilasa. Los agentes de lavado pueden ser sólidos o líquidos. Sin embargo, de estos documentos no resulta directamente y de manera unívoca un lavavajillas líquido que contiene una amilasa en combinación con una proteasa, que presenta combinaciones de estas modificaciones, tal como se describen a continuación.

El documento WO 2007/122175 A1 divulga variantes de la subtilisina que comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones 3, 4, 199 y 211. El documento WO 97/07770 A1 describe el uso de una subtilisina-proteasa mutada en productos cosméticos.

Un inconveniente de lavavajillas líquidos que contienen proteasa y amilasa del estado de la técnica es que éstos no son suficientemente estables en almacenamiento y ejercen según esto ya tras breve tiempo una medida considerable de actividad enzimática, en particular de actividad amilolítica y/o proteolítica. Con frecuencia, la presencia de proteasa conduce a la pérdida de actividad amilolítica, dado que la proteasa inactiva a la amilasa. El lavavajillas ya no muestra entonces ninguna potencia de limpieza óptima.

La presente invención se basa en el objetivo de superar el inconveniente mencionado y facilitar lavavajillas líquidos que contienen proteasa y amilasa, que sean estables en almacenamiento de manera suficiente o bien de manera mejorada, en particular en cuanto a su actividad enzimática y preferentemente a su actividad amilolítica y/o proteolítica.

Un objeto de la invención es por tanto un lavavajillas líquido que comprende

- (a) una proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 por su longitud total en al menos el 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 % y 98,5 % y presenta en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 la sustitución de aminoácidos L211 D en combinación con las sustituciones de aminoácidos S3T, V4I, V193M y V199I y
- (b) una amilasa.

Sorprendentemente se determinó que un lavavajillas líquido, que contiene la combinación de una proteasa de este tipo con una amilasa, es estable en almacenamiento de manera ventajosa. En particular, éste presenta una potencia de limpieza mejorada, en particular una potencia de limpieza amilolítica y/o proteolítica mejorada, tras almacenamiento en comparación con un lavavajillas, que se diferencia de un agente de acuerdo con la invención

5 únicamente por proteasa existente en el respectivo agente, estando presente la proteasa en los agentes que van a compararse al inicio del almacenamiento en igual concentración, con respecto a la enzima activa. Una proteasa prevista en el contexto de la presente invención conduce por tanto a una inactivación reducida de la amilasa y muestra también incluso pérdidas de potencia reducidas. La inactivación reducida de amilasa y/o proteasa mediante la proteasa prevista en el contexto de la presente invención no se basa sin embargo en una potencia y/o actividad de proteasa insuficiente. En configuraciones preferentes de los lavavajillas de acuerdo con la invención se encuentra la estabilidad de almacenamiento mejorada, descrita también a temperaturas más altas, por ejemplo a 30 °C, 35 °C y/o incluso a 40 °C.

10 Un agente de acuerdo con la invención presenta con respecto a esto y preferentemente una potencia de limpieza adicionalmente buena, en particular ventajosa, de suciedades sensibles a proteasa. Un agente de este tipo permite por tanto una eliminación satisfactoria o mejorada de al menos una, preferentemente de varias suciedades sensibles a proteasa en superficies duras, por ejemplo vajilla o superficies metálicas, por ejemplo cubertería. En configuraciones seleccionadas de la invención se produce una potencia de limpieza de este tipo en cuanto al menos a una suciedad sensible a proteasa en particular también a temperaturas más altas, en particular entre 40 °C y 70 °C, entre 40 °C y 60 °C o entre 45 °C y 55 °C.

15 En cuanto a las solicitudes de patente internacional WO 95/23221, WO 92/21760 y WO 2011/032988 mencionadas anteriormente, en el caso de la presente invención se trata por consiguiente de una elección especialmente ventajosa que conduce a la obtención de un lavavajillas líquido eficaz y estable en almacenamiento, en particular en cuanto a la potencia de limpieza proteolítica y/o amilolítica del agente tras almacenamiento y/o en cuanto a la actividad proteolítica y/o amilolítica del agente tras almacenamiento.

20 La potencia de limpieza describe la capacidad de un lavavajillas, en particular de un lavavajillas a máquina, de eliminar parcial o completamente una suciedad existente de la superficie dura de la vajilla. Ejemplos de suciedades de la vajilla son leche, carne picada, yema de huevo, copos de avena y almidón. En el contexto de la invención tanto el lavavajillas, que comprende la proteasa y la amilasa o bien el baño de limpieza formado por este agente, como también la propia proteasa o bien la amilasa presenta una respectiva potencia de limpieza. La potencia de limpieza de la enzima contribuye por consiguiente a la potencia de limpieza del agente o bien el baño de limpieza formado por el agente. La potencia de limpieza amilolítica designa la potencia de limpieza de suciedades sensibles a amilasa. La potencia de limpieza proteolítica designa la potencia de limpieza de suciedades sensibles a proteasa. La potencia de limpieza se determina de manera habitual en la técnica, preferentemente tal como se indica a continuación.

25 Por baño de limpieza se entiende aquella solución de uso que contiene el lavavajillas, que actúa sobre las superficies duras y con esto entra en contacto con las suciedades existentes en las superficies duras. Habitualmente se produce el baño de limpieza cuando comienza el proceso de limpieza y se diluye con agua el lavavajillas por ejemplo en una máquina lavavajillas o en otro recipiente adecuado.

30 Una estabilidad en almacenamiento en el sentido de la invención existe en particular cuando un lavavajillas de acuerdo con la invención presenta tras un almacenamiento una potencia de limpieza más alta en comparación con una composición control, que se diferencia del lavavajillas de acuerdo con la invención solo por la proteasa contenida en la composición control. Los dos agentes que van a compararse presentan al inicio del almacenamiento por tanto la misma cantidad o bien concentración de amilasa y/o actividad de partida amilolítica. Además está presente en los dos agentes la proteasa al inicio del almacenamiento en la misma concentración, con respecto a la enzima activa, y los dos agentes se tratan de la misma manera, en particular en cuanto a las condiciones del almacenamiento y la determinación de la actividad enzimática. Cada vez más preferentemente se realiza el almacenamiento durante al menos 24 horas, 48 horas, 72 horas, 5 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas o 4 semanas. Más preferentemente se realiza el almacenamiento a una temperatura de al menos 35 °C, de manera especialmente preferente a 40 °C.

35 La actividad enzimática puede realizarse con respecto a esto (de manera adaptada al respectivo tipo de enzima) de manera habitual en la técnica. Los procedimientos para la determinación de la actividad son familiares para el experto en el campo de la tecnología de enzimas y éste los usa de manera rutinaria. Los procedimientos para la determinación de la actividad proteasa se divulgan por ejemplo en Tenside, volumen 7 (1970), pág. 125-132. La actividad proteolítica puede determinarse además a través de la liberación del cromóforo para-nitroanilina (pNA) del sustrato suc-L-Ala-L-Ala-L-Pro-L-Phe-p-nitroanilida (suc-AAPF-pNA). La proteasa escinde el sustrato y libera pNA. La liberación de pNA origina un aumento de la extinción a 410 nm, cuyo desarrollo temporal es una medida de la actividad enzimática (véase Del Mar *et al.*, 1979). La medición se realiza a una temperatura de 25 °C, a pH 8,6 y una longitud de onda de 410 nm. El tiempo de medición asciende a 5 min en un intervalo de medición de 20 s a 60 s. La actividad proteasa se indica preferentemente en UP (unidades de proteasa).

40 La actividad amilasa se determina de manera habitual en la técnica. Preferentemente se determina la actividad amilasa tal como se indica a continuación. Las amilasas convierten almidón en glucosa. En condiciones de reacción definidas (tampón trismaleato pH 6,5, 50 °C, 15 min) se incuban las muestras que van a someterse a estudio con el 0,67 % de almidón (soluble, pretratado según Zulkowsky (tratado con glicerol a 190 °C)). Mediante adición de ácido dinitrosalicílico y calentamiento hasta 100 °C se reduce éste mediante glucosa y otros azúcares reductores en condiciones alcalinas para dar un colorante rojo anaranjado, lo que se determina tras finalizar la reacción

fotométricamente a 540 nm. La cantidad del azúcar liberado correspondiente a la coloración es a este respecto una medida de la actividad enzimática (véase Sumner *et al.*, J. Biol. Chem., 1921, 47 & 1924, 62).

5 De manera especialmente preferente se determina la existencia de una estabilización enzimática en el sentido de la presente invención tal como se ha indicado anteriormente usando un lavavajillas líquido que contiene proteasa y amilasa, que se almacena durante cuatro semanas a una temperatura de 40 °C, determinándose la actividad proteolítica a través de la liberación del cromóforo para-nitroanilina (pNA) del sustrato suc-AAPF-pNA, y determinándose la actividad amilolítica tal como se ha indicado anteriormente.

10 La proteasa contenida en un lavavajillas de acuerdo con la invención comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 por su longitud total en al menos el 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 % y 98,8 %, y presenta en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 la sustitución de aminoácidos L211 D en combinación con las sustituciones de aminoácidos S3T, V4I, V193M y V199I.

15 SEQ ID NO. 1 es la secuencia de la proteasa alcalina madura de *Bacillus lentus* DSM 5483, que se divulga en la solicitud de patente internacional WO 92/21760, y a cuya divulgación se hace referencia expresa por el presente documento.

Las proteasas de acuerdo con la invención se caracterizan porque éstas presentan la sustitución de aminoácidos L211 D en combinación con las cuatro otras sustituciones de aminoácidos S3T, V4I, V193M y V199I. En particular, las siguientes proteasas se prefieren muy especialmente con respecto a esto:

20 proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 por su longitud total en al menos el 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 % y 98,1 %, y presenta en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 la sustitución de aminoácidos L211 D en combinación con las sustituciones de aminoácidos S3T, V4I, V193M y V199I,

25 en particular una proteasa de acuerdo con SEQ ID NO. 1 con las sustituciones de aminoácidos S3T, V4I, V193M, V199I y L211 D. Una proteasa de este tipo se indica en SEQ ID NO. 2 y se prefiere muy especialmente.

30 Otras proteasas especialmente preferentes son proteasas tal como se describe a continuación, que presentan además en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido arginina (R) y/o que presentan además en la posición 188 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido alanina (A).

35 Las posiciones de aminoácidos se definen en el contexto de la presente invención mediante un alineamiento de la secuencia de aminoácidos de la proteasa que va a usarse con la secuencia de aminoácidos de la proteasa de *Bacillus lentus*, tal como se indica ésta en SEQ ID NO. 1. Dado que la proteasa de *Bacillus lentus* en el estado de la técnica representa una importante molécula de referencia para la descripción de proteasas y de modificaciones de aminoácidos es ventajoso hacer referencia en la asignación de las posiciones de aminoácidos a la enumeración de la proteasa de *Bacillus lentus* (SEQ ID NO. 1). Además, la enumeración depende de la proteína (madura). Esta asignación puede usarse en particular también cuando la secuencia de aminoácidos de la proteasa que va a usarse comprende un número más alto de restos de aminoácidos que la proteasa de *Bacillus lentus* de acuerdo con SEQ ID NO. 1. Partiendo de las posiciones mencionadas en la secuencia de aminoácidos de la proteasa de *Bacillus lentus* son las posiciones de aminoácidos en una proteasa que va a usarse de acuerdo con la invención aquéllas que están asignadas justamente a estas posiciones en un alineamiento.

40 Además de la posición 211, las posiciones especialmente ventajosas según esto pueden asignarse a las posiciones 3, 4, 193 y 199, en un alineamiento con SEQ ID NO. 1 y con ello en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1. En las posiciones mencionadas se encuentran en la molécula de tipo natural de la proteasa de *Bacillus lentus* los siguientes restos de aminoácido: S3, V4, V193, V199, y L211. Dependiendo del número de las desviaciones de secuencia existentes de SEQ ID NO. 1 resultan por tanto distintos valores máximos de identidad, que puede presentar una proteasa que va a usarse de acuerdo con la invención con respecto a SEQ ID NO. 1, incluso cuando ésta debía coincidir en todos los demás aminoácidos con SEQ ID NO. 1. Estas circunstancias han de considerarse para cada posible combinación de las modificaciones de secuencia propuestas de acuerdo con la invención en el caso particular y además también dependen de la longitud de la secuencia de aminoácidos de la proteasa. Por ejemplo asciende la identidad máxima en tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve modificaciones de secuencia al 98,88 %, 98,51 %, 98,14 %, 97,77 %, 97,40 %, 97,03 % o al 96,65 % en una secuencia de aminoácidos de 269 aminoácidos de longitud, o bien al 98,91 %, 98,55 %, 98,18 %, 97,82 %, 97,45 %, 97,09 % o al 96,73 % en una secuencia de aminoácidos de 275 aminoácidos de longitud.

55 De acuerdo con la invención se ha mostrado que mediante la adición de una proteasa de este tipo a un lavavajillas líquido que contiene una amilasa, se obtiene un lavavajillas líquido especialmente estable en almacenamiento, en particular en cuanto a su potencia de limpieza remanente tras el almacenamiento, en particular tras una duración de almacenamiento de cada vez más preferentemente 24 horas, 48 horas, 72 horas, 5 días, 1 semana, 2 semanas, 3

semanas o 4 semanas.

Una proteasa contenida en un lavavajillas de acuerdo con la invención presenta una actividad proteolítica, es decir, ésta puede hidrolizar enlaces peptídicos de un polipéptido o bien de una proteína. Por tanto ésta es una enzima que cataliza la hidrólisis de enlaces peptídicos y debido a ello puede escindir péptidos o proteínas. Ésta es en particular una subtilasa y de manera especialmente preferente una subtilisina.

Una amilasa es una enzima tal como se ha descrito anteriormente. Para amilasas pueden usarse términos sinónimos, por ejemplo 1,4-alfa-D-glucan-glucanohidrolasa o glicogenasa. Las amilasas que pueden prepararse de acuerdo con la invención son preferentemente α -amilasas. Es decisivo para ello si una enzima es una α -amilasa en el sentido de la invención, su capacidad para la hidrólisis de enlaces $\alpha(1-4)$ -glicosídicos en la amilosa del almidón.

- 10 Las amilasas que pueden prepararse de acuerdo con la invención son por ejemplo α -amilasas de *Bacillus licheniformis*, de *Bacillus amiloliquefaciens* y de *Bacillus stearothermophilus* así como en particular también sus perfeccionamientos mejorados para el uso en agentes de lavado y de limpieza así como lavavajillas. La enzima de *Bacillus licheniformis* puede obtenerse de la empresa Novozymes con el nombre Termamyl® y de la empresa Danisco/Genencor con el nombre Purastar®ST. Productos de desarrollo de esta α -amilasa pueden obtenerse de la
- 15 empresa Novozymes con los nombres comerciales Duramyl® y Termamyl®ultra, de la empresa Danisco/Genencor con el nombre Purastar®OxAm y de la empresa Daiwa Seiko Inc., Tokio, Japón, como Keistase®. La α -amilasa de *Bacillus amiloliquefaciens* se comercializa por la empresa Novozymes con el nombre BAN®, y variantes derivadas de la α -amilasa de *Bacillus stearothermophilus* con los nombres BSG® y Novamyl®, así mismo de la empresa Novozymes. Además ha de destacarse para este fin la α -amilasa de *Bacillus* sp. A 7-7 (DSM 12368) y la
- 20 ciclodextrina-glucanotransferasa (CGTasa) de *Bacillus agaradherens* (DSM 9948). Del mismo modo pueden usarse productos de fusión de todas las moléculas mencionadas. Además son adecuados los perfeccionamientos de α -amilasa de *Aspergillus niger* y *A. oryzae*, que pueden obtenerse con los nombres comerciales Fungamyl® de la empresa Novozymes. Otros productos comerciales que pueden usarse ventajosamente son por ejemplo la Amylase-LT® y Stainzyme® o Stainzyme ultra® o bien Stainzyme plus®, estos últimos igualmente de la empresa Novozymes.
- 25 Pueden usarse de acuerdo con la invención también variantes de estas enzimas que pueden obtenerse mediante mutaciones puntuales. Las amilasas especialmente preferentes se divulgan en los documentos de solicitud internacional WO 00/60060, WO 03/002711, WO 03/054177 y WO 07/079938, a cuya divulgación se remite por tanto de manera expresa o bien cuyo contenido de divulgación correspondiente con esto se incluye conjuntamente por tanto de manera expresa en la presente solicitud de patente.
- 30 Especialmente adecuadas para su uso en agentes de acuerdo con la invención son variantes de α -amilasa de la α -amilasa AA560 de acuerdo con SEQ ID NO. 3. Las siguientes variantes son especialmente ventajosas:

(a) variante de α -amilasa que presenta en comparación con la α -amilasa AA560 de acuerdo con SEQ ID NO. 3 una, dos, tres, cuatro, cinco o seis de las siguientes modificaciones de secuencia en la enumeración de la α -amilasa AA560: R118K, D183* (delección), G184* (delección), N195F, R320K, R458K. De manera especialmente preferente presenta la variante de α -amilasa las seis modificaciones de secuencia mencionadas.

(b) variante de α -amilasa que presenta en comparación con la α -amilasa AA560 de acuerdo con SEQ ID NO. 3 las siguientes modificaciones de secuencia (en la enumeración de la α -amilasa AA560):

- (1) M9L/M202I,
 (2) M9L / M202I / M323T,
 (3) M9L / M202I / M323T / M382Y,
 (4) M9L / M202I / Y295F / A339S,
 (5) M9L / M202I / Y295F,
 (6) M9L / M202I / A339S,
 (7) M9L / M202I / Y295F / A339S,
 (8) M9L / M202I / Y295F / A339S / E345R,
 (9) M9L / G149A / M202I / Y295F / A339S / E345R,
 (10) M9L / M202L,
 (11) M9L / M202L / M323T,
 (12) M9L / M202L / M323T / M382Y,
 (13) M9L / M202L / Y295F / A339S,
 (14) M9L / M202L / Y295F,
 (15) M9L / M202L / A339S,
 (16) M9L / M202L / Y295F / A339S,
 (17) M9L / M202L / Y295F / A339S, E345R,
 (18) M9L / G149A / M202L / Y295F / A339S / E345R,
 (19) M9L / M202T,
 (20) M9L / M202T / M323T,
 (21) M9L / M202T / M323T / M382Y,
 (22) M9L / M202T / Y295F / A339S,

ES 2 621 339 T3

- (23) M9L / M202T / Y295F,
- (24) M9L / M202T / A339S,
- (25) M9L / M202T / Y295F / A339S,
- 5 (26) M9L / M202T / Y295F / A339S / E345R,
- (27) M9L / G149A / M202T / Y295F / A339S / E345R,
- (28) M9L / G149A / M202I / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
- (29) M9L / G149A / M202L / V214I / Y295F / M323T / A339S / E345R / M382Y,
- (30) M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / V214I / Y295F / N299Y / M323T / A339S,
- 10 (31) M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / T2571 / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
- (32) M9L / G149A / M202L / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
- (33) M9L / G149A / M202I / V214I / Y295F / M323T / A339S / E345R / M382Y,
- (34) M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / V214I / Y295F / N299Y / M323T / A339S,
- (35) M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / T2571 / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
- 15 (36) M9L / G149A / M202I / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R / N471E,
- (37) M9L / G149A / M202L / V214I / Y295F / M323T / A339S / E345R / M382Y / N471E,
- (38) M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / V214I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / N471E,
- (39) M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / T2571 / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R / N471E,
- (40) M202L / M105F / M208F,
- 20 (41) G133E / M202L / Q361E,
- (42) G133E / M202L / R444E,
- (43) M202L / Y295F,
- (44) M202L / A339S,
- (45) M202L / M323T,
- 25 (46) M202L / M323T / M309L,
- (47) M202L / M323T / M430I,
- (48) M202L / V214T / R444Y,
- (49) M202L / N283D / Q361E,
- (50) M202L 1 M382Y / K383R,
- (51) M202L / K446R / N484Q,
- 30 (52) M202I / Y295F,
- (53) M202I / A339S,
- (54) M202I / M105F / M208F,
- (55) G133E / M202I / Q361 E,
- (56) G133E / M202I / R444E,
- 35 (57) M202I / M323T,
- (58) M202I / M323T / M309L,
- (59) M202I / M323T / M430I,
- (60) M202I / V214T / R444Y,
- (61) M202I / N283D / Q361E,
- 40 (62) M202I / M382Y / K383R,
- (63) M202I / K446R / N484Q,
- (64) M202V / M105F / M208F,
- (65) G133E / M202V / Q361 E,
- (66) G133E / M202V / R444E,
- 45 (67) M202V / M323T,
- (68) M202V / M323T / M309L,
- (69) M202V / M323T / M430I,
- (70) M202V / M323T / M9L,
- (71) M202V / V214T / R444Y,
- 50 (72) M202V / N283D / Q361E,
- (73) M202V / M382Y / K383R,
- (74) M202V / K446R / N484Q,
- (75) M202T / M105F / M208F,
- (76) G133E / M202T / Q361E,
- 55 (77) G133E / M202T / R444E,
- (78) M202T / Y295F,
- (79) M202T / A339S,
- (80) M202T / M323T,
- (81) M202T / M323T / M309L,
- 60 (82) M202T / M323T / M430I,
- (83) M202T / M323T / M9L,
- (84) M202T / V214T / R444Y,
- (85) M202T / N283D / Q361E,
- (86) M202T / A339S,
- 65 (87) M202T / Y295F
- (88) M202T / N299F,Y,

(89) M202T / M382Y / K383R o
 (90) M202T / K446R / N484Q

Entre éstas se prefieren muy especialmente las siguientes variantes de α -amilasa:

5 (10) M9L / M202L,
 (28) M9L / G149A / M202I / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
 (31) M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / T257I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
 (35) M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / T257I / Y295F / N299Y / M323T /
 (38) M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / V214I / Y295F / N299Y / M323T /
 10 (39) M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / T257I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R / N471 E,
 (45) M202L / M323T,
 (46) M202L / M323T / M309L,
 (62) M202I / M382Y / K383R, (68) M202V / M323T / M309L,
 (73) M202V / M382Y / K383R
 15 (82) M202T / M323T / M430I o
 (84) M202T / V214T / R444Y(

c) variante de α -amilasa de acuerdo con (b), que presenta adicionalmente las seis modificaciones de secuencia mencionadas en (a), entre éstas de manera muy especialmente preferente la variante 31 con las seis modificaciones de secuencia mencionadas en (a).

20 De acuerdo con la invención se prefiere muy especialmente la variante de α -amilasa mencionada anteriormente en (a) así como la variante 31 de α -amilasa mencionada en (c) con las seis modificaciones de secuencia mencionadas en (a).

La determinación de la identidad de secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos se realiza mediante una comparación de secuencias. Una comparación de este tipo se realiza debido a que se asignan mutuamente sucesiones similares en las secuencias de nucleótidos o secuencias de aminoácidos. Esta comparación de
 25 secuencia se realiza preferentemente basándose en el algoritmo BLAST establecido en el estado de la técnica y usado habitualmente (véase por ejemplo Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool." J. Mol. Biol. 215:403-410, y Altschul, Stephan F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Hheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997): "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs"; Nucleic Acids Res., 25, pág. 3389-3402) y se
 30 realiza en principio debido a que se asignan mutuamente sucesiones similares de nucleótidos o aminoácidos en las secuencias de ácido nucleico o bien de aminoácidos. Una asignación tabular de las respectivas posiciones se designa como alineamiento. Otro algoritmo disponible en el estado de la técnica es el algoritmo de FASTA. Las comparaciones de secuencias (alineamientos), en particular comparaciones de secuencias múltiples, se elaboran habitualmente con programas informáticos. Con frecuencia se usan habitualmente la serie Clustal (véase por
 35 ejemplo Chenna *et al.* (2003): Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. Nucleic Acid Research 31, 3497-3500), T-Coffee (véase por ejemplo Notredame *et al.* (2000): T-Coffee: A novel method for multiple sequence alignments. J. Mol. Biol. 302, 205-217) o programas que se basan en estos programas o algoritmos. En el contexto de la presente invención se elaboran comparaciones de secuencia y alineamientos preferentemente con el programa informático Vector NTI® Suite 10.3 (Invitrogen Corporation, 1600 Faraday Avenue,
 40 Carlsbad, California, EE.UU.) con los parámetros (por defecto) estándares predeterminados.

Una comparación de este tipo permite una afirmación sobre la semejanza de las secuencias comparadas una con respecto a otra. Ésta se indica habitualmente en porcentaje de identidad, es decir la proporción de los nucleótidos idénticos o restos de aminoácidos en las mismas posiciones o bien en posiciones que corresponden mutuamente a un alineamiento. El término comprendido posteriormente de la homología tienen en consideración, en caso de
 45 secuencias de aminoácidos, conjuntamente intercambios de aminoácidos conservados, o sea aminoácidos con propiedades similares, dado que éstos ejercen dentro de la proteína en la mayoría de los casos actividades o funciones similares. Por tanto puede estar indicada la semejanza de las secuencias comparadas también por porcentaje de homología o porcentaje de semejanza. Las indicaciones de identidad y/o homología pueden encontrarse por todos los polipéptidos o genes o solo por regiones individuales. Las regiones homologas o bien
 50 idénticas de distintas secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos están definidas por tanto mediante coincidencias en las secuencias. Éstas presentan con frecuencia funciones iguales o similares. Éstas pueden ser pequeñas y comprender solo algunos nucleótidos o bien aminoácidos. Con frecuencia, tales regiones pequeñas ejercen funciones esenciales para la actividad total de la proteína. Por tanto puede ser práctico que las coincidencias de secuencias hagan referencia solo a regiones individuales, eventualmente pequeñas. En tanto que no se indique
 55 lo contrario, las indicaciones de identidad o bien de homología en la presente solicitud se refieren sin embargo a la longitud total de la secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos en cada caso indicada.

En otra forma de realización de la invención, un lavavajillas de acuerdo con la invención está caracterizado además porque su potencia de limpieza corresponde al menos a aquélla de un lavavajillas líquido que contiene una proteasa de acuerdo con SEQ ID NO. 2. La potencia de limpieza se determina en un sistema de lavado que contiene un
 60 lavavajillas líquido que contiene amilasa en una dosificación entre 4,0 y 11,0 gramos por litro de baño de limpieza así

5 como la proteasa, usándose las proteasas que van a compararse a igual concentración (con respecto a la proteína activa) y se determina la potencia de limpieza con respecto a una suciedad de carne picada y/o una suciedad de yema de huevo en la vajilla mediante determinación del residuo remanente de la respectiva suciedad tras el proceso de limpieza, realizándose el proceso de limpieza durante al menos 30 minutos, preferentemente 60 minutos, a una temperatura de 50 °C y presentando el agua una dureza del agua entre 20 y 22 °dH (dureza alemana), preferentemente 21 °dH.

En el caso del lavavajillas para el sistema de lavado se trata preferentemente de un lavavajillas a máquina líquido de dos fases, que está compuesto tal como sigue (todas las indicaciones en porcentaje en peso):

(a) Fase enzimática:

ayudante	15,0-20,0
alcohol de azúcar	8,0-12,0
tensioactivo no iónico (etoxilato de alcohol graso C8-C10 con 22 OE)	3,0-5,0
compuesto alcalino (base)	3,0-4,0
ácido bórico	2,5-3,5
fosfonato (HEDP)	1,5-2,5
amilasa	1,0-2,0
proteasa	véase el documento
sal de Ca	0,8-1,2
sal de Zn	0,15-0,25
agente espesante	0,8-1,2
colorante, perfume, conservante	0,25-0,5
agua	hasta 100

10 En el caso de la amilasa se trata preferentemente de la preparación de una variante de α -amilasa que presenta en comparación con la α -amilasa AA560 de acuerdo con SEQ ID NO. 3 las siguientes modificaciones de secuencia en la enumeración de la α -amilasa AA560: R118K, D183* (delección), G184* (delección), N195F, R320K, R458K (empresa Novozymes).

15 (b) Fase alcalina:

ayudante	7,5-12,5
carbonato de sodio	7,5-12,5
sulfopolímero	5,0-8,0
compuesto alcalino (base)	3,0-5,0
monoetanolamina	2,0-4,0
fosfonato (HEDP)	2,0-5,0
agente espesante	0,8-1,2
colorante, perfume, conservante	0,25-0,5
agua	hasta 100

La proteasa está presente en el agente en una concentración del 0,01-1 % en peso, preferentemente del 0,1 % al 0,5 % en peso, con respecto a la proteína activa. Durante un ciclo de lavado en la máquina lavavajillas se dosifican ambas fases en partes iguales (en cada caso 20 g por fase).

20 Se lava en un intervalo de valor de pH entre pH 9 y pH 10 en una máquina lavavajillas habitual, por ejemplo una máquina lavavajillas G698SC de la empresa Miele. Ni la actividad proteasa ni la actividad amilasa son en el baño de limpieza igual a cero al inicio del lavado.

La evaluación de la potencia de limpieza se realiza de acuerdo con el procedimiento IKW estándar visualmente por medio de una escala de 1 a 10, siendo el valor 10 la mejor nota (ningún residuo distinguible).

25 De manera especialmente preferente se realiza la determinación de la potencia de limpieza en una máquina lavavajillas frente a una suciedad de carne picada y una suciedad de yema de huevo en la vajilla usando un lavavajillas a máquina líquido de dos fases, tal como se ha descrito anteriormente.

30 En otra forma de realización de la invención, un lavavajillas de acuerdo con la invención está caracterizado además porque su estabilidad en almacenamiento corresponde al menos a aquella de un lavavajillas que contiene una proteasa de acuerdo con SEQ ID NO. 2. Una estabilidad en almacenamiento de este tipo existe cuando el lavavajillas de acuerdo con la invención presenta tras un almacenamiento de cuatro semanas a 40 °C una potencia de limpieza igual o más alta que el lavavajillas que va a usarse como comparación, diferenciándose el agente de acuerdo con la invención del lavavajillas que va a usarse como comparación solo por la proteasa contenida.

De manera especialmente preferente, en el caso del agente que va a usarse para la comparación se trata de un lavavajillas a máquina líquido de dos fases tal como se ha indicado anteriormente, determinándose la potencia de limpieza tal como se ha indicado anteriormente.

5 Al inicio del almacenamiento, los dos agentes que van a compararse presentan la misma actividad de partida amilolítica, contienen la proteasa en la misma concentración con respecto a la enzima activa y los dos agentes se tratan de la misma manera. La actividad proteolítica en los agentes se determina en cada caso a través de la liberación del cromóforo para-nitroanilina (pNA) del sustrato suc-AAPF-pNA, y su actividad amilolítica se determina en cada caso tal como ha indicado anteriormente. Las actividades de partida para la proteasa y la amilasa en el respectivo agente no son igual a cero.

10 Mediante el uso en cada caso de igual actividad de la amilasa y el uso de igual concentración de las proteasas, con respecto a la proteína activa, se garantiza que también en una posible divergencia de la proporción de sustancia activa con respecto a proteína total (los valores de la actividad específica) se comparen las propiedades enzimáticas realmente existentes.

15 En tanto que no se indique lo contrario se hace referencia en el contexto de la presente invención en cada caso al peso del lavavajillas líquido, es decir las indicaciones son con respecto a su peso.

20 Numerosas proteasas y en particular subtilisinas se forman como las denominadas preproteínas, o sea junto con un propéptido y un péptido señal, consistiendo la función del péptido señal habitualmente en garantizar la descarga de la proteasa fuera de la célula que la produce en el periplasma o el medio que rodea la célula, y el propéptido es necesario habitualmente para el correcto plegamiento de la proteasa. El péptido señal y el propéptido son por regla general la parte N-terminal de la preproteína. El péptido señal se disocia en condiciones naturales mediante una señal peptidasa del resto de la proteasa. A continuación se realiza el plegamiento definitivo correcto de la proteasa soportado por el propéptido. La proteasa está entonces en su forma activa y disocia el propio propéptido. Tras la disociación del propéptido, la proteasa entonces madura, en particular subtilisina, ejerce su actividad catalítica sin los aminoácidos N-terminales existentes originariamente. Para aplicaciones técnicas generalmente y en particular en el contexto de la invención se prefieren las proteasas maduras, es decir las enzimas procesadas tras su preparación, en comparación con las preproteínas. Las proteasas pueden modificarse además por las células que las producen tras la preparación de la cadena polipeptídica, por ejemplo mediante conexión de moléculas de azúcar, formilaciones, aminaciones, etc. Tales modificaciones son modificaciones postraduccionales y pueden, sin embargo no deben ejercer ninguna influencia sobre la función de la proteasa.

30 Además puede estar enlazada también la proteasa madura en su extremo N-terminal y/o C-terminal, de modo que esté contenida una proteasa acortada en comparación con SEQ ID NO. 1 o bien SEQ ID NO. 2, o sea un fragmento, en el lavavajillas de acuerdo con la invención. Todas las indicaciones de identidad se refieren en este caso a aquella región en la que está asignado el respectivo fragmento en un alineamiento de SEQ ID NO. 1. El respectivo fragmento contiene sin embargo en cualquier caso las posiciones que van a modificarse de acuerdo con la invención, o sea posiciones que están asignadas a las posiciones 3, 4, 193, 199 y 211 en un alineamiento con SEQ ID NO. 1, y presenta en este caso correspondientes modificaciones tal como se prevén de acuerdo con la invención. Además, un fragmento de este tipo es proteolíticamente activo. Un fragmento más preferente con respecto a esto comprende una secuencia de aminoácidos que coincide por una longitud de al menos 100 o al menos 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 265 o 266 posiciones de aminoácidos continuas con SEQ ID NO. 1 o SEQ ID NO. 2 considerando los aminoácidos mencionados anteriormente para la posición 211 y además para las posiciones 3 y 4 y 193 y 199, eventualmente además para las posiciones 99 y/o 188. De manera especialmente preferente corresponde la potencia de limpieza y/o estabilidad en almacenamiento de un lavavajillas líquido de acuerdo con la invención con un fragmento de este tipo al menos a aquella de un lavavajillas que contiene una proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que corresponde a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 2, en cada caso determinada tal como se ha indicado anteriormente.

45 Un agente de acuerdo con la invención contiene la proteasa cada vez más preferentemente en una cantidad de 1×10^{-8} -5 % en peso, del 0,0001-3 % en peso, del 0,0005-1 % en peso, del 0,001 % al 0,75 % en peso y de manera especialmente preferente del 0,005 % al 0,5 % en peso, con respecto a la proteína activa. Un agente de acuerdo con la invención contiene la amilasa cada vez más preferentemente en una cantidad del 1×10^{-8} -5 % en peso, del 0,0001-3 % en peso, del 0,0005-1 % en peso, del 0,001 % al 0,75 % en peso y de manera especialmente preferente del 0,005 % al 0,5 % en peso, con respecto a la proteína activa. La concentración de proteína puede determinarse con ayuda de procedimientos conocidos, por ejemplo el procedimiento BCA (ácido bicinónico; ácido 2,2'-biquinolil-4,4'-dicarboxílico) o el procedimiento biuret (A. G. Gornall, C. S. Bardawill y M.M. David, J. Biol. Chem., 177 (1948), pág. 751-766). La determinación de la concentración de proteína activa se realiza con respecto a esto por medio de una titulación de los centros activos usando un inhibidor irreversible adecuado (para proteasas por ejemplo fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF)) y determinación de la actividad residual (véase M. Bender *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 88, 24 (1966), pág. 5890-5913).

60 La proteasa y/o la amilasa pueden estar adsorbidas además en sustancias de soporte y/o pueden estar incrustadas en sustancias de envoltura para protegerse contra la inactivación anticipada. En el baño de limpieza, o sea en condiciones de aplicación, se libera entonces la enzima y puede desarrollar su acción catalítica.

En otra forma de realización de la invención, el lavavajillas está caracterizado porque éste comprende además un componente que se selecciona de

- i. sustancia aniónica y/o polianiónica, y/o
- 5 ii. sustancia catiónica y/o policatiónica, y/o
- 5 iii. sustancia que presenta grupo(s) hidroxilo y/o polihidroxilo.

Se determinó que la adición de tales sustancias mejora adicionalmente la potencia de limpieza de lavavajillas, en particular de lavavajillas líquidos que contienen proteasas y amilasas, en particular aquéllas tal como se han descrito anteriormente. En particular en combinación con una proteasa que va a usarse de acuerdo con la invención se produce una acción sinérgica, sobre todo en cuanto a la separación de al menos una suciedad sensible a proteasa, en particular una tal como se ha descrito anteriormente.

En el caso de las sustancias indicadas anteriormente en i. se trata de sustancias aniónicas o polianiónicas, es decir estas sustancias llevan al menos una y preferentemente varias cargas negativas. Preferentemente se trata de un polímero con al menos un monómero cargado negativamente, preferentemente con varios monómeros cargados negativamente. De acuerdo con la invención preferentemente es este polímero por tanto un polímero cargado negativamente. Se prefieren por ejemplo polímeros de ácidos orgánicos o bien sus sales, en particular poliácridatos y/o poli(ácidos sacáricos) y/o copolímeros de poliácridato y/o copolímeros de poli-azúcar. Con respecto a esto, otros compuestos preferentes son poliácridilsulfonatos o policarboxilatos y sus sales, copolímeros o sales de los copolímeros.

Ejemplos de sustancias que van a usarse de manera especialmente preferente son Acusol 587D (poliácridilsulfonato; empresa Rohm & Haas/Dow Chemical), Acusol 445N (sal de sodio de policarboxilato; empresa Rohm & Haas/Dow Chemical), Acusol 590 (copolímero de poliácridato; empresa Rohm & Haas/Dow Chemical), Acusol 916 (sal de sodio de poliácridato; empresa Rohm & Haas/Dow Chemical), Sokalan CP42 (sal de sodio de policarboxilato modificado; empresa BASF), Sokalan PA 30CL (sal de sodio de policarboxilato; empresa BASF), Dequest P 9000 (poli(ácido maleico); empresa Thermphos), ácido alginico, poli(ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propansulfónico), sal de sodio de poli(ácido 4-estirenosulfónico-co-ácido maleico), sal de sodio de poliácridilamido-co-ácido acrílico, sal de sodio de poli(ácido metacrílico), poli-metil vinil éter-co-ácido maleico o sal de sodio de poli(ácido vinilsulfónico).

En el caso de las sustancias indicadas en ii. se trata de sustancias catiónicas o policatiónicas, es decir estas sustancias llevan al menos una y preferentemente varias cargas positivas. Preferentemente se trata de un polímero con al menos un monómero cargado positivamente, preferentemente con varios monómeros cargados positivamente. De acuerdo con la invención preferentemente es este polímero por tanto un polímero cargado positivamente. Ejemplos de compuestos preferentes con respecto a esto son sales de las poliaminas, polietileniminas o bien sus copolímeros, sales de las polialilaminas, sales de los compuestos de polidialildimetilamonio o compuestos de poli(acrilamida-co-dialildimetilamonio).

En el caso de las sustancias indicadas en iii. se trata de sustancias que presentan al menos un grupo hidroxilo y/o polihidroxilo y preferentemente varios grupos hidroxilo y/o polihidroxilo. Se prefieren con respecto a esto por ejemplo poli(alcoholes vinílicos), por ejemplo aquéllos que están disponibles con el nombre comercial Mowiol (empresa Kremer Pigmente GmbH & Co. KG).

En este punto se indica expresamente que una sustancia concreta puede pertenecer a uno o varios de los grupos mencionados anteriormente i. a iii. Por ejemplo puede tratarse de un polímero aniónico, que presenta uno o varios grupos hidroxilo y/o polihidroxilo. Una sustancia de este tipo pertenece entonces a los grupos i. y iii. Del mismo modo, un polímero catiónico que presenta uno o varios grupos hidroxilo y/o polihidroxilo pertenece a los grupos ii. y iii.

En el contexto de la presente invención igualmente pueden usarse derivados de las sustancias mencionadas anteriormente como pertenecientes a i., ii. o iii. Por un derivado se entiende en el sentido de la presente solicitud una sustancia de este tipo que se ha modificado químicamente partiendo de una de las sustancias mencionadas anteriormente, por ejemplo mediante la conversión de una cadena lateral o mediante enlace covalente de otro compuesto en la sustancia. En el caso de un compuesto de este tipo puede tratarse por ejemplo de compuestos de bajo peso molecular tales como lípidos o mono-, oligo- o polisacáridos o aminas o bien compuestos de amino. Además, la sustancia puede estar die glicosilada, hidrolizada, oxidada, N-metilada, N-formilada, N-acetilada o puede contener metilo, formilo, etilo, acetilo, t-butilo, anisilo, bencilo, trifluoroacetilo, N-hidroxisuccinimida, t-butiloxicarbonilo, benzóilo, 4-metilbencilo, tioanizilo, tiocresilo, benciloximetilo, 4-nitrofenilo, benciloxicarbonilo, 2-nitrobenzóilo, 2-nitrofenilsulfenilo, 4-toluensulfonilo, pentafluorofenilo, difenilmetilo, 2-clorobenciloxicarbonilo, 2,4,5-triclorofenilo, 2-bromobenciloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, trifenilmetilo, 2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonilo. Del mismo modo ha de entenderse por un derivado el enlace covalente o no covalente de la sustancia en un vehículo macromolecular, así como también una inclusión no covalente en estructuras de tipo jaula macromoleculares adecuadas. También pueden realizarse acoplamientos con otros compuestos macromoleculares, tal como por ejemplo polietilenglicol. Otras modificaciones químicas preferentes son la modificación de uno o varios de los grupos químicos -COOH, -OH, =NH, -NH₂ -SH para dar -COOR, -OR, -NHR, -NR₂, -NHR, -NR, -SR; en los que:

R es $-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}_2$, $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}_2$, $-\text{C}(\text{R}_2)=\text{CH}_2$, $-\text{C}(\text{R}_2)=\text{C}(\text{R}_3)$, $-\text{CH}=\text{NR}_2$, $-\text{C}(\text{R}_2)=\text{N}-\text{R}_3$, un sistema de anillo de 4-7 C con o sin sustitución, un heterociclo de 4-7 nitrógenos con o sin sustitución, o una cadena C_2 a C_8 con 1 a 5 enlaces dobles o triples con sustituciones seleccionadas de R_1 , R_2 , o R_3 , en los que

5 $-\text{R}_1$ es H, $-\text{R}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, sustituyente de haluro, $-\text{alquilo C1-8}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{R}_2$, $-\text{alquenil C2-8-CO}_2\text{R}_2$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{R}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_2\text{R}_3$, $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}_2)_2$, tetrazol-5-ilo sustituido con alquilo, $-(\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CH}_2)_n$, arilo, $-\text{NR}_2\text{R}_3$, $-(\text{CH}_2)_n\text{OR}_2$, $-(\text{CH}_2)_n\text{SR}_2$, $-\text{N}(\text{R}_2)\text{C}(\text{O})\text{R}_3$, $-\text{S}(\text{O}_2)\text{NR}_2\text{R}_3$, $-\text{N}(\text{R}_2)\text{S}(\text{O}_2)\text{R}_3$, $-(\text{CHR}_2)_n\text{NR}_2\text{R}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}_3$, $(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{R}_3)\text{C}(\text{O})\text{R}_3$, $-\text{N}(\text{R}_2)\text{CR}_2\text{R}_3$, $(\text{CH}_2)_n$ -cicloalquilo sustituido o no sustituido, $(\text{CH}_2)_n$ -fenilo sustituido o no sustituido, o -ciclo; en los que n es un número mayor que 1;

10 $-\text{R}_2$ es H, sustituyente de haluro, $-\text{alquilo}$, $-\text{haloalquilo}$, $-(\text{CH}_2)_n$ -fenilo, $-(\text{CH}_2)_1$ -3-bifenilo, $-(\text{CH}_2)_1$ -4-Ph-N(SO_2 -alquil(C1-2)) $_2$, $-\text{CO}(\text{CHR}_1)_n\text{-OR}_1$, $-(\text{CHR}_1)_n$ -heterociclo, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-NH-CO-R}_1$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-NH-SO}_2\text{R}_1$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-Ph-N}(\text{SO}_2\text{-alquil(C1-2)})_2$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-C}(\text{O})(\text{CHR}_1)\text{-NHR}_1$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-C}(\text{S})(\text{CHR}_1)\text{-NHR}_1$, $-(\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $-\text{CF}_3$, $-\text{acilo C}_2\text{-C}_5$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{OH}$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{CO}_2\text{R}_1$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-O-alquilo}$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-O}(\text{CH}_2)_n\text{-O-alquilo}$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-S-alquilo}$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-S}(\text{O})\text{-alquilo}$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-S}(\text{O}_2)\text{-alquilo}$, $-(\text{CHR}_1)_n\text{-S}(\text{O}_2)\text{-NHR}_3$, $-(\text{CHR}_3)_n\text{-N}_3$, $-(\text{CHR}_3)_n\text{NHR}_4$, una cadena C_2 a C_8 cadena de alqueno con 1 a 5 enlaces dobles, una cadena C_2 a C_8 cadena de alquino con 1 a 5 enlaces triples, $-(\text{CHR}_3)_n$ -heterociclo sustituido o no sustituido, $-(\text{CHR}_3)_n$ -cicloalquilo sustituido o no sustituido saturado o no saturado; siendo n un número mayor de 1 y pudiendo ser R_1 y R_3 iguales o distintos;

15 $-\text{R}_3$ es H, $-\text{OH}$, $-\text{CN}$, alquilo sustituido, $-\text{alqueno C}_2$ a C_8 , cicloalquilo sustituido o no sustituido, $-\text{N}(\text{R}_1)\text{R}_2$, heterociclo C_5 a C_7 saturado o no saturado o heterobiciclo de 4 a 7 átomos de C, $-\text{NR}_1$, $-\text{NR}_2$, $-\text{NR}_1\text{R}_2$ que está constituido por un heterociclo saturado o no saturado o un heterobiciclo de 4 a 7 átomos de C;

20 $-\text{R}_4$ es H, $-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_5$, $-\text{C}(\text{O})\text{SR}_5$, $-(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{O})\text{NR}_6\text{R}_7$, $-\text{O-C}(\text{O})\text{-O-R}_6$, un aminoácido o un péptido; siendo n un número entre 0 y 4;

$-\text{R}_5$ es H,

$-\text{R}_6$ es $-\text{C}(\text{R}_7)\text{-}(\text{CH}_2)_n\text{-O-C}(\text{O})\text{-R}_8$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C}(\text{R}_7)\text{-O-C}(\text{O})\text{R}_8$, $-(\text{CH}_2)_n\text{-C}(\text{R}_7)\text{-O-C}(\text{O})\text{-O-R}_8$, o $-\text{C}(\text{R}_7)\text{-}(\text{CH}_2)_n\text{-O-C}(\text{O})\text{-O-R}_8$; siendo n un número entre 0 y 4; y

25 $-\text{R}_7$ y R_8 son en cada caso H, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido o CH_2CO_2 alquilo, pudiendo ser R_7 y R_8 iguales o distintos.

De acuerdo con la invención es además posible usar todas las combinaciones posibles de las sustancias mencionadas anteriormente como pertenecientes a i., ii. o iii. y/o sus derivados.

30 Un lavavajillas de acuerdo con la invención líquido puede usarse como tal o tras diluir con agua para la limpieza de superficies duras. Una dilución de este tipo puede prepararse fácilmente, diluyéndose una cantidad medida del agente en otra cantidad de agua en determinadas proporciones en peso de agente : agua y opcionalmente se agita esta dilución para garantizar una distribución uniforme del agente en agua. Las posibles proporciones en peso o en volumen de las diluciones son de 1:0 de agente : agua a 1:10000 o 1:20000 de agente : agua, preferentemente de 1:10 a 1:2000 de agente : agua.

Como lavavajillas líquido pueden servir en este caso todas las formas de presentación líquidas o que pueden fluir. "Que pueden fluir" en el sentido de la presente solicitud son a este respecto agentes que pueden verterse y pueden presentar viscosidades hasta de varios 10.000 mPas. La viscosidad puede medirse con procedimientos estándares habituales (por ejemplo viscosímetro Brookfield LVT-II a 20 r/min y 20 °C, husillo 3) y se encuentra preferentemente en el intervalo de 5 a 30000 mPas. Los agentes preferentes tienen viscosidades de 10 a 15000 mPas, prefiriéndose especialmente valores entre 120 a 8000 mPas. Un lavavajillas líquido en el contexto de la presente invención puede ser por tanto también en forma de gel o en forma de pasta, éste puede encontrarse como solución o suspensión homogénea o puede estar preparado en otras formas de presentación habituales.

45 En otra forma de realización de la invención, un lavavajillas de acuerdo con la invención comprende además al menos otra sustancia constitutiva que se selecciona del grupo que está constituido por sustancia soporte, tensoactivo, polímero aniónico así como combinaciones de los mismos. En otra forma de realización de la invención, un lavavajillas de acuerdo con la invención está libre de fosfato. Los lavavajillas libres de fosfato de acuerdo con la invención son ventajosos en particular por aspectos medioambientales.

50 Preferentemente se ajustan entre sí las sustancias constitutivas de los agentes. Se prefieren sinergias en cuanto a la potencia de limpieza y/o la potencia de aclarado y/o la inhibición de depósito. Se prefieren especialmente sinergias que están presentes en un intervalo de temperatura entre 10 °C y 60 °C, en particular en un intervalo de temperatura de 20 °C a 55 °C, de 25 °C a 50 °C y de 30 °C a 50 °C.

Al grupo de las sustancias soporte (ayudantes) preferentes pertenecen en particular los citratos así como los carbonatos y los coayudantes orgánicos. La denominación "citrato" comprende a este respecto de igual modo el ácido cítrico como también sus sales, en particular sus sales de metal alcalino. Los lavavajillas de acuerdo con la invención especialmente preferentes, en particular lavavajillas a máquina, contienen ácido cítrico y citrato, preferentemente citrato de sodio, en cantidades del 5 % al 60 % en peso, preferentemente del 10 % al 50 % en peso y en particular del 15 % al 40 % en peso.

60 Se prefiere especialmente el uso de carbonato(s) y/o hidrogenocarbonato(s), preferentemente carbonato(s) alcalino(s), de manera especialmente preferente carbonato de sodio, en cantidades del 5 % al 50 % en peso,

preferentemente del 10 % al 40 % en peso y en particular del 15 % al 30 % en peso, en cada caso con respecto al peso del lavavajillas.

Como coayudante orgánico pueden mencionarse en particular policarboxilatos / ácidos policarboxílicos y fosfonatos. Estas clases de sustancias se describen a continuación.

- 5 Las sustancias soporte orgánicas útiles son por ejemplo los ácidos policarboxílicos que pueden usarse en forma del ácido libre y/o de sus sales de sodio, entendiéndose por ácidos policarboxílicos aquellos ácidos carboxílicos que llevan más de una función ácido. Por ejemplo son éstos ácido adípico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido málico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido fumárico, ácidos sacáricos, ácidos aminocarboxílicos, ácido nitrilotriacético (NTA) así como mezclas de éstos. Los ácidos libres tienen además de su acción de ayudante habitualmente también la propiedad de un componente de acidificación y sirven por consiguiente también para el ajuste de un valor de pH más bajo y más moderado de agentes de acuerdo con la invención. En particular pueden mencionarse según esto ácido succínico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido glucónico y mezclas discrecionales de estos.

- 10 Los fosfonatos formadores de complejo comprenden además del ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico una serie de distintos compuestos tales como por ejemplo ácido dietilentiáminopenta(metilenfosfónico) (DTPMP). En esta solicitud se prefieren en particular hidroxialcano- o aminoalcanofosfonatos. Entre los hidroxialcanofosfonatos es especialmente importante el 1-hidroxietano-1,1-difosfonato (HEDP) como coayudante. Éste se usa preferentemente como sal de sodio, reaccionando la sal de disodio de manera neutra y la sal de tetrasodio de manera alcalina (pH 9). Como aminoalcanofosfonatos se tienen en cuenta preferentemente etilendiamintetrametilenfosfonato (EDTMP), dietilentiáminopentametilenfosfonato (DTPMP) así como sus homólogos superiores. Éstos se usan preferentemente en forma de las sales de sodio que reaccionan de manera neutra, por ejemplo como sal de hexasodio de EDTMP o bien como sal de heptasodio y octasodio de DTPMP. Como ayudante se usa a este respecto de la clase de los fosfonatos preferentemente HEDP. Los aminoalcanofosfonatos tienen además una marcada capacidad de unión de metales pesados. De manera correspondiente a esto puede preferirse, en particular cuando los agentes contienen también agentes blanqueadores, usar aminoalcanofosfonatos, en particular DTPMP, o usar mezclas de los fosfonatos mencionados.

Un lavavajillas preferente en el contexto de esta solicitud, en particular lavavajillas a máquina, contiene uno o varios fosfonatos del grupo

- 30 a) ácido aminotrimetilenfosfónico (ATMP) y/o sus sales;
 b) ácido etilendiamintetra(metilenfosfónico) (EDTMP) y/o sus sales;
 c) ácido dietilentiáminopenta(metilenfosfónico) (DTPMP) y/o sus sales;
 d) ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico (HEDP) y/o sus sales;
 e) ácido 2-fosfonobutano-1,2,4-tricarboxílico (PBTC) y/o sus sales;
 f) ácido hexametildiamintetra(metilenfosfónico) (HDTMP) y/o sus sales;
 g) ácido nitrilotri(metilenfosfónico) (NTMP) y/o sus sales.

- 35 Se prefieren especialmente lavavajillas a máquina que contienen como fosfonatos ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico (HEDP) o ácido dietilentiáminopenta(metilenfosfónico) (DTPMP).

Además, los lavavajillas de acuerdo con la invención, en particular lavavajillas a máquina, pueden contener dos o más fosfonatos distintos.

- 40 La proporción en peso de los fosfonatos en el peso total de los lavavajillas de acuerdo con la invención, en particular lavavajillas a máquina, asciende preferentemente a del 1 % al 8 % en peso, preferentemente a del 1,2 % al 6 % en peso y en particular a del 1,5 % al 4 % en peso.

Los lavavajillas de acuerdo con la invención, en particular lavavajillas a máquina, pueden contener un tensioactivo o varios tensioactivos, teniendo en cuenta en particular tensioactivos aniónicos, tensioactivos no iónicos y sus mezclas.

- 45 Entre los tensioactivos aniónicos se prefieren aquéllos que presentan al menos un grupo sulfato o sulfonato. El tensioactivo aniónico con al menos un grupo sulfato o sulfonato se selecciona preferentemente de sulfatos de alcoholes grasos, alcanosulfonatos y alquilbencenosulfonatos. Se prefieren a este respecto sulfatos de alcoholes grasos C₁₂-C₁₈ (FAS), por ejemplo Sulfopon K 35 (Cognis, Alemania), alcano(C₁₃-C₁₇)sulfonatos secundarios (SAS), por ejemplo Hostapur SAS 93 (Clariant, Alemania), así como alquil(C₈-C₁₈)bencenosulfonatos lineales, en particular dodecilmecenosulfonato (LAS).

De acuerdo con la invención comprenden los términos "sulfato" y "sulfonato" además de los respectivos compuestos aniónicos que se encuentran en forma de sales, también los ácidos libres, o sea los correspondientes ácidos alquilsulfúricos o ácidos alquilsulfónicos.

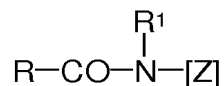
- 55 Preferentemente está contenido el tensioactivo aniónico con al menos un grupo sulfato o sulfonato en lavavajillas de acuerdo con la invención en una cantidad del 0,1 % al 20 % en peso, de manera especialmente preferente del 0,5 % al 15 % en peso, en particular del 2,5 % al 10 % en peso.

Como tensioactivos no iónicos pueden usarse todos los tensioactivos no iónicos conocidos por el experto. Como tensioactivos no iónicos son adecuados por ejemplo alquiliglicósidos de fórmula general $RO(G)_x$, en la que R corresponde a un resto alifático primario de cadena lineal o ramificado con metilo, en particular ramificado con metilo en la posición 2 con 8 a 22, preferentemente de 12 a 18 átomos de C y G es el símbolo que representa una unidad de glicósido con 5 o 6 átomos de C, preferentemente representa glucosa. El grado de oligomerización x, que indica la distribución de monoglicósidos y oligoglicósidos, es un número discrecional entre 1 y 10; preferentemente x se encuentra en de 1,2 a 1,4.

Otra clase de tensioactivos no iónicos usados preferentemente que se usan o bien como único tensioactivo no iónico o en combinación con otros tensioactivos no iónicos son ésteres alquílicos de ácidos grasos alcoxilados, preferentemente etoxilados o etoxilados y propoxilados, preferentemente con 1 a 4 átomos de carbono en la cadena de alquilo.

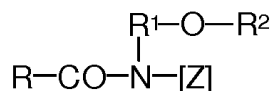
También pueden ser adecuados tensioactivos no iónicos del tipo de los óxidos de amina, por ejemplo óxido de N-coco-alkuil-N,N-dimetilamina y óxido de N-sebo-alkuil-N,N-dihidroxiethylamina, y de las alcanolamidas de ácidos grasos. La cantidad de estos tensioactivos no iónicos asciende preferentemente a no más de la de los alcoholes grasos etoxilados, en particular a no más de la mitad de la misma.

Otros tensioactivos adecuados son amidas de ácidos polihidroxi grasos de fórmula,



en la que R representa un resto acilo alifático con 6 a 22 átomos de carbono, R^1 representa hidrógeno, un resto alquilo o hidroxialquilo con 1 a 4 átomos de carbono y [Z] representa un resto polihidroxi alquilo lineal o ramificado con 3 a 10 átomos de carbono y de 3 a 10 grupos hidroxilo. En el caso de las amidas de ácidos polihidroxi grasos se trata de sustancias conocidas que pueden obtenerse habitualmente mediante aminación reductora de un azúcar reductor con amoníaco, una alquilamina o una alcanolamina y posterior acilación con un ácido graso, un éster alquílico de ácido graso o un cloruro de ácido graso.

Al grupo de las amidas de ácidos polihidroxi grasos pertenecen también compuestos de fórmula



en la que R representa un resto alquilo o alqueno lineal o ramificado con 7 a 12 átomos de carbono, R^1 representa un resto alquilo lineal, ramificado o cíclico o un resto arilo con 2 a 8 átomos de carbono y R^2 representa un resto alquilo lineal, ramificado o cíclico o un resto arilo o un resto oxi-alquilo con 1 a 8 átomos de carbono, prefiriéndose restos alquilo C_{1-4} o restos fenilo y [Z] representa un resto polihidroxi alquilo lineal, cuya cadena de alquilo está sustituida con al menos dos grupos hidroxilo, o derivados alcoxilados, preferentemente etoxilados o propoxilados de estos restos.

[Z] se obtiene preferentemente mediante aminación reductora de un azúcar, por ejemplo glucosa, fructosa, maltosa, lactosa, galactosa, manosa o xilosa. Los compuestos sustituidos con N-alcoxilo o N-ariloxilo pueden convertirse en las deseadas amidas de ácidos polihidroxi grasos mediante reacción con ésteres metílicos de ácidos grasos en presencia de un alcóxido como catalizador.

Como tensioactivos preferentes se usan tensioactivos no iónicos de formación de espuma débil. Con especial preferencia contienen los agentes de lavado o de limpieza, en particular agentes de limpieza para el lavado de la vajilla y entre esto preferentemente el lavado de la vajilla a máquina, tensioactivos no iónicos del grupo de los alcoholes alcoxilados. Como tensioactivos no iónicos se usan preferentemente alcoholes alcoxilados, ventajosamente etoxilados, en particular primarios con preferentemente de 8 a 18 átomos de C y en promedio de 1 a 12 mol de óxido de etileno (OE) por mol de alcohol, en los que el resto alcohol puede ser lineal o preferentemente ramificado con metilo en la posición 2 o puede contener restos lineales y ramificados con metilo en mezcla, tal como se encuentran habitualmente en restos oxoalcohol. En particular se prefieren, sin embargo, etoxilatos de alcohol con restos lineales de alcoholes de origen natural con 12 a 18 átomos de C, por ejemplo de alcohol de coco, alcohol de palma, alcohol graso de sebo o alcohol oleílico, y en promedio de 2 a 8 mol de OE por mol de alcohol. A los alcoholes etoxilados preferentes pertenecen por ejemplo alcoholes C_{12-14} con 3 OE o 4 OE, alcoholes C_{9-11} con 7 OE, alcoholes C_{13-15} con 3 OE, 5 OE, 7 OE u 8 OE, alcoholes C_{12-18} con 3 OE, 5 OE o 7 OE y mezclas de éstos, tales como mezclas de alcohol C_{12-14} con 3 OE y alcohol C_{12-18} con 5 OE. Los grados de etoxilación indicados representan valores promedio estadísticos que para un producto especial pueden ser un número entero o un número quebrado. Los etoxilatos de alcohol preferentes presentan una distribución de homólogos reducida (*narrow range ethoxylates*, NRE). De manera adicional a estos tensioactivos no iónicos pueden usarse también alcoholes grasos con más de 12 OE. Ejemplos de ello son alcohol graso de sebo con 14 OE, 25 OE, 30 OE o 40 OE.

5 Con especial preferencia se usan por tanto tensioactivos no iónicos etoxilados, que se obtuvieron a partir de monohidroalcanoles C₆₋₂₀ o alquilfenoles C₆₋₂₀ o alcoholes grasos C₁₆₋₂₀ y más de 12 mol, preferentemente más de 15 mol y en particular más de 20 mol óxido de etileno por mol de alcohol. Un tensioactivo no iónico especialmente preferente se obtiene a partir de un alcohol graso de cadena lineal con 16 a 20 átomos de carbono (alcohol C₁₆₋₂₀), preferentemente un alcohol C₁₈ y al menos 12 mol, preferentemente al menos 15 mol y en particular al menos 20 mol de óxido de etileno. Entre éstos se prefieren especialmente los denominados "etoxilatos de intervalo estrecho".

Con especial preferencia se usan además tensioactivos que contienen uno o varios alcoholes grasos de sebo con 20 a 30 OE en combinación con un desespumante de silicona.

10 En particular se prefieren tensioactivos no iónicos que presentan un punto de fusión por encima de la temperatura ambiente. El (los) tensioactivo(s) no iónico(s) con un punto de fusión por encima de 20 °C, preferentemente por encima de 25 °C, de manera especialmente preferente entre 25 °C y 60 °C y en particular entre 26,6 °C y 43,3 °C, se prefiere(n) especialmente.

15 Los tensioactivos no iónicos adecuados que presentan puntos de fusión o de ablandamiento en el intervalo de temperatura mencionado son por ejemplo tensioactivos no iónicos de formación de espuma débil, que pueden ser sólidos o altamente viscosos a temperatura ambiente. Si se usan tensioactivos no iónicos que son altamente viscosos a temperatura ambiente, entonces se prefiere que éstos presenten una viscosidad por encima de 20 Pa·s, preferentemente por encima de 35 Pa·s y en particular por encima de 40 Pa·s. También se prefieren tensioactivos no iónicos que tienen consistencia cerosa a temperatura ambiente.

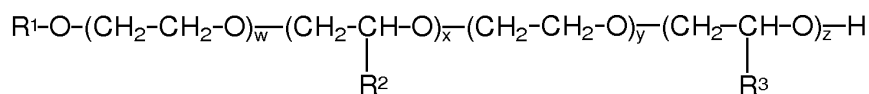
20 Los tensioactivos no iónicos del grupo de los alcoholes alcoxilados, de manera especialmente preferente del grupo de los alcoholes alcoxilados de manera mixta y en particular del grupo de los tensioactivos no iónicos de OE-OA-OE, se usan igualmente con especial preferencia.

25 El tensioactivo no iónico sólido a temperatura ambiente tiene preferentemente unidades de óxido de propileno en la molécula. Preferentemente constituyen aquellas unidades de OP hasta el 25 % en peso, de manera especialmente preferente hasta el 20 % en peso y en particular hasta el 15 % en peso de la masa molar total del tensioactivo no iónico. Los tensioactivos no iónicos especialmente preferentes son monohidroalcanoles o alquilfenoles etoxilados, que presentan adicionalmente copolímeros de bloque de polioxietileno-polioxipropileno. La parte de alcohol o alquilfenol de tales moléculas de tensioactivo no iónico constituye a este respecto preferentemente más del 30 % en peso, de manera especialmente preferente más del 50 % en peso y en particular más del 70 % en peso de la masa molar total de tales tensioactivos no iónicos. Los agentes preferentes están caracterizados porque éstos contienen tensioactivos no iónicos etoxilados y propoxilados, en los que las unidades de óxido de propileno en la molécula constituyen hasta el 25 % en peso, preferentemente hasta el 20 % en peso y en particular hasta el 15 % en peso de la masa molar total del tensioactivo no iónico.

35 Los tensioactivos que van a usarse preferentemente proceden de los grupos de los tensioactivos no iónicos alcoxilados, en particular de los alcoholes primarios etoxilados y mezclas de estos tensioactivos con tensioactivos formados con una estructura más compleja tales como tensioactivos de polioxipropileno/polioxietileno/polioxipropileno (OP/OE/OP). Tales tensioactivos no iónicos de (OP/OE/OP) se caracterizan además por buen control de formación de espuma.

40 Otros tensioactivos no iónicos que van a usarse con especial preferencia con punto de fusión por encima de la temperatura ambiente contienen del 40 % al 70 % de una combinación de polímeros de bloque de polioxipropileno/polioxietileno/polioxipropileno, que contiene el 75 % en peso de un copolímero de bloque inverso de polioxietileno y polioxipropileno con 17 mol de óxido de etileno y 44 mol de óxido de propileno y el 25 % en peso de un copolímero de bloque de polioxietileno y polioxipropileno, iniciado con trimetilopropano y que contiene 24 moles de óxido de etileno y 99 moles de óxido de propileno por mol de trimetilopropano.

45 Como tensioactivos no iónicos especialmente preferentes han resultado en el contexto de la presente invención los tensioactivos no iónicos de formación de espuma débil, que presentan unidades alternas de óxido de etileno y óxido de alquileo. Entre éstos se prefieren a su vez tensioactivos con bloques de OE-OA-OE-OA, uniéndose en cada caso de uno a diez grupos OE u OA uno a otro, antes de que siga un bloque de los grupos distintos en cada caso. En el presente documento se prefieren tensioactivos no iónicos de fórmula general



50 en la que R¹ representa un resto alquilo o alqueno C₆₋₂₄ de cadena lineal o ramificado, saturado o mono- o poliinsaturado; cada grupo R² o R³ independientemente entre sí se selecciona de -CH₃, -CH₂CH₃, -CH₂CH₂-CH₃, CH(CH₃)₂ y los índices w, x, y, z independientemente entre sí representan números enteros de 1 a 6.

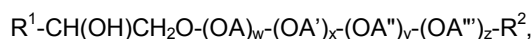
55 Los tensioactivos no iónicos preferentes de la fórmula mencionada anteriormente pueden prepararse mediante procedimientos conocidos a partir de los correspondientes alcoholes R¹-OH y óxido de etileno o alquileo. El resto R¹ en la fórmula mencionada anteriormente puede variar dependiendo del origen del alcohol. Si se usan fuentes

5 nativas, el resto R¹ presenta un número par de átomos de carbono y está por regla general no ramificado, prefiriéndose los restos lineales de alcoholes de origen nativo con 12 a 18 átomos de C, por ejemplo de alcohol graso de coco, de palma, de sebo o alcohol oleílico. Los alcoholes accesibles a partir de fuentes sintéticas son por ejemplo los alcoholes de Guerbet o restos ramificados con metilo en la posición 2 o bien lineales y ramificados con metilo en mezcla, tal como se encuentran habitualmente en restos de oxoalcohol. Independientemente del tipo del alcohol usado para la preparación de los tensioactivos no iónicos contenidos en los agentes se prefieren tensioactivos no iónicos en los que R¹ en la fórmula mencionada anteriormente representa un resto alquilo con 6 a 24, preferentemente de 8 a 20, de manera especialmente preferente de 9 a 15 y en particular de 9 a 11 átomos de carbono.

10 Como unidad de óxido de alquileo, que está contenida de manera alterna con respecto a la unidad de óxido de etileno en los tensioactivos no iónicos preferentes, se tienen en consideración además de óxido de propileno en particular óxido de butileno. Sin embargo son adecuados también otros óxidos de alquileo, en los que R² o R³ independientemente entre sí se seleccionan de -CH₂CH₂-CH₃ o CH(CH₃)₂. Preferentemente se usan tensioactivos no iónicos de la fórmula mencionada anteriormente, en los que R² o R³ representan un resto -CH₃, w y x independientemente entre sí representan valores de 3 o 4 e y y z independientemente entre sí representan valores de 1 o 2.

15 En resumen se prefieren en particular tensioactivos no iónicos que presentan un resto alquilo C₉₋₁₅ con 1 a 4 unidades de óxido de etileno, seguidas de 1 a 4 unidades de óxido de propileno, seguidas de 1 a 4 unidades de óxido de etileno, seguidas de 1 a 4 unidades de óxido de propileno. Estos tensioactivos presentan en solución acuosa la viscosidad baja necesaria y pueden usarse de acuerdo con la invención con especial preferencia.

20 De acuerdo con la invención se prefieren especialmente tensioactivos de fórmula general



25 en la que R¹ y R² independientemente entre sí representan un resto alquilo o alqueniilo C₂₋₄₀ de cadena lineal o ramificado, saturado o mono- o poliinsaturado; A, A', A'' y A''' independientemente entre sí representan un resto del grupo -CH₂CH₂, -CH₂CH₂-CH₂, -CH₂-CH(CH₃), -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂, -CH₂-CH(CH₃)-CH₂-, -CH₂-CH(CH₂-CH₃); y w, x, y y z representan valores entre 0,5 y 90, pudiendo ser x, y y/o z también 0.

30 Se prefieren muy especialmente según esto tensioactivos no iónicos de fórmula general R¹O[CH₂CH(CH₃)O]_x[CH₂CH₂O]_y[CH₂CH(CH₃)O]_zCH₂CH(OH)R², en la que R¹ representa un resto de hidrocarburo alifático lineal o ramificado con 4 a 22, en particular de 6 a 18, átomos de carbono o mezclas de esto, R² designa un resto de hidrocarburo lineal o ramificado con 2 a 26, en particular de 4 a 20, átomos de carbono o mezclas de esto y x y z representan valores entre 0 y 40 e y representa un valor de al menos 15, preferentemente de 15 a 120, de manera especialmente preferente de 20 a 80.

35 En una forma de realización preferente contiene el lavavajillas, en particular el lavavajillas a máquina, con respecto a su peso total, tensioactivo no iónico de fórmula general R¹O[CH₂CH(CH₃)O]_x[CH₂CH₂O]_y[CH₂CH(CH₃)O]_zCH₂CH(OH)R² en cantidades del 0,1 % al 15 % en peso, preferentemente del 0,2 % al 10 % en peso, de manera especialmente preferente del 0,5 % al 8 % en peso y en particular del 1,0 % al 6 % en peso.

40 Se prefieren en particular aquellos tensioactivos no iónicos poli(oxalquilados) cerrados con grupos terminales de acuerdo con la fórmula R¹O[CH₂CH₂O]_yCH₂CH(OH)R², en la que R¹ representa un resto de hidrocarburo alifático lineal o ramificado con 4 a 22, en particular de 6 a 16, átomos de carbono o mezclas de esto, R² designa un resto de hidrocarburo lineal o ramificado con 2 a 26, en particular de 4 a 20, átomos de carbono o mezclas de esto e y representa un valor entre 15 y 120 preferentemente de 20 a 100, en particular de 20 a 80. Al grupo de estos tensioactivos no iónicos pertenecen por ejemplo hidroxiéteres mixtos de fórmula general C₆₋₂₂-CH(OH)CH₂O-(OE)₂₀₋₁₂₀-C₂₋₂₆, por ejemplo el alcohol graso(C₈₋₁₂)-(OE)₂₂₋₂-hidroxidecileter y el alcohol graso(C₄₋₂₂)-(OE)₄₀₋₈₀-2-hidroxialquileter.

45 Se prefieren especialmente lavavajillas de acuerdo con la invención, en particular lavavajillas a máquina, caracterizados porque como tensioactivo no iónico de formación de espuma débil se usa un tensioactivo de fórmula general R¹CH(OH)CH₂O-(CH₂CH₂O)₂₀₋₁₂₀-R², en la que R¹ y R² independientemente entre sí representan un resto de hidrocarburo alifático lineal o ramificado con 2 a 20, en particular de 4 a 16, átomos de carbono.

50 Se prefieren además tensioactivos de fórmula R¹O[CH₂CH(CH₃)O]_x[CH₂CH₂O]_yCH₂CH(OH)R², en la que R¹ representa un resto de hidrocarburo alifático lineal o ramificado con 4 a 22 átomos de carbono o mezclas de esto, R² designa un resto de hidrocarburo lineal o ramificado con 2 a 26 átomos de carbono o mezclas de esto y x representa valores entre 0,5 y 4, preferentemente de 0,5 a 1,5, e y representa un valor de al menos 15.

55 De acuerdo con la invención se prefieren adicionalmente también tensioactivos de fórmula general R¹O[CH₂CH(CH₃)O]_x[CH₂CH₂O]_yCH₂CH(OH)R², en la que R¹ representa un resto de hidrocarburo alifático lineal o ramificado con 4 a 22 átomos de carbono o mezclas de esto, R² designa un resto de hidrocarburo lineal o ramificado con 2 a 26 átomos de carbono o mezclas de esto y x representa un valor entre 1 y 40 e y representa un valor entre

15 y 40, encontrándose las unidades de alquileo $[\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O}]$ y $[\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}]$ de manera aleatorizada, es decir en forma de una distribución estadística aleatoria.

Al grupo de los tensioactivos no iónicos poli(oxialquilados) cerrados con grupos terminales preferentes pertenecen también tensioactivos no iónicos de fórmula $\text{R}^1\text{O}[\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}]_x[\text{CH}_2\text{CH}(\text{R}^3)\text{O}]_y\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{R}^2$, en la que R^1 y R^2 independientemente entre sí representan un resto de hidrocarburo lineal o ramificado, saturado o mono- o poliinsaturado con 2 a 26 átomos de carbono, R^3 independientemente entre sí se selecciona de $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, preferentemente sin embargo representa $-\text{CH}_3$, y x e y independientemente entre sí representan valores entre 1 y 32, prefiriéndose muy especialmente tensioactivos no iónicos con $\text{R}^3 = -\text{CH}_3$ y valores para x de 15 a 32 e y de 0,5 y 1,5.

Otros tensioactivos no iónicos que pueden usarse preferentemente son los tensioactivos no iónicos poli(oxialquilados) cerrados con grupos terminales de fórmula $\text{R}^1\text{O}[\text{CH}_2\text{CH}(\text{R}^3)\text{O}]_x[\text{CH}_2]_k\text{CH}(\text{OH})[\text{CH}_2]_j\text{OR}^2$, en la que R^1 y R^2 representan restos de hidrocarburo lineales o ramificados, saturados o insaturados, alifáticos o aromáticos con 1 a 30 átomos de carbono, R^3 representa H o un resto metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, 2-butilo o 2-metil-2-butilo, x representa valores entre 1 y 30, k y j representan valores entre 1 y 12, preferentemente entre 1 y 5.

Cuando el valor x es ≥ 2 , puede ser distinto cada R^3 en la fórmula anterior $\text{R}^1\text{O}[\text{CH}_2\text{CH}(\text{R}^3)\text{O}]_x[\text{CH}_2]_k\text{CH}(\text{OH})[\text{CH}_2]_j\text{OR}^2$. R^1 y R^2 son preferentemente restos de hidrocarburo lineales o ramificados, saturados o insaturados, alifáticos o aromáticos con 6 a 22 átomos de carbono, prefiriéndose especialmente restos con 8 a 18 átomos de C. Para el resto R^3 se prefieren especialmente H, $-\text{CH}_3$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_3$. Los valores especialmente preferentes para x se encuentran en el intervalo de 1 a 20, en particular de 6 a 15.

Tal como se ha descrito anteriormente, cada R^3 en la que fórmula anterior puede ser distinto en el caso de que sea x ≥ 2 . Mediante esto puede variarse la unidad de óxido de alquileo en los corchetes. Si x representa por ejemplo 3, puede seleccionarse el resto R^3 para formar unidades de óxido de etileno ($\text{R}^3 = \text{H}$) u óxido de propileno ($\text{R}^3 = \text{CH}_3$) que pueden unirse en cualquier orden, por ejemplo (OE)(OP)(OE), (OE)(OE)(OP), (OE)(OE)(OE), (OP)(OE)(OP), (OP)(OP)(OE) y (OP)(OP)(OP). El valor 3 para x se ha seleccionado en este caso a modo de ejemplo y puede ser superior a esto, aumentando la anchura de variación con valores de x crecientes e incluyéndose por ejemplo un gran número de grupos (OE), combinado con un bajo número de grupos (OP), o a la inversa.

Los alcoholes poli(oxialquilados) cerrados con grupos terminales especialmente preferentes de la fórmula anterior presentan valores de k = 1 y j = 1, de modo que se simplifica la fórmula mencionada anteriormente en $\text{R}^1\text{O}[\text{CH}_2\text{CH}(\text{R}^3)\text{O}]_x\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OR}^2$. En la fórmula mencionada en último lugar son R^1 , R^2 y R^3 tal como se han definido anteriormente y x representa números de 1 a 30, preferentemente de 1 a 20 y en particular de 6 a 18. Se prefieren especialmente tensioactivos en los que los restos R^1 y R^2 presentan de 9 a 14 átomos de C, R^3 representa H y x adopta valores de 6 a 15.

Otros tensioactivos no iónicos usados preferentemente son tensioactivos no iónicos de fórmula general $\text{R}^1\text{O}(\text{Oalq})_x\text{M}(\text{Oalq})_y\text{OR}^2$, en la que R^1 y R^2 independientemente entre sí representan un resto alquilo ramificado o no ramificado, saturado o insaturado, eventualmente resto alquilo hidroxilado con 4 a 22 átomos de carbono; alq representa un resto alquilo ramificado o no ramificado con 2 a 4 átomos de carbono; x e y independientemente entre sí representan valores entre 1 y 70; y M representa un resto alquilo del grupo CH_2 , CHR^3 , CR^3R^4 , CH_2CHR^3 y CHR^3CHR^4 , en los que R^3 y R^4 independientemente entre sí representan un resto alquilo ramificado o no ramificado, saturado o insaturado con 1 a 18 átomos de carbono.

Se prefieren según esto tensioactivos no iónicos de fórmula general $\text{R}^1-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{CH}_2\text{CHR}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-\text{R}^2$, en la que

- R , R^1 y R^2 independientemente entre sí representan un resto alquilo o resto alqueno con 6 a 22 átomos de carbono;
- x e y independientemente entre sí representan valores entre 1 y 40.

Se prefieren según esto en particular compuestos de fórmula general $\text{R}^1-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{CH}_2\text{CHR}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_y\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-\text{R}^2$, en los que R representa un resto alquilo lineal, saturado con 8 a 16 átomos de carbono, preferentemente de 10 a 14 átomos de carbono y n y m independientemente entre sí presentan valores de 20 a 30. Los correspondientes compuestos pueden obtenerse por ejemplo mediante reacción de alquildioles $\text{HO}-\text{CHR}-\text{CH}_2-\text{OH}$ con óxido de etileno, realizándose a continuación una reacción con un alquilepóxido para el cierre de las funcionalidades OH libre con formación de un dihidroxiéter.

En otra forma de realización preferente, el tensioactivo no iónico se selecciona de tensioactivos no iónicos de fórmula general



en la que

- R^1 y R^2 independientemente entre sí representan un resto alquilo o resto alqueno con 4 a 22 átomos de

carbono;

- R³ y R⁴ independientemente entre sí representan H o representan un resto alquilo o resto alqueno con 1 a 18 átomos de carbono y
- x e y independientemente entre sí representan valores entre 1 y 40.

5 Se prefieren según esto en particular compuestos de fórmula general R¹-O(CH₂CH₂O)_xCR³R⁴(OCH₂CH₂)_yO-R², en la que R³ y R⁴ representan H y los índices x e y independientemente entre sí adoptan valores de 1 a 40, preferentemente de 1 a 15.

10 Se prefieren especialmente en particular compuestos de fórmula general R¹-O(CH₂CH₂O)_xCR³R⁴(OCH₂CH₂)_yO-R², en la que los restos R¹ y R² independientemente entre sí representan restos alquilo saturados con 4 a 14 átomos de carbono y los índices x e y independientemente entre sí adoptan valores de 1 a 15 y en particular de 1 a 12.

Adicionalmente se prefieren aquellos compuestos de fórmula general R¹-O(CH₂CH₂O)_xCR³R⁴(OCH₂CH₂)_yO-R², en la que uno de los restos R¹ y R² está ramificado.

15 Se prefieren muy especialmente compuestos de fórmula general R¹-O(CH₂CH₂O)_xCR³R⁴(OCH₂CH₂)_yO-R², en la que los índices x e y independientemente entre sí adoptan valores de 8 a 12.

20 Las longitudes de cadena de C indicadas así como los grados de etoxilación o grados de alcoxilación de los tensioactivos no iónicos mencionados anteriormente representan valores promedio estadísticos, que pueden ser para un producto especial un número entero o un número quebrado. Debido a los procedimientos de preparación, los productos comerciales de las fórmulas mencionadas no están constituidos en la mayoría de los casos por un representante individual, sino por mezclas, de manera que pueden resultar tanto para las longitudes de cadena de C como también para los grados de etoxilación o grados de alcoxilación valores promedio y números quebrados que se deducen de esto.

25 Lógicamente pueden usarse los tensioactivos no iónicos mencionados anteriormente no solo como sustancias individuales, sino también como mezclas de tensioactivos de dos, tres, cuatro o más tensioactivos. Como mezclas de tensioactivos no se designan a este respecto mezclas de tensioactivos no iónicos, que se encuentran en su totalidad bajo una de las fórmulas generales mencionadas anteriormente, sino más bien aquellas mezclas que contienen dos, tres, cuatro o más tensioactivos no iónicos, que pueden describirse mediante fórmulas generales distintas de las fórmulas generales mencionadas anteriormente.

30 En particular se prefieren aquellos tensioactivos no iónicos que presentan un punto de fusión por encima de la temperatura ambiente. El (los) tensioactivo(s) no iónico(s) con un punto de fusión por encima de 20 °C, preferentemente por encima de 25 °C, de manera especialmente preferente entre 25 °C y 60 °C y en particular entre 26,6 °C y 43,3 °C, se prefieren(n) especialmente.

35 La proporción en peso del tensioactivo no iónico en el peso total del lavavajillas de acuerdo con la invención, en particular lavavajillas a máquina, asciende en una forma de realización preferente a del 0,1 % al 20 % en peso, de manera especialmente preferente a del 0,5 % al 15 % en peso, en particular a del 2,5 % al 10 % en peso.

En una forma de realización preferente asciende la proporción en % en peso de tensioactivo aniónico con al menos un grupo sulfato o sulfonato con respecto a tensioactivo no iónico a de 3:1 a 1:3, en particular a de 2:1 a 1:2, de manera especialmente preferente a de 1,5:1 a 1:1,5.

40 Los lavavajillas de acuerdo con la invención, en particular lavavajillas a máquina, contienen como parte constituyente adicional en una forma de realización preferente al menos un polímero aniónico. Los polímeros aniónicos preferentes son según esto los policarboxilatos copoliméricos y los polisulfonatos copoliméricos.

45 La proporción en peso del polímero aniónico en el peso total del lavavajillas de acuerdo con la invención, en particular lavavajillas a máquina, asciende en una forma de realización preferente a del 0,1 % al 20 % en peso, preferentemente a del 0,5 % al 18 % en peso, de manera especialmente preferente a del 1,0 % al 15 % en peso y en particular a del 4 % al 14 % en peso.

50 Los lavavajillas de acuerdo con la invención, en particular lavavajillas a máquina, caracterizados porque el polímero aniónico copolimérico se selecciona del grupo de los policarboxilatos y polisulfonatos modificados de manera hidrófoba es un objeto especialmente preferente, dado que mediante la modificación hidrófoba de los copolímeros aniónicos puede conseguirse una mejora de las propiedades de aclarado y de secado de estos agentes con al mismo tiempo baja formación de depósitos.

Los copolímeros pueden presentar dos, tres, cuatro o más unidades monoméricas distintas.

Los polisulfonatos copoliméricos preferentes contienen además del (de los) monómero(s) que contiene(n) grupos ácido sulfónico al menos un monómero del grupo de los ácidos carboxílicos insaturados.

Como ácido(s) carboxílico(s) insaturado(s) se usa(n) con especialmente preferencia ácidos carboxílicos insaturados

de fórmula $R^1(R^2)C=C(R^3)COOH$, en la que R^1 a R^3 independientemente entre sí representan -H, -CH₃, un resto alquilo de cadena lineal o ramificado saturado con 2 a 12 átomos de carbono, un resto alqueno de cadena lineal o ramificado, mono- o poliinsaturado con 2 a 12 átomos de carbono, restos alquilo o alqueno sustituidos con -NH₂, -OH o -COOH tal como se han definido anteriormente o representan -COOH o -COOR⁴, siendo R⁴ un resto de hidrocarburo saturado o insaturado, de cadena lineal o ramificado con 1 a 12 átomos de carbono.

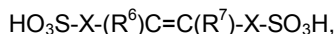
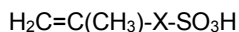
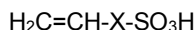
Los ácidos carboxílicos insaturados especialmente preferentes son ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido etacrílico, ácido α -cloroacrílico, ácido α -cianoacrílico, ácido crotónico, ácido α -fenil-acrílico, ácido maleico, anhídrido maleico, ácido fumárico, ácido itacónico, ácido citracónico, ácido metilmalónico, ácido sórbico, ácido cinámico o sus mezclas. Pueden usarse lógicamente también los ácidos dicarboxílicos insaturados.

Como policarboxilatos copoliméricos se usan de acuerdo con la invención de manera especialmente preferente copolímeros del ácido acrílico con ácido metacrílico y del ácido acrílico o ácido metacrílico con ácido maleico. Han resultado especialmente adecuados los copolímeros del ácido acrílico con ácido maleico, que contienen del 50 % al 90 % en peso de ácido acrílico y del 50 % al 10 % en peso de ácido maleico. Su masa molecular relativa, con respecto a los ácidos libres, asciende en general a de 2000 a 70000 g/mol, preferentemente a de 20000 a 50000 g/mol y en particular a de 30000 a 40000 g/mol.

En el caso de las masas molares indicadas se trata en el sentido de este documento de masas molares promediadas en peso Mw, que se han determinado básicamente por medio de cromatografía de permeación en gel (CPG), usándose un detector UV. La medición se realizó a este respecto frente a un patrón externo que, debido a su semejanza estructural con los polímeros sometidos a estudio, proporciona valores de pesos molares realistas.

En el caso de los monómeros que contienen grupos ácido sulfónico se prefieren aquéllos de fórmula $R^5(R^6)C=C(R^7)-X-SO_3H$, en la que R^5 a R^7 independientemente entre sí representa -H, -CH₃, un resto alquilo de cadena lineal o ramificado saturado con 2 a 12 átomos de carbono, un resto alqueno de cadena lineal o ramificado, mono- o poliinsaturado con 2 a 12 átomos de carbono, restos alquilo o alqueno sustituidos con -NH₂, -OH o -COOH o representa -COOH o -COOR⁴, siendo R⁴ un resto de hidrocarburo saturado o insaturado, de cadena lineal o ramificado con 1 a 12 átomos de carbono, y X representa un grupo espaciador opcionalmente existente que se selecciona de $-(CH_2)_n-$ con n = 0 a 4, $-COO-(CH_2)_k-$ con k = 1 a 6, $-C(O)-NH-C(CH_3)_2-$, $-C(O)-NH-C(CH_3)_2-CH_2-$ y $-C(O)-NHCH(CH_3)-CH_2-$.

Entre estos monómeros se prefieren aquellos de fórmulas



en los que R^6 y R^7 independientemente entre sí se seleccionan de -H, -CH₃, -CH₂CH₃, -CH₂CH₂CH₃ y -CH(CH₃)₂ y X representa un grupo espaciador opcionalmente existente que se selecciona de $-(CH_2)_n-$ con n = 0 a 4, $-COO-(CH_2)_k-$ con k = 1 a 6, $-C(O)-NH-C(CH_3)_2-$, $-C(O)-NH-C(CH_3)_2-CH_2-$ y $-C(O)-NHCH(CH_3)-CH_2-$.

Los monómeros que contienen grupos ácido sulfónico especialmente preferentes son a este respecto ácido 1-acrilamido-1-propanosulfónico, ácido 2-acrilamido-2-propanosulfónico, ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propanosulfónico, ácido 2-metacrilamido-2-metil-1-propanosulfónico, ácido 3-metacrilamido-2-hidroxi-propanosulfónico, ácido alilsulfónico, ácido metalilsulfónico, ácido aliloxibencenosulfónico, ácido metaliloxibencenosulfónico, ácido 2-hidroxi-3-(2-propeniloxi)propanosulfónico, ácido 2-metil-2-propeno-1-sulfónico, ácido estirenosulfónico, ácido vinilsulfónico, acrilato de 3-sulfopropilo, metacrilato de 3-sulfopropilo, sulfometacrilamida, sulfometilmetacrilamida así como mezclas de los ácidos mencionados o sus sales solubles en agua.

En los polímeros pueden encontrarse los grupos ácido sulfónico total o parcialmente en forma neutralizada, es decir que el átomo de hidrógeno ácido del grupo ácido sulfónico puede estar sustituido en algunos o todos los grupos ácido sulfónico por iones metálicos, preferentemente iones de metal alcalino y en particular por iones sodio. De acuerdo con la invención se prefiere el uso de copolímeros que contienen grupos ácido sulfónico parcial o completamente neutralizados.

La distribución de monómeros de los copolímeros usados preferentemente de acuerdo con la invención asciende en caso de copolímeros que contienen solo monómeros que contienen grupos ácido carboxílico y monómeros que contienen grupos ácido sulfónico, preferentemente en cada caso a del 5 % al 95 % en peso, de manera especialmente preferente asciende la proporción del monómero que contiene grupos ácido sulfónico a del 50 % al 90 % en peso y asciende la proporción del monómero que contiene grupos ácido carboxílico a del 10 % al 50 % en peso, seleccionándose los monómeros según esto preferentemente de los mencionados anteriormente.

La masa molar de los sulfo-copolímeros usados preferentemente de acuerdo con la invención puede variarse para

adaptar las propiedades de los polímeros al fin de uso deseado. Los lavavajillas preferentes, en particular lavavajillas a máquina, están caracterizados porque los copolímeros presentan masas molares de 2000 a 200.000 g mol⁻¹, preferentemente de 4000 a 25.000 g mol⁻¹ y en particular de 5000 a 15.000 g mol⁻¹.

- 5 En otra forma de realización preferente comprenden los copolímeros además del monómero que contiene grupos carboxilo y el monómero que contiene grupos ácido sulfónico adicionalmente al menos un monómero no iónico, preferentemente hidrófobo. Mediante el uso de estos polímeros modificados de manera hidrófoba pudo mejorarse en particular la potencia de aclarado de los lavavajillas a máquina de acuerdo con la invención.

Se prefieren de acuerdo con la invención lavavajillas, en particular lavavajillas a máquina, caracterizados porque el lavavajillas contiene como copolímero aniónico un copolímero que comprende

- 10 i) monómero(s) que contiene(n) grupos ácido carboxílico
 ii) monómero(s) que contiene(n) grupos ácido sulfónico
 iii) monómero(s) no iónico(s).

- 15 Como monómeros no iónicos se usan preferentemente monómeros de fórmula general R¹(R²)C=C(R³)-X-R⁴, en la que R¹ a R³ independientemente entre sí representa -H, -CH₃ o -C₂H₅, X representa un grupo espaciador opcionalmente existente que se selecciona de -CH₂-, -C(O)O- y -C(O)-NH-, y R⁴ representa un resto alquilo de cadena lineal o ramificado saturado con 2 a 22 átomos de carbono o representa un resto insaturado, preferentemente aromático con 6 a 22 átomos de carbono.

- 20 Los monómeros no iónicos especialmente preferentes son buteno, isobuteno, penteno, 3-metilbuteno, 2-metilbuteno, ciclopenteno, hexeno, hexeno-1, 2-metilpenteno-1, 3-metilpenteno-1, ciclohexeno, metilciclohexeno, ciclohepteno, metilciclohexeno, 2,4,4-trimetilpenteno-1, 2,4,4-trimetilpenteno-2, 2,3-dimetilhexeno-1, 2,4-dimetilhexeno-1, 2,5-dimetilhexeno-1, 3,5-dimetilhexeno-1, 4,4-dimetilhexano-1, etilciclohexino, 1-octeno, α -olefinas con 10 o más átomos de carbono tales como por ejemplo 1-deceno, 1-dodeceno, 1-hexadeceno, 1-octadeceno y α -olefina C22, 2-estireno, α -metilestireno, 3-metilestireno, 4-propilestireno, 4-ciclohexilestireno, 4-dodecilestireno, 2-etil-4-bencilestireno, 1-vinilnaftaleno, 2-vinilnaftaleno, acrilato de metilo, acrilato de etilo, acrilato de propilo, acrilato de butilo, acrilato de pentilo, acrilato de hexilo, metacrilato de metilo, N-(metil)acrilamida, acrilato de 2-etilhexilo, metacrilato de 2-etilhexilo, N-(2-etilhexil)acrilamida, acrilato de octilo, metacrilato de octilo, N-(octil)acrilamida, acrilato de laurilo, metacrilato de laurilo, N-(lauril)acrilamida, acrilato de estearilo, metacrilato de estearilo, N-(estearil)acrilamida, acrilato de behenilo, metacrilato de behenilo y N-(behenil)acrilamida o sus mezclas.

- 30 En otra forma de realización de la invención, un lavavajillas de acuerdo con la invención está caracterizado porque éste comprende al menos otra enzima, en particular una proteasa, amilasa, celulasa, enzima que disocia pectina, hemicelulasa, mananasa, tanasa, xilanasa, xantanasa, β -glucosidasa, carragenasa, perhidrolasa, oxidasa, oxidoreductasa o una lipasa, así como combinaciones de las mismas, en particular una combinación que se selecciona de proteasa y amilasa, proteasa y lipasa, proteasa y celulasa, proteasa y mananasa, amilasa y lipasa, amilasa y celulasa, amilasa y mananasa, lipasa y celulasa, lipasa y mananasa, lipasa y celulasa, proteasa y amilasa y lipasa, proteasa y amilasa y celulasa, proteasa y amilasa y mananasa, amilasa y lipasa y celulasa, amilasa y lipasa y mananasa, lipasa, celulasa y mananasa, proteasa y amilasa y lipasa y celulasa, proteasa y amilasa y celulasa y mananasa.

- 40 Otra enzima de este tipo está contenida en el agente ventajosamente en cada caso en una cantidad del 1×10^{-8} al 5 por ciento en peso con respecto a la proteína activa. Cada vez más preferentemente está contenida cada otra enzima en una cantidad del 1×10^{-7} -3 % en peso, del 0,00001-1 % en peso, del 0,00005-0,5 % en peso, del 0,0001 % al 0,1 % en peso y de manera especialmente preferente del 0,0001 % al 0,05 % en peso en agentes de acuerdo con la invención, con respecto a la proteína activa. La determinación de la concentración de proteína activa puede realizarse con respecto a esto de manera habitual en la técnica, en el caso de hidrolasas por ejemplo a través de una titulación de los centros activos usando un inhibidor irreversible adecuado y la determinación de la actividad residual (véase por ejemplo M. Bender *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 88, 24 (1966), pág. 5890-5913; la referencia mencionada se refiere a proteasas, aplicándose el principio de la titulación de los centros activos a otras hidrolasas). De manera especialmente preferente, las enzimas muestran potencias de limpieza sinérgicas frente a determinadas suciedades o manchas, es decir las enzimas contenidas en la composición del agente se apoyan mutuamente en su potencia de limpieza. De manera muy especialmente preferente existe un sinergismo de este tipo entre la proteasa contenida de acuerdo con la invención y otra enzima de un agente de acuerdo con la invención, entre éstas en particular entre la proteasa contenida de acuerdo con la invención y una amilasa y/o una lipasa y/o una mananasa y/o una celulasa y/o una enzima que disocia pectina. Los efectos sinérgicos pueden producirse no solo entre distintas enzimas, sino también entre una o varias enzimas y otras sustancias constitutivas del agente de acuerdo con la invención.

- 55 En otra forma de realización de la invención, el lavavajillas está caracterizado porque éste es un lavavajillas a máquina. Como lavavajillas a máquina se designan de acuerdo con esta solicitud composiciones que pueden usarse para la limpieza de la vajilla ensuciada en un procedimiento de lavado de la vajilla a máquina. Con ello se diferencian los lavavajillas a máquina de acuerdo con la invención por ejemplo de los agentes de aclarado a máquina que se usan siempre en combinación con lavavajillas a máquina y no desarrollan ninguna acción de limpieza propia. A la

vajilla lavada a máquina se le plantean con frecuencia exigencias mayores que a la vajilla lavada a mano. Así debe estar la vajilla tras la limpieza a máquina no solo libre de restos de comida, sino que por ejemplo también no presenten manchas blanquecinas, que se basan en la dureza del agua u otras sales minerales, que por falta de agentes humectantes proceden de gotas de agua secadas. Los lavavajillas a máquina modernos cumplen estas exigencias mediante la integración de principios activos de limpieza y/o de cuidado y/o de desendurecimiento del agua y/o de enjuagado activo y se conocen por el usuario por ejemplo como lavavajillas "10 en 1" o "11 en 1". Como parte constituyente esencial para el éxito de limpieza como para el éxito del aclarado, los lavavajillas a máquina contienen sustancias soporte. Estas sustancias soporte elevan por un lado la alcalinidad del baño de limpieza, emulsionándose y saponificándose grasas y aceites con creciente alcalinidad, y por otro lado reducen la dureza del agua del baño de limpieza mediante complejación de los iones calcio contenidos en el baño acuoso.

En otra configuración, el lavavajillas a máquina está envuelto por una lámina soluble en agua. Preferentemente comprende la lámina un poli(alcohol vinílico) (PVA) o está compuesta por poli(alcohol vinílico) (PVA). Un lavavajillas a máquina de acuerdo con la invención de este tipo se encuentra según esto en porciones.

Otro objeto de la invención lo constituye el uso de un lavavajillas de acuerdo con la invención para la eliminación de suciedades, en particular de suciedades sensibles a proteasa y/o amilasa, en superficies duras, es decir para la limpieza de superficies duras, ya que los agentes de acuerdo con la invención pueden usarse, en particular debido a la combinación contenida de proteasa y amilasa, ventajosamente para eliminar de superficies duras correspondientes suciedades. Las formas de realización de este objeto de la invención la representan por ejemplo la eliminación manual de manchas de superficies duras o el uso en relación con un procedimiento a máquina. Todas las circunstancias, objetos y formas de realización que se han descrito para los lavavajillas de acuerdo con la invención pueden aplicarse también a este objeto de la invención. Por tanto se remite en este punto de manera expresa a la divulgación en el correspondiente punto con la indicación de que esta divulgación se aplica también para el uso de acuerdo con la invención mencionado anteriormente.

Otro objeto de la invención lo constituye un procedimiento para la limpieza de superficies duras, usándose en al menos una etapa de procedimiento un lavavajillas de acuerdo con la invención.

Preferentemente se trata de un procedimiento de lavado de la vajilla a máquina. El lavavajillas se dosifica preferentemente durante el desarrollo de un programa de lavado de la vajilla, antes del inicio del ciclo de lavado principal o en el transcurso del ciclo de lavado principal en el espacio interior de una máquina lavavajillas. La dosificación o la entrada del agente de acuerdo con la invención en el espacio interior de la máquina lavavajillas puede realizarse manualmente, preferentemente se dosifica el agente sin embargo por medio de la cámara de dosificación de la máquina lavavajillas en el espacio interior de la máquina lavavajillas. En el transcurso del procedimiento de limpieza no se dosifica preferentemente ningún desendurecedor del agua adicional y ningún agente de aclarado adicional en el espacio interior de la máquina lavavajillas. Todas las circunstancias, objetos y formas de realización que se han descrito para los lavavajillas de acuerdo con la invención o su uso pueden aplicarse también a los procedimientos de acuerdo con la invención. Por tanto se remite en este punto de manera expresa a la divulgación en el correspondiente punto con la indicación de que esta divulgación se aplica también para los procedimientos de acuerdo con la invención mencionados anteriormente.

En una forma de realización preferente, el procedimiento está caracterizado porque la amilasa en el baño de limpieza se encuentra en una concentración del 1×10^{-10} -0,2 % en peso, del 0,000001-0,12 % en peso, del 0,000005-0,04 % en peso, del 0,00001 % al 0,03 % en peso y de manera especialmente preferente del 0,00005 % al 0,02 % en peso y/o porque la proteasa en el baño de limpieza se encuentra en una concentración de 1×10^{-10} -0,2 % en peso, del 0,000001-0,12 % en peso, del 0,000005-0,04 % en peso, del 0,00001 % al 0,03 % en peso y de manera especialmente preferente del 0,00005 % al 0,02 % en peso, refiriéndose las indicaciones a la proteína activa en el baño de limpieza. En otra forma de realización preferente, el procedimiento está caracterizado porque éste se realiza a una temperatura entre 10 °C y 70 °C, preferentemente entre 20 °C y 60 °C y de manera especialmente preferente entre 30 °C y 50 °C.

Las proteasas usadas en agentes de acuerdo con la invención pueden usarse, de manera correspondiente a las realizaciones mencionadas anteriormente, de manera ventajosa en lavavajillas de acuerdo con la invención así como procedimientos, en particular procedimientos de limpieza a máquina. Por tanto, éstas pueden usarse ventajosamente para proporcionar en los correspondientes agentes una actividad proteolítica. Otro objeto de la invención lo forma por tanto el uso de una proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 por su longitud total en al menos el 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 % y 98,5 % y presenta en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 la sustitución de aminoácidos L211 D en combinación con las sustituciones de aminoácidos S3T, V4I, V193M y V199I, para la facilitación de una actividad proteolítica en un lavavajillas líquido, que comprende además una amilasa.

Todas las circunstancias, objetos y formas de realización que se han descrito para los lavavajillas de acuerdo con la invención, usos o procedimientos pueden aplicarse también a estos usos. Por tanto se remite en este punto de manera expresa a la divulgación en el correspondiente punto con la indicación de que esta divulgación se aplica

también para los usos de acuerdo con la invención mencionados anteriormente.

Ejemplo: determinación de la estabilidad en almacenamiento de un lavavajillas a máquina líquido de acuerdo con la invención

5 Como formulación base sirvió un lavavajillas a máquina líquido de dos fases que contiene amilasa, que estaba compuesto tal como sigue (todas las indicaciones en por ciento en peso):

(a) fase enzimática:

ayudante	18,0
alcohol de azúcar	12,0
tensioactivo no iónico (etoxilato de alcohol	5,0
graso C8-C10 con 22 OE)	
compuestos alcalino (base)	3,5
ácido bórico	3,0
fosfonato (HEDP)	1,5
amilasa	1,2
sal de Ca	1,2
sal de Zn	0,2
agente espesante	1,0
colorante, perfume, conservante	0,3
agua	hasta 97

10 Como amilasa estaba contenida una variante de α -amilasa, que presenta en comparación con la α -amilasa AA560 de acuerdo con SEQ ID NO. 3 las siguientes modificaciones de secuencia en la enumeración de la α -amilasa AA560: R118K, D183* (delección), G184*(delección), N195F, R320K, R458K (empresa Novozymes).

(b) fase alcalina:

ayudante	12,0
carbonato de sodio	10,0
sulfopolímero	7,0
compuesto alcalino (base)	4,0
monoetanolamina	3,5
fosfonato (HEDP)	4,0
agente espesante	1,0
colorante, perfume, conservante	0,3
agua	hasta 100

15 La fase enzimática de la formulación base se mezcló para las distintas mezclas de ensayo en cada caso con el 3 % en peso o el 3,5 % en peso de preparaciones de las siguientes proteasas (que resultan en cada caso en el 0,5 % en peso o el 0,58 % en peso de proteína activa):

mezcla de reacción 1: variante de potencia mejorada de la proteasa de *Bacillus lentus* de acuerdo con SEQ ID NO. 2 del documento WO2011/032988 (referencia);

mezcla de reacción 2: proteasa de acuerdo con SEQ ID NO. 2 (SEQ ID NO. 1 + S3T + V4I + V193M + V199I + L211 D).

20 Para la determinación de la potencia de limpieza se dosificaron ambas fases en partes iguales (en cada caso 20 g por fase). Se lavaron en un intervalo de valores de pH entre pH 9 y pH 10 en una máquina lavavajillas G698SC de la empresa Miele en un volumen de 4 litros durante una duración de 60 minutos a una temperatura de 50 °C.

Se usó la vajilla con las siguientes suciedades: carne picada (A), yema de huevo (B), copos de avena (C) y almidón (D).

25 La evaluación de la potencia de limpieza se realiza de acuerdo con procedimiento estándar IKW visualmente por medio de una escala de 1 a 10, siendo el valor 10 la mejor nota (ningún residuo distinguible).

Los agentes de limpieza de las mezclas de reacción 1 y 2 se sometieron a prueba en cuanto a su potencia de limpieza antes y tras el almacenamiento de cuatro semanas a 40 °C. Los resultados están resumidos en la siguiente tabla 1:

30

Tabla 1:

Suciedad	Concentración de proteasa (% en peso)	A	B	C	D
Mezcla de reacción 1 antes del almacenamiento	3	10,0	5,6	8,9	9,4
	3,5	10,0	5,9	8,6	9,2
Mezcla de reacción 2 antes del almacenamiento	3	10,0	5,7	8,4	9,2
	3,5	10,0	5,8	8,6	9,3
Mezcla de reacción 1 después del almacenamiento	3	2,8	1,2	5,6	5,5
	3,5	3,2	1,3	5,8	5,6
Mezcla de reacción 2 después del almacenamiento	3	6,0	2,5	5,9	5,8
	3,5	6,8	3,2	6,1	6,5

5 Después de un almacenamiento de cuatro semanas a 40 °C se muestra claramente que la composición de acuerdo con la invención - provocada por la proteasa contenida - muestra una potencia de limpieza claramente mejorada, en particular en las suciedades sensibles a proteasa A y B (potencia de limpieza proteolítica). Además se ha mejorado también la potencia de limpieza en las suciedades sensibles a amilasa C y D (potencia de limpieza amilolítica).

LISTADO DE SECUENCIAS

- 10 <110> Henkel AG & Co. KGaA
- <120> Lavavajillas líquido estable en almacenamiento que contiene proteasa y amilasa
- <130> PT031191 PCT
- 15 <150> DE102012201522.1
<151> 02-02-2012
- <160> 3
- 20 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
<211> 269
<212> PRT
- 25 <213> *Bacillus lentus*
- <400> 1

ES 2 621 339 T3

Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
 1 5 10 15

His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
 20 25 30

Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
 35 40 45

Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
 50 55 60

His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
 65 70 75 80

Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
 85 90 95

Asp Gly Arg Gly Ala Ile Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
 100 105 110

Gly Asn Asn Gly Met His Val Ala Asn Leu Ser Leu Gly Ser Pro Ser
 115 120 125

Pro Ser Ala Thr Leu Glu Gln Ala Val Asn Ser Ala Thr Ser Arg Gly
 130 135 140

Val Leu Val Val Ala Ala Ser Gly Asn Ser Gly Ala Ser Ser Ile Ser
 145 150 155 160

Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
 165 170 175

Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
 180 185 190

Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
 195 200 205

Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
 210 215 220

Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
 225 230 235 240

Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
 245 250 255

Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
 260 265

<210> 2
 <211> 269
 <212> PRT
 <213> *Bacillus lentus*

5

<400> 2

Ala Gln Thr Ile Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
 1 5 10 15

His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
 20 25 30

Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
 35 40 45

Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
 50 55 60

His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
 65 70 75 80

Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
 85 90 95

Asp Gly Arg Gly Ala Ile Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
 100 105 110

Gly Asn Asn Gly Met His Val Ala Asn Leu Ser Leu Gly Ser Pro Ser
 115 120 125

10

ES 2 621 339 T3

Pro Ser Ala Thr Leu Glu Gln Ala Val Asn Ser Ala Thr Ser Arg Gly
 130 135 140

Val Leu Val Val Ala Ala Ser Gly Asn Ser Gly Ala Ser Ser Ile Ser
 145 150 155 160

Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
 165 170 175

Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
 180 185 190

Met Ala Pro Gly Val Asn Ile Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
 195 200 205

Ala Ser Asp Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
 210 215 220

Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
 225 230 235 240

Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
 245 250 255

Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
 260 265

<210> 3
 <211> 485
 <212> PRT
 <213> *Bacillus* sp.

<400> 3

5

ES 2 621 339 T3

His	His	Asn	Gly	Thr	Asn	Gly	Thr	Met	Met	Gln	Tyr	Phe	Glu	Trp	Tyr
1				5					10					15	
Leu	Pro	Asn	Asp	Gly	Asn	His	Trp	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Ala	Ser
			20					25					30		
Asn	Leu	Lys	Asp	Lys	Gly	Ile	Ser	Ala	Val	Trp	Ile	Pro	Pro	Ala	Trp
		35					40					45			
Lys	Gly	Ala	Ser	Gln	Asn	Asp	Val	Gly	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Leu	Tyr
	50					55					60				
Asp	Leu	Gly	Glu	Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Thr	Ile	Arg	Thr	Lys	Tyr	Gly
65					70					75					80
Thr	Arg	Asn	Gln	Leu	Gln	Ala	Ala	Val	Asn	Ala	Leu	Lys	Ser	Asn	Gly
				85					90					95	

ES 2 621 339 T3

Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp
 100 105 110

Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn
 115 120 125

Gln Glu Val Ser Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp
 130 135 140

Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Asn Phe Lys Trp Arg Trp Tyr
 145 150 155 160

His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Lys Leu Asn Asn Arg
 165 170 175

Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Asp Gly Lys Gly Trp Asp Trp Glu Val Asp
 180 185 190

Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met
 195 200 205

Asp His Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr
 210 215 220

Thr Asn Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His
 225 230 235 240

Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala
 245 250 255

Thr Gly Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu
 260 265 270

Gly Ala Ile Glu Asn Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val
 275 280 285

Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly
 290 295 300

Gly Asn Tyr Asp Met Arg Gln Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg
 305 310 315 320

His Pro Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro
 325 330 335

Glu Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala
 340 345 350

ES 2 621 339 T3

Tyr Ala Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr
 355 360 365

Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Lys Ser
 370 375 380

Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Arg
 385 390 395 400

Gln Asn Asp Tyr Leu Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu
 405 410 415

Gly Asn Thr Ala His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp
 420 425 430

Gly Ala Gly Gly Asn Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly
 435 440 445

Gln Val Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ala Gly Thr Val Thr Ile
 450 455 460

Asn Ala Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser
 465 470 475 480

Ile Trp Val Asn Lys
 485

REIVINDICACIONES

1. Lavavajillas líquido que comprende
- (a) una proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 por su longitud total en al menos el 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 % y 98,5 % y presenta en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 la sustitución de aminoácidos L211D en combinación con las sustituciones de aminoácidos S3T, V4I, V193M y V199I y
- (b) una amilasa.
2. Lavavajillas según la reivindicación 1, **caracterizado porque** la proteasa presenta en la posición 99 el aminoácido arginina (R) y/o porque la proteasa presenta en la posición 188 el aminoácido alanina (A) y/o porque la proteasa presenta una secuencia de aminoácidos de acuerdo con SEQ ID NO. 2.
3. Lavavajillas según las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizado porque** la amilasa es una variante de α -amilasa de la α -amilasa AA560 de acuerdo con SEQ ID NO. 3, que presenta una, dos, tres, cuatro, cinco o seis de las siguientes modificaciones de secuencia en la enumeración de acuerdo con la α -amilasa AA560: R118K, D183* (delección), G184* (delección), N195F, R320K, R458K.
4. Lavavajillas según una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque** la amilasa está contenida en una cantidad del 1×10^{-8} al 5 por ciento en peso, con respecto a la proteína activa, y/o porque la proteasa está contenida en una cantidad del 1×10^{-8} al 5 por ciento en peso, con respecto a la proteína activa.
5. Lavavajillas según una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** comprende además un componente que se selecciona de
- i. sustancia aniónica y/o polianiónica y/o
 - ii. sustancia catiónica y/o policatiónica y/o
 - iii. sustancia que presenta grupo(s) hidroxilo y/o polihidroxilo.
6. Lavavajillas según una de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado porque** comprende al menos otra sustancia constitutiva que se selecciona del grupo que está constituido por sustancia soporte, tensioactivo, polímero aniónico así como combinaciones de los mismos.
7. Lavavajillas según una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** comprende al menos otra enzima, en particular una proteasa, amilasa, celulasa, hemicelulasa, mananasa, tanasa, xilanasa, xantanasa, xiloglucanasa, β -glucosidasa, pectinasa, carragenasa, perhidrolasa, oxidasa, oxidorreductasa o una lipasa, así como sus mezclas.
8. Lavavajillas según una de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado porque** es un lavavajillas para máquina.
9. Uso de un lavavajillas según una de las reivindicaciones 1 a 8 para la eliminación de suciedades sensibles a proteasa en superficies duras.
10. Procedimiento para la limpieza de superficies duras, **caracterizado porque** en al menos una etapa de procedimiento se usa un lavavajillas según una de las reivindicaciones 1 a 8.
11. Procedimiento según la reivindicación 10, **caracterizado porque** la amilasa en el baño de limpieza se encuentra en una concentración del 1×10^{-10} -0,2 % en peso, y/o **porque** la proteasa en el baño de limpieza se encuentra en una concentración del 1×10^{-10} -0,2 % en peso.
12. Procedimiento según las reivindicaciones 10 u 11, **caracterizado porque** se realiza a una temperatura de entre 10 °C y 70 °C, preferentemente de entre 20 °C y 60 °C y de manera especialmente preferente de entre 30 °C y 50 °C.
13. Uso de una proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 por su longitud total en al menos el 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 % y 98,5 % y presenta en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 la sustitución de aminoácidos L211D en combinación con las sustituciones de aminoácidos S3T, V4I, V193M y V199I, para proporcionar una actividad proteolítica en un lavavajillas líquido que comprende una amilasa.