

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 651 109**

51 Int. Cl.:

C11D 3/386 (2006.01)

C12N 9/54 (2006.01)

C12N 9/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.07.2014 PCT/EP2014/065470**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.03.2015 WO15036152**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2014 E 14744019 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.10.2017 EP 3044302**

54 Título: **Agente de lavado para material textil sólido con rendimiento de proteasa mejorado**

30 Prioridad:

12.09.2013 DE 102013218253

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

24.01.2018

73 Titular/es:

**HENKEL AG & CO. KGAA (100.0%)
Henkelstrasse 67
40589 Düsseldorf, DE**

72 Inventor/es:

**O'CONNELL, TIMOTHY;
TONDERA, SUSANNE;
HELLMUTH, HENDRIK;
WEBER, THOMAS y
MUSSMANN, NINA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 651 109 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

Agente de lavado para material textil sólido con rendimiento de proteasa mejorado

5 La invención se encuentra en el campo de los agentes de lavado para material textil sólidos. La invención se refiere en particular a agentes de lavado para material textil que contienen enzimas sólidos, que contienen determinadas proteasas, y propone además procedimientos en los que se usan tales agentes. La invención se refiere además al uso de las determinadas proteasas en agentes de lavado para material textil sólidos.

10 Para agentes de lavado y de limpieza se usan preferentemente proteasas del tipo subtilisina. Las proteasas usadas en los agentes de lavado o de limpieza conocidos por el estado de la técnica proceden o bien originariamente de microorganismos, por ejemplo de los géneros *Bacillus*, *Streptomyces*, *Humicola* 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.

15 En la solicitud de patente internacional WO 95/23221 se divulgan proteasas o bien variantes de proteasa del tipo subtilisina de *Bacillus lentus* DSM 5483, que son adecuadas para su uso en agentes de lavado o de limpieza. Entre estas proteasas está también una que puede presentar un intercambio de aminoácidos R99E, A, S o G. Los agentes de lavado pueden ser sólidos o líquidos. Sin embargo, de este documento no se desprende directamente ni de
20 manera unívoca un agente de lavado para material textil sólido, que presente una proteasa, que contenga en la posición 99 el aminoácido ácido glutámico (E) o ácido aspártico (D) o el aminoácido asparagina (N) o glutamina (Q) o el aminoácido alanina (A) o glicina (G) o serina (S), y un determinado valor de pH.

Las proteasas mencionadas se conocen como sustancia constitutiva de agentes de lavado o de limpieza líquidos.

25 Por ejemplo se describen agentes de lavado o de limpieza líquidos ventajosos, que contienen una de las proteasas mencionadas en combinación con celulasas, en la solicitud de patente internacional WO 2012/080201. Se describen agentes de lavado o de limpieza líquidos que presentan una de las proteasas mencionadas en combinación con amilasas, en el documento WO 2012/080202.

30 Las ventajas de las proteasas mencionadas con respecto a las proteasas convencionales del estado de la técnica en agentes lavavajillas automáticos sólidos se divulgan en la solicitud de patente alemana DE 102012215107.9. Los agentes lavavajillas automáticos sólidos presentan por regla general altos valores de pH de 10 o más.

35 Sorprendentemente no pudo encontrarse hasta ahora ninguna ventaja de las proteasas mencionadas en agentes de lavado para material textil sólidos con perfil de pH igual que los agentes lavavajillas automáticos sólidos. Los altos valores de pH en la bañera de lavado y por consiguiente también altos valores alcalinos en los agentes de lavado contribuyen de manera conocida a la potencia de lavado. En cuanto al cuidado del material textil pueden tener sin embargo repercusiones negativas, de modo que en cuanto al cuidado del material textil y a la protección del material
40 textil son deseables valores de pH más bajos.

Por tanto existe el objetivo de mejorar la potencia de lavado de agentes de lavado para material textil sólidos, que presentan un valor de pH más bajo en solución al 1 % en peso en agua desionizada a 20 °C.

45 Sorprendentemente se determinó que las proteasas mencionadas anteriormente en agentes de lavado para material textil sólidos con valor de pH más bajo en solución al 1 % en peso en agua desionizada a 20 °C muestran ventajas en comparación con las hasta ahora proteasas que se usan hasta ahora en agentes de lavado para material textil sólidos.

50 Un primer objeto de la invención es por tanto un agente de lavado para material textil sólido, que contiene

(a1) una proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 en al menos el 80 % y que presenta en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido ácido glutámico (E) o ácido aspártico (D), o

55 (a2) una proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 en al menos el 80 % y que presenta en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido asparagina (N) o glutamina (Q), en el que el agente de lavado para material textil sólido en solución al 1 % en peso en agua desionizada a 20 °C presenta un valor de pH en un intervalo de 4,0 a inferior a 10.

60 Los agentes de lavado para material textil sólidos de acuerdo con la invención muestran en particular también ventajas de potencia en comparación con otros agentes de lavado para material textil sólidos, cuando los agentes de lavado para material textil sólidos contienen al menos una enzima adicional del mismo tipo o de un tipo diferente, o sea por ejemplo amilasa, celulasa, lipasa, mananasa o pectinasa, no siendo absoluto el listado de las otras enzimas.

65

Por tanto se prefiere que los agentes de lavado para material textil sólidos de acuerdo con la invención contengan al menos una enzima adicional del mismo tipo (o sea otra proteasa) o de un tipo diferente. Los agentes de acuerdo con la invención presentan en particular también una ventaja en comparación con los agentes de lavado para material textil sólidos convencionales cuando éstos no contienen agentes blanqueadores y en particular no contienen fuentes de agentes blanqueadores de peróxido inorgánicas u orgánicas.

En una forma de realización ventajosa de la invención presentan los agentes de lavado para material textil sólidos un valor de pH (solución al 1 % en peso en agua desionizada a 20 °C) de 6,5 a 9,5 y en particular de 7,0 a 9,0.

Un agente de acuerdo con la invención presenta en particular potencias de limpieza ventajosas en suciedades sensibles a proteasa. Una potencia de limpieza de este tipo en cuanto a al menos una suciedad sensible a la proteasa se produce en particular también a bajas temperaturas, por ejemplo a temperaturas de lavado de 10 °C a 50 °C, preferentemente de 10 °C a 40 °C o de 20 °C a 40 °C. Un agente de este tipo permite por tanto una separación satisfactoria o mejorada de al menos una, preferentemente de varias suciedades sensibles a proteasa sobre materiales textiles. Por potencia de limpieza se entiende en el contexto de la invención la potencia de aclaramiento de una o varias suciedades, en particular suciedades de la colada. Ejemplos de tales suciedades son sangre en algodón o chocolate con leche/hollín en algodón, cacao en algodón o gachas de avena en algodón.

La proteasa contenida en un agente de lavado para material textil sólido de acuerdo con la invención comprende una secuencia de aminoácidos, que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 en al menos el 80 % y que presenta en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido ácido glutámico (E) o ácido aspártico (D) o el aminoácido asparagina (N) o glutamina (Q). De manera cada vez más preferente, la secuencia de aminoácidos es idéntica en al menos el 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % y de manera muy especialmente preferente en el 99 % a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1. La SEQ ID NO. 1 es la secuencia de la proteasa alcalina madura de *Bacillus lentus* DSM 5483, que se ha divulgado en la solicitud de patente internacional WO 92/21760 y a cuya divulgación se hace referencia expresa por el presente documento.

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

En otra forma de realización de la invención, el agente de lavado para material textil sólido está caracterizado por que la proteasa presenta además en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 al menos uno de los siguientes aminoácidos:

- (a) treonina en la posición 3 (3T),
- (b) isoleucina en la posición 4 (4I),
- (c) alanina, treonina o arginina en la posición 61 (61A, 61T o 61R),
- (d) ácido aspártico o ácido glutámico en la posición 154 (154D o 154E),
- (e) prolina en la posición 188 (188P),
- (f) metionina en la posición 193 (193M),
- (g) isoleucina en la posición 199 (199I),
- (h) ácido aspártico, ácido glutámico o glicina en la posición 211 (211D, 211E o 211G),
- (i) combinaciones de los aminoácidos (a) a (h).

Además de uno de los aminoácidos mencionados en la posición 99, la proteasa presenta por tanto uno o varios de los aminoácidos mencionados anteriormente en las respectivas posiciones. Estos aminoácidos pueden producir otras propiedades ventajosas y/o reforzar aún propiedades ya existentes. En particular, los aminoácidos mencionados anteriormente producen un aumento de la actividad proteolítica y/o de la estabilidad de la proteasa en un agente de lavado para material textil sólido o bien en el baño de lavado formado por este agente de lavado.

Mediante la adición de una proteasa de este tipo a un agente de lavado para material textil sólido se obtiene por consiguiente igualmente un agente de lavado para material textil sólido especialmente estable en almacenamiento.

Las posiciones de aminoácidos se definen 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 está indicada ésta en SEQ ID NO. 1. Dado que la proteasa de *Bacillus lentus* representa en el estado de la técnica 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 ha de aplicarse 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*, las posiciones de

aminoácido en una proteasa que va a usarse de acuerdo con la invención son aquellas que están asignadas justamente a estas posiciones en un alineamiento.

5 Además de la posición 99, posiciones especialmente ventajosas son según esto las posiciones 3, 4, 61, 154, 188, 193, 199 y 211, pueden asignarse 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 aminoácidos: S3, V4, G61, S154, A188, V193, V199 y L211. Se prefieren especialmente los aminoácidos 3T, 4I, 61A, 154D, 154E, 211D, 211G y 211E, siempre que no se ocupen las correspondientes posiciones en una proteasa que va a usarse de acuerdo con la invención ya por uno de estos aminoácidos preferentes. Los intercambios 3T y 4I conducen por ejemplo por medio de un efecto de estabilización en la molécula a una mejora de la estabilidad en almacenamiento y de la potencia de limpieza de la proteasa y con ello a una potencia de limpieza mejorada de un agente de lavado para material textil sólido, que contiene la proteasa.

15 Si se efectúan uno o varios de los aminoácidos mencionados anteriormente en la respectiva posición, resultan adicionalmente a la posición 99 otras desviaciones de secuencia de SEQ ID NO. 1, dado que SEQ ID NO. 1 presenta otro aminoácido en la respectiva posición. Dependiendo del número de las desviaciones de secuencia existentes de SEQ ID NO. 1 resultan por tanto distintos valores de identidad máximos, 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. Esta situación ha de considerarse para cada posible combinación de los aminoácidos propuestos en particular y además depende también de la longitud de la secuencia de aminoácidos de la proteasa. Por ejemplo, la identidad máxima con una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve modificaciones de secuencia asciende al 99,63 %, 99,26 %, 98,88 %, 98,51 %, 98,14 %, 97,77 %, 97,40 %, 97,03 % o al 96,65 % con una secuencia de aminoácidos de 269 aminoácidos de longitud, o bien al 99,64 %, 99,27 %, 98,91 %, 98,55 %, 98,18 %, 97,82 %, 97,45 %, 97,09 % o al 96,73 % con una secuencia de aminoácidos de 275 aminoácidos de longitud.

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 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 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 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, 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 tiene en consideración, en caso de 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 sólo por regiones individuales. Las regiones homologas o bien 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 sólo 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 sólo a regiones individuales, eventualmente pequeñas. En tanto que no se indique 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.

65 En otra forma de realización de la divulgación, el agente de lavado para material textil sólido está caracterizado por que la proteasa comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada

en SEQ ID NO. 1, tal como se ha indicado anteriormente y que se obtiene o bien puede obtenerse de una proteasa de acuerdo con SEQ ID NO. 1 mediante una o múltiple sustitución de aminoácidos conservadora, presentando la proteasa en la posición 99 todavía uno de los aminoácidos previsto para esta posición, tal como se ha descrito anteriormente. El término "sustitución de aminoácidos conservadora" significa el intercambio (sustitución) de un resto de aminoácido por otro resto de aminoácido, en el que este intercambio no conduce a una modificación de la polaridad o carga en la posición del aminoácido intercambiado, por ejemplo el intercambio de un resto de aminoácido no polar por otro resto de aminoácido no polar. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras en el contexto de la divulgación comprenden por ejemplo: G=A=S, I=V=L=M, D=E, N=Q, K=R, Y=F, S=T, G=A=I=V=L=M=Y=F=W=P=S=T.

Numerosas proteasas y en particular subtilisinas se forman como las denominadas preproteínas, o sea conjuntamente con un propéptido y un péptido señal, consistiendo la función del péptido señal habitualmente en garantizar la descarga de la proteasa de la célula que la produce en el periplasma o el medio que rodea la célula, y es necesario el propéptido 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 peptidasa señal de la proteasa restante. A continuación se realiza el plegamiento definitivo 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 ejerce la proteasa entonces madura, en particular subtilisina, su actividad catalítica sin los aminoácidos N-terminales originariamente existentes. 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.

Un agente de acuerdo con la invención contiene la proteasa cada vez más preferentemente en una cantidad del 1×10^{-5} % en peso, del 0,0001-1 % en peso, del 0,0005-0,5 % en peso, del 0,001 % al 0,1 % en peso, en cada caso 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).

La proteasa y/o la al menos una enzima adicional de igual o distinto tipo pueden estar adsorbidas 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. La proteasa así confeccionada del tipo mencionado anteriormente puede estar contenida en cantidades del 0,05 % al 5 % en peso, preferentemente en cantidades del 0,05 % al 2 % en peso en el agente de lavado para material textil sólido. Las formas de confeccionamiento preferentes presentan del 0,05 % al 15 % en peso y en particular hasta el 10 % en peso de proteína activa en la proteasa mencionada.

Adicionalmente a esta proteasa pueden contener los agentes de lavado para material textil sólidos otras enzimas y presentan los agentes de lavado para material textil sólidos preferentes al menos otra enzima, tratándose en el caso de al menos otra enzima de otra proteasa, de una amilasa, celulasa, hemicelulasa, mananasa, tanasa, xilanas, xantanasa, xiloglucanasa, β -glucosidasa, pectinasa, carragenasa, perhidrolasa, oxidasa, oxidorreductasa o una lipasa así como sus mezclas. Las enzimas adicionales están contenidas 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. De manera cada vez más preferente está contenida cualquier enzima adicional 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, con respecto a la proteína activa, en los agentes de lavado para material textil sólidos. De manera especialmente preferente muestran las enzimas potencias de limpieza sinérgicas frente a determinadas suciedades o manchas, es decir las enzimas contenidas en la composición del agente se apoyan recíprocamente en su potencia de limpieza. De manera muy especialmente preferente se encuentra un sinergismo de este tipo entre la proteasa contenida de acuerdo con la invención y otra enzima, entre esto en particular entre la proteasa mencionada y una amilasa y/o una lipasa y/o una mananasa y/o una celulasa y/o una pectinasa. Los efectos sinérgicos pueden producirse no sólo entre distintas enzimas, sino también entre una o varias enzimas y otras sustancias constitutivas del agente de acuerdo con la invención. Los agentes de lavado para material textil sólidos preferentes presentan por tanto al menos una proteasa y al menos una amilasa. En otra forma de realización preferente de la invención, los agentes de lavado para material textil sólidos presentan al menos una proteasa y al menos una celulasa. En otra forma de realización preferente, los agentes de lavado para material textil sólidos presentan al menos una proteasa y al menos una lipasa. Se prefieren especialmente agentes de lavado para material textil sólidos, que presentan de 3 a 10 enzimas distintas, pudiendo ser los agentes de lavado para material textil sólidos, que presentan de 3 a 10 tipos de enzima distintos, de especial preferencia en cuanto a la potencia de limpieza frente a un espectro de manchas muy grande.

Los agentes de lavado para material textil sólidos pueden encontrarse como sólidos de en forma de polvo a granulados, sin embargo también en forma compactada o en forma compactada posteriormente. En principio éstos pueden contener todas las sustancias constitutivas conocidas y habituales en agentes de este tipo. Los agentes de lavado para material textil sólidos de acuerdo con la invención pueden contener en particular sustancias ayudantes, tensioactivos de superficie activa, las enzimas mencionadas ya anteriormente, estabilizadores enzimáticos, agentes secuestrantes, electrolitos, reguladores de pH y otros coadyuvantes, tales como blanqueadores ópticos, inhibidores del agrisado, inhibidores de la transferencia de color, reguladores de la espuma, así como colorantes y sustancias aromáticas. Aunque se prefieren especialmente agentes libres de agentes blanqueadores y en particular agentes libres de peróxidos, no se excluyen en general así los agentes blanqueadores como compuestos de peróxido y activadores de peróxido, sin embargo también catalizadores de blanqueo que contienen metal o libre de metal.

Como compuestos de peróxido orgánicos o inorgánicos adecuados se tienen en consideración perácidos orgánicos o sales perácidas de ácidos orgánicos, tales como ácido ftalimidopercaprónico, ácido perbenzoico o sales del ácido diperdodecandioico, en particular sin embargo compuestos de peróxido inorgánicos tales como peróxido de hidrógeno y sales inorgánicas que desprenden peróxido de hidrógeno en las condiciones de limpieza, tales como perborato, percarbonato, persulfato, y compuestos de inclusión de peróxido de hidrógeno, tal como aducto de H₂O₂-urea. El peróxido de hidrógeno puede generarse a este respecto también con ayuda de un sistema enzimático, es decir de una oxidasa y sus sustrato. Siempre que deban usarse compuestos de peróxido sólidos, pueden usarse éstos en forma de polvos o granulados, que pueden estar cubiertos también de manera en principio conocida. Los compuestos de peróxido pueden añadirse como tales o en forma de agentes que contienen éstos, que pueden contener en principio todas las partes constituyentes de agentes de lavado, de limpieza o de desinfección habituales, a la solución alcalina de lavado o bien de limpieza. De manera especialmente preferente se usa percarbonato alcalino o perborato alcalino monohidratado. En el caso de que un agente de lavado para material textil sólido de acuerdo con la invención contenga compuestos de peróxido, están presentes éstos preferentemente en cantidades del 0,1 % en peso al 20 % en peso.

Los activadores de blanqueo adecuados son compuestos que llevan grupos O-acilo y/o N-acilo y/o grupos benzoílo eventualmente sustituidos. Se prefieren alquilendiaminas aciladas varias veces, en particular tetraacetiletilendiamina (TAED), glicolurilos acilados, en particular tetraacetilglicolurilo (TAGU), derivados de triazina acilados, en particular 1,5-diacetil-2,4-dioxohexahidro-1,3,5-triazina (DADHT), N-acilimidaz, en particular N-nonanoilsuccinimida (NOSI), fenol-sulfonatos o -carboxilatos acilados o bien los ácidos sulfónicos o carboxílicos de éstos, en particular nonanoil- o isononanoil- o lauroiloxibencenosulfonato (NOBS o bien iso-NOBS o bien LOBS), 4-(2-decanoiloxietoxicarbonilo)-bencenosulfonato (DECOBS) o decanoiloxibenzoato (DOBA), alcoholes polihidroxiados acilados, en particular triacetina, diacetato de etilenglicol y 2,5-diacetoxi-2,5-dihidrofurano así como sorbitol y manitol acetilado y sus mezclas (SORMAN), derivados de azúcar acilados, en particular pentaacetilglucosa (PAG), pentaacetilfructosa, tetraacetilxilosa y octaacetilactosa, glucamina y gluconolactona acetilada, eventualmente N-alquilada, lactamas N-aciladas, por ejemplo N-benzoilcaprolactama, nitrilos, a partir de los cuales se forman ácidos perimídicos, en particular derivados de aminoacetonitrilo con átomo de nitrógeno cuaternizado, y/o sulfoniminas que transfieren oxígeno y/o acilhidrazonas. Estos activadores de blanqueo pueden estar contenidos en los agentes preferentemente hasta el 10 % en peso.

Los agentes de acuerdo con la invención pueden contener uno o varios tensioactivos, teniéndose en cuenta en particular tensioactivos aniónicos, tensioactivos no iónicos y sus mezclas. Los tensioactivos no iónicos adecuados son en particular alquiglicósidos y productos de etoxilación y/o propoxilación de alquiglicósidos o alcoholes lineales o ramificados con en cada caso de 8 a aproximadamente 18 átomos de C en la parte alquilo y de 3 a 20, preferentemente de 4 a 10 grupos alquiléter. Además pueden usarse correspondientes productos de etoxilación y/o propoxilación de N-alquil-aminas, dioles vecinales, ésteres de ácidos grasos y amidas de ácidos grasos que corresponden en cuanto a la parte alquilo a los derivados de alcohol de cadena larga mencionados, así como de alquilfenoles con 5 a 12 átomos de C en el resto alquilo.

Los tensioactivos aniónicos adecuados son en particular jabones y aquéllos que contienen grupos sulfato o sulfonato con preferentemente iones alcalinos como cationes. Los jabones que pueden usarse son preferentemente las sales alcalinas de los ácidos grasos saturados o insaturados con 12 a 18 átomos de C. Los ácidos grasos de este tipo pueden usarse también en forma no completamente neutralizada. A los tensioactivos útiles del tipo de sulfato pertenecen las sales de los semiésteres de ácido sulfúrico de alcoholes grasos con 12 a 18 átomos de C y los productos de sulfatación de los tensioactivos no iónicos mencionados con bajo grado de etoxilación. A los tensioactivos que pueden usarse del tipo sulfonato pertenecen alquibencenosulfonatos lineales con 9 a 14 átomos de C en la parte alquilo, alcanosulfonatos con 12 a 18 átomos de C, así como olefinsulfonatos con 12 a 18 átomos de C, que se producen en la reacción de correspondientes monoolefinas con trióxido de azufre, así como ésteres de ácido alfa-sulfograso, que se producen en la sulfonación de ésteres metílicos o etílicos de ácidos grasos.

Los tensioactivos de este tipo están contenidos en los agentes de lavado para material textil sólidos de acuerdo con la invención en proporciones de cantidad de preferentemente el 5 % en peso al 50 % en peso y en particular del 8 % en peso al 30 % en peso.

Un agente de acuerdo con la invención contiene preferentemente al menos un ayudante soluble en agua y/o insoluble en agua, orgánico y/o inorgánico. A las sustancias ayudantes orgánicas solubles en agua pertenecen ácidos policarboxílicos, en particular ácido cítrico, ácidos sacáridos y carboximetilulinas, ácidos aminopolicarboxílicos monoméricos y poliméricos, en particular ácido glicindiacético, ácido metilglicindiacético, ácido nitrilotriacético, iminodisuccinatos tales como ácido etilendiamin-N,N'-disuccínico y hidroxiiminodisuccinatos, ácido etilendiamintetraacético así como ácido poliaspártico, ácidos polifosfónicos, en particular ácido aminotris(metilenfosfónico), ácido etilendiamintetrakis(metilenfosfónico), ácido lisintetra(metilenfosfónico) y ácido 1-hidroxietan-1,1-difosfónico, compuestos de hidroxipoliméricos como dextrina así como ácidos (poli)carboxílicos poliméricos, en particular policarboxilatos accesibles mediante oxidación de polisacáridos, ácidos acrílicos, ácidos metacrílicos, ácidos maleicos poliméricos y polímeros mixtos de éstos, que pueden contener de manera polimerizada también bajas proporciones de sustancias polimerizables sin funcionalidad ácido carboxílico. La masa molecular promedio relativa (aquí y a continuación: promedio en peso) de los homopolímeros de ácidos carboxílicos insaturados se encuentra en general entre 5.000 g/mol y 200.000 g/mol, la de los copolímeros entre 2.000 g/mol y 200.000 g/mol, preferentemente de 50.000 g/mol a 120.000 g/mol, en cada caso con respecto al ácido libre. Un copolímero de ácido acrílico-ácido maleico especialmente preferente presenta una masa molecular promedio relativa de 50.000 g/mol a 100000 g/mol. Los compuestos de esta clase adecuados, aunque también menos preferentes son copolímeros del ácido acrílico o ácido metacrílico con éteres vinílicos, tales como vinilmetiléteres, ésteres vinílicos, etileno, propileno y estireno, en los que la proporción del ácido asciende al menos al 50 % en peso. Como sustancias ayudantes orgánicas solubles en agua pueden usarse también terpolímeros, que contienen como monómeros dos ácidos insaturados y/o sus sales y como tercer monómero alcohol vinílico y/o un derivado de alcohol vinílico o un hidrato de carbono. El primer monómero ácido o bien su sal se deriva de un ácido carboxílico C₃-C₈ monoetilénicamente insaturado y preferentemente de un ácido monocarboxílico C₃-C₄, en particular de ácido (met)acrílico. El segundo monómero ácido o bien su sal puede ser un derivado de un ácido dicarboxílico C₄-C₈, prefiriéndose especialmente ácido maleico. La tercera unidad monomérica se forma en este caso de alcohol vinílico y/o preferentemente un alcohol vinílico esterificado. En particular se prefieren derivados de alcohol vinílico que representan un éster de ácidos carboxílicos de cadena corta, por ejemplo de ácidos carboxílicos C₁-C₄, con alcohol vinílico. Los polímeros preferentes contienen a este respecto del 60 % en peso al 95 % en peso, en particular del 70 % en peso al 90 % en peso de ácido (met)acrílico o bien (met)acrilato, de manera especialmente preferente ácido acrílico o bien acrilato, y ácido maleico o bien maleinato así como del 5 % en peso al 40 % en peso, preferentemente del 10 % en peso al 30 % en peso de alcohol vinílico y/o acetato de vinilo. Se prefieren muy especialmente a este respecto polímeros, en los que la proporción en peso de ácido (met)acrílico o bien (met)acrilato con respecto a ácido maleico o bien maleinato se encuentra entre 1:1 y 4:1, preferentemente entre 2:1 y 3:1 y en particular entre 2:1 y 2,5:1. A este respecto se refieren tanto las cantidades como también las proporciones en peso a los ácidos. El segundo monómero ácido o bien su sal puede ser también un derivado de un ácido alilsulfónico, que está sustituido en la posición 2 con un resto alquilo, preferentemente con un resto alquilo C₁-C₄, o un resto aromático, que se deriva preferentemente de benceno o derivados de benceno. Los terpolímeros preferentes contienen a este respecto del 40 % en peso al 60 % en peso, en particular del 45 % al 55 % en peso de ácido (met)acrílico o bien (met)acrilato, de manera especialmente preferente ácido acrílico o bien acrilato, del 10 % en peso al 30 % en peso, preferentemente del 15 % en peso al 25 % en peso de ácido metalilsulfónico o bien sulfonato de metalilo y como tercer monómero del 15 % en peso al 40 % en peso, preferentemente del 20 % en peso al 40 % en peso de un hidrato de carbono. Este hidrato de carbono puede ser a este respecto por ejemplo un mono-, di-, oligo- o polisacárido, prefiriéndose mono-, di- u oligosacáridos. Se prefiere especialmente sacarosa. Mediante el uso del tercer monómero se incorporan supuestamente sitios de rotura teórica en el polímero, que son responsables de la buena biodegradabilidad del polímero. Estos terpolímeros presentan en general una masa molecular promedio relativa entre 1.000 g/mol y 200.000 g/mol, preferentemente entre 200 g/mol y 50.000 g/mol. Otros copolímeros preferentes son aquéllos que presentan como monómeros acroleína y ácido acrílico/sales de ácido acrílico o bien acetato de vinilo. Todos los ácidos mencionados se usan por regla general en forma de sus sales solubles en agua, en particular sus sales alcalinas.

Las sustancias ayudantes orgánicas de este tipo pueden estar contenidas en caso deseado en cantidades hasta el 40 % en peso, en particular hasta el 25 % en peso y preferentemente del 1 % en peso al 8 % en peso.

Como materiales ayudantes inorgánicos insolubles en agua se usan en particular aluminosilicatos alcalinos cristalinos o amorfos, dispersables en agua, preferentemente en cantidades no superiores al 25 % en peso, en particular del 3 % en peso al 20% en peso y de manera especialmente preferente en cantidades del 1 % en peso al 15 % en peso. Entre estos se prefieren los aluminosilicatos de sodio cristalinos en calidad para agentes de lavado, en particular zeolita A, zeolita P así como zeolita MAP y eventualmente zeolita X. Los aluminosilicatos adecuados no presentan en particular partículas con un tamaño de grano superior a 30 µm y están constituidos preferentemente en al menos un 80 % en peso por partículas con un tamaño inferior a 10 µm. Su capacidad de unión a calcio se encuentra por regla general en el intervalo de 100 a 200 mg de CaO por gramo.

Como sustancias ayudantes solubles en agua se prefieren sobre todo carbonatos alcalinos, hidrogenocarbonatos alcalinos y/o sesquicarbonatos. En particular se usan carbonatos e hidrogenocarbonatos de sodio y o potasio en los agentes de lavado para material textil sólidos. Eventualmente pueden estar contenidos también bajas cantidades de carbonatos de calcio en los agentes de lavado para material textil sólidos.

Adicionalmente o como alternativa al aluminosilicato insoluble en agua mencionado y al carbonato de alquilo soluble en agua pueden estar contenidos otros materiales ayudantes inorgánicos solubles en agua. A éstos pertenecen en particular los ayudantes de silicatos alcalinos solubles en agua cristalinos y/o amorfos. Los materiales ayudantes inorgánicos solubles en agua de este tipo están contenidos en agentes de acuerdo con la invención preferentemente en cantidades del 1 % en peso al 20 % en peso, en particular del 5 % en peso al 15 % en peso. Los silicatos alcalinos que pueden usarse como materiales ayudantes presentan preferentemente una proporción molar de óxido alcalino con respecto a SiO_2 por debajo de 0,95, en particular de 1:1,1 a 1:12 y pueden encontrarse de manera amorfa o cristalina. Los silicatos alcalinos preferentes son los silicatos de sodio, en particular los silicatos de sodio amorfos, con una proporción molar $\text{Na}_2\text{O}:\text{SiO}_2$ de 1:2 a 1:2,8. Como silicatos cristalinos que pueden encontrarse solos o en mezcla con silicatos amorfos se usan preferentemente silicatos estratificados cristalinos de fórmula general $\text{Na}_2\text{Si}_x\text{O}_{2x+1}$ y H_2O , en la que x, el denominado módulo, es un número de 1,9 a 4 e y es un número de 0 a 20 y son valores preferentes para x 2, 3 ó 4. Los silicatos estratificados cristalinos preferentes son aquéllos en los que x adopta en la fórmula general mencionada los valores 2 ó 3. En particular se prefieren tanto β -disilicatos de sodio como δ -disilicatos de sodio ($\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ y H_2O). Pueden usarse en agentes de acuerdo con la invención también silicatos alcalinos cristalinos prácticamente libres de agua, preparados a partir de silicatos alcalinos amorfos, de la fórmula general mencionada anteriormente, en la que x significa un número de 1,9 a 2,1. En otra forma de realización preferente de agentes de acuerdo con la invención se usa un silicato estratificado de sodio cristalino con un módulo de 2 a 3, tal como puede prepararse a partir de arena y carbonato de sodio. Los silicatos de sodio con un módulo en el intervalo de 1,9 a 3,5 se usan en otra forma de realización de agentes de acuerdo con la invención. En una configuración preferente de agentes de acuerdo con la invención se usa un aditivo granular de silicato alcalino y carbonato alcalino.

Los inhibidores del agrisado o bien los principios activos anti-manchas adecuados son éteres de celulosa, como carboximetilcelulosa, metilcelulosa, hidroxialquilcelulosas y éteres mixtos de celulosa, tal como metilhidroxietilcelulosa, metilhidroxipropilcelulosa y metil-carboximetilcelulosa. Preferentemente se usan carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilmetilcelulosa y sus mezclas y eventualmente sus mezclas con metilcelulosa. A los principios activos anti-manchas usados habitualmente pertenecen copoliésteres, que contienen unidades de ácido dicarboxílico, unidades de alquilenglicol y unidades de polialquilenglicol. La proporción de inhibidores del agrisado y/o principios activos anti-manchas en agentes de acuerdo con la invención se encuentra en general no superior al 2 % en peso y asciende preferentemente a del 0,5 % en peso al 1,5 % en peso.

Como blanqueadores ópticos para en particular materiales textiles de fibras de celulosa (por ejemplo algodón) pueden estar contenidos por ejemplo derivados del ácido diaminoestilbenodisulfónico o sus sales de metal alcalino. Son adecuadas, por ejemplo, sales del ácido 4,4'-bis(2-anilino-4-morfolino-1,3,5-triazinil-6-amino)estilbeno-2,2'-disulfónico o compuestos constituidos de manera similar, que en lugar del grupo morfolino llevan un grupo dietanolamino, un grupo metilamino, un grupo anilino o un grupo 2-metoxietilamino. Además pueden estar presentes blanqueadores del tipo del 4,4'-diestiril-difenil sustituido, por ejemplo 4,4'-bis(4-cloro-3-sulfoestiril)-difenilo. Pueden usarse también mezclas de los blanqueadores. Para fibras de poliamida son especialmente muy adecuados blanqueadores del tipo 1,3-diaril-2-pirazolinas, por ejemplo 1-(p-sulfoamofenil)-3-(p-clorofenil)-2-pirazolina así como compuestos estructurados de igual manera. El contenido del agente en blanqueadores ópticos o bien mezclas de blanqueadores se encuentra en general no superior al 1 % en peso, preferentemente del 0,05 % en peso al 0,5 % en peso. En una forma de realización preferente de la invención está el agente libre de principios activos de este tipo.

A los reguladores de espuma habituales que pueden usarse en los agentes de acuerdo con la invención pertenecen por ejemplo mezclas de polisiloxan-ácido silícico, estando el ácido silícico finamente dividido contenido en las mismas preferentemente silanado o de otra manera hidrofobizado. Los polisiloxanos pueden estar constituidos tanto por compuestos lineales como también por resinas de polisiloxanos reticuladas así como por sus mezclas. Otros agentes desespumantes son hidrocarburos de parafina, en particular microparafinas y ceras de parafina, cuyo punto de fusión se encuentra por encima de 40 °C, ácidos grasos saturados o bien jabones con en particular de 20 a 22 átomos de C, por ejemplo behenato de sodio, y sales alcalinas de ésteres mono- y/o dialquílicos de ácido fosfórico, en los que las cadenas alquílicas presentan en cada caso de 12 a 22 átomos de C. Entre éstos se usa preferentemente monoalquifosfato y/o dialquifosfato de sodio con grupos alquilo C_{16} a C_{18} . La proporción de los reguladores de espuma puede ascender preferentemente a del 0,2 % en peso al 2 % en peso.

Para el ajuste del valor de pH deseado pueden contener los agentes de acuerdo con la invención ácidos compatibles con el sistema y el medioambiente, en particular ácido cítrico, ácido acético, ácido tartárico, ácido málico, ácido láctico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido glutárico y/o ácido adípico, sin embargo también ácidos minerales, en particular ácido sulfúrico o hidrogenosulfatos alcalinos, o bases en particular hidróxidos de amonio o alcalinos. Los reguladores de pH de este tipo están contenidos en los agentes de acuerdo con la invención preferentemente en no más del 10 % en peso, en particular del 0,5 % en peso al 6 % en peso.

Los agentes de acuerdo con la invención se encuentran preferentemente como preparados en forma de polvo, granulados o en forma de comprimidos, que pueden prepararse de manera en sí conocida, por ejemplo mediante mezclado, granulado, compactación por rodillos, extrusión y/o mediante secado por pulverización de los componentes que pueden cargarse térmicamente y mezclado de los componentes más sensibles, entre los que están incluidos en particular enzimas y agentes de blanqueo así como sistemas de activación del blanqueo. Los

agentes de lavado para material textil sólidos pueden presentar una densidad aparente de 350 a 950 g/l, los agentes compactados posteriormente incluso superior a esto. Para la fabricación de agentes de acuerdo con la invención con elevada densidad aparente, en particular en el intervalo de 650 g/l a 950 g/l, se prefiere un procedimiento que presenta una etapa de extrusión.

5 Para la fabricación de agentes de lavado para material textil de acuerdo con la invención en forma de comprimidos se procede preferentemente de manera que se mezclan entre sí todas las partes constituyentes o distintos aditivos en una mezcladora y la mezcla se comprime por medio de prensas para la preparación de comprimidos convencionales, por ejemplo prensas excéntricas o prensas rotativas, con presiones de prensado en el intervalo de 10 200 10⁵ Pa a 1.500 10⁵ Pa. Se obtiene así sin problemas comprimidos resistentes a la rotura y sin embargo rápidamente solubles de manera suficiente en las condiciones de aplicación con resistencia a la flexión de normalmente de más de 150 N. Preferentemente, un comprimido preparado de esta manera presenta un peso de 15 g a 40 g, en particular de 20 g a 30 g, con un diámetro de 35 mm a 40 mm.

15 Otro objeto de la invención lo representa un procedimiento para la limpieza de materiales textiles, en el que en al menos una etapa de procedimiento se usa un agente de lavado para material textil sólido de acuerdo con la invención. Entre esto se encuentran tanto procedimientos manuales como también a máquina, prefiriéndose procedimientos a máquina debido a su capacidad de control más precisa, lo que afecta por ejemplo a las cantidades usadas y tiempos de acción. Los procedimientos para la limpieza de materiales textiles se caracterizan en general por que en una o varias etapas de procedimiento se aplican distintas sustancias de limpieza activa sobre el material a limpiar y tras el tiempo de acción se separan por lavado, o por que el material a limpiar se trata de otra manera con un agente de lavado o una solución de este agente. Todos los supuestos, objetos y formas de realización, que se han descrito para agentes de lavado para material textil 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 correspondientes sitios con la indicación de que esta divulgación se aplica también para los procedimientos de acuerdo con la invención mencionados anteriormente.

30 En particular, en procedimientos que se realizan a una temperatura entre 10 °C y 50 °C, preferentemente entre 10 °C y 40 °C y de manera especialmente preferente entre 20 °C y 40 °C, se vuelven visibles para el consumidor las ventajas con el uso de los agentes de lavado para material textil sólidos de acuerdo con la invención en comparación con agentes de lavado para material textil sólidos con proteasas usadas de manera convencional.

35 Las proteasas usadas en agentes de acuerdo con la invención pueden usarse ventajosamente de manera correspondiente a las realizaciones mencionadas anteriormente en agentes de lavado para material textil sólidos así como procedimientos para el lavado de material textil. Éstas pueden usarse por tanto ventajosamente para facilitar en correspondientes agentes y procedimientos una actividad proteolítica.

Otro objeto de la invención los forma por tanto el uso de una proteasa,

40 (a1) que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 en al menos el 80 % y que presenta en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido ácido glutámico (E) o ácido aspártico (D), o
 45 (a2) que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 en al menos el 80 % y que presenta en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido asparagina (N) o glutamina (Q), para la facilitación de una actividad proteolítica en un agente de lavado para material textil sólido, que presenta en solución al 1 % en peso en agua desionizada a 20 °C un valor de pH en el intervalo de 4,0 a inferior a 10.

50 En otra forma de realización, este uso está caracterizado por que la proteasa además presenta en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 al menos uno de los siguientes aminoácidos:

(a) treonina en la posición 3 (3T),
 (b) isoleucina en la posición 4 (4I),
 55 (c) alanina, treonina o arginina en la posición 61 (61A, 61T o 61R),
 (d) ácido aspártico o ácido glutámico en la posición 154 (154D o 154E),
 (e) prolina en la posición 188 (188P),
 (f) metionina en la posición 193 (193M),
 (g) isoleucina en la posición 199 (199I),
 60 (h) ácido aspártico, ácido glutámico o glicina en la posición 211 (211D, 211E o 211G),
 (i) combinaciones de los aminoácidos (a) a (h).

65 Todos los supuestos, objetos y formas de realización que se han descrito para el agente de lavado para material textil sólido, pueden aplicarse también a los usos mencionados. Por tanto se remite en este punto de manera expresa a la divulgación en correspondientes sitios con la indicación de que esta divulgación se aplica también para los usos de acuerdo con la invención mencionados anteriormente.

Es especialmente ventajoso también el uso de un agente de lavado para material textil sólido de acuerdo con la invención para la separación de suciedades sensibles a proteasas sobre materiales textiles. Por ejemplo el lavado a mano, la eliminación manual de manchas de materiales textiles o el uso en relación con un procedimiento a máquina representan formas de realización especialmente preferentes.

5

Ejemplos

El producto Persil Megaperls® Color, tal como podía obtenerse en el comercio en abril de 2013 en Alemania y que contenía una proteasa del estado de la técnica, que presentaba potencias de lavado muy buenas a temperaturas de 40 °C y por debajo de esto, sirvió como producto de comparación V con respecto a un agente de lavado para material textil sólido E de acuerdo con la invención, que era idéntico al producto de comparación Persil Megaperls® Color con la excepción de la proteasa. En el agente de lavado para material textil sólido E de acuerdo con la invención se usó en lugar de la proteasa convencional una proteasa de acuerdo con SEQ ID NO. 2, que coincidía en posiciones 1 a 98 y 100 a 269 con SEQ ID No. 2 y que presentaba en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID No. 1 el aminoácido ácido glutámico E. Los dos productos E y V contenían el 0,76 % en peso, con respecto al respectivo agente, de las respectivas formas de preparación de enzimas confeccionadas sólidas (granulados enzimáticos). Los dos productos contenían enzimas adicionales en cantidades idénticas. Los dos productos E y V se sometieron a prueba para determinar sus potencias frente a suciedades sensibles a proteasas.

10

15

20

Para ello se lavaron en cada caso 3,5 kg de colada de relleno limpia y 4 paños con suciedad, tal como pueden obtenerse en el comercio, con en cada caso 67,5 g de E y V en un programa normal a 40 °C en una lavadora Miele y con agua de una dureza de agua de 15 a 17 °d y a continuación se secaron (procedimiento de prueba AISE). Se usaron los siguientes paños con suciedad:

25

- CFT CS01 - sangre en algodón
- CFT C03 - chocolate con leche/hollín en algodón
- EMPA 112 - suciedad de cacao en algodón
- EMPA 163 - suciedad de gachas de avena en algodón

30

El grado de blancura como medida de la potencia de limpieza, es decir el aclaramiento de las suciedades, se midió con el espectrómetro Minolta CM508d. El aparato se había calibrado previamente con un patrón blanco provisto en el 100 %.

35

En la tabla 1 se indican las diferencias de los valores de remisión (RD) para E en comparación con V (es decir los valores de remisión de los paños con suciedad lavados con E eran en el valor de diferencia indicado en la tabla 1 más alto que para los paños con suciedad lavados con V) como valores promedio de 6 determinaciones así como los errores en la determinación de 6 veces (HSD).

Tabla 1: resultados de lavado (diferencia de los valores de remisión RD)

40

Paño con suciedad	RD (E con respecto a V)	HSD
CFT CS01	13,8	3,9
CFT C03	7,9	1,7
EMPA 112	4,8	1,5
EMPA 163	3,4	2,1

Todos los valores de diferencia medidos son significativos.

LISTADO DE SECUENCIAS

45

<110> Henkel AG & Co. KgaA

<120> Agente de lavado para material textil sólido con rendimiento de proteasa mejorado

50

<130> PT032002

<150> DE102013218253,8

<151> 12-09-2013

55

<160> 2

<170> PatentIn versión 3.5

ES 2 651 109 T3

<210> 1
 <211> 269
 <212> PRT
 <213> *Bacillus lentus*

5

<400> 1

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

ES 2 651 109 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 Glu 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

ES 2 651 109 T3

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							

REIVINDICACIONES

1. Agente de lavado para material textil sólido que comprende

- 5 (a1) una proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 en al menos el 80 % y que presenta en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido ácido glutámico (E) o ácido aspártico (D), o
 10 (a2) una proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 en al menos el 80 % y que presenta en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido asparagina (N) o glutamina (Q),

en el que el agente de lavado para material textil sólido presenta en solución al 1 % en peso en agua desionizada a 20 °C un valor de pH en un intervalo de 4,0 a inferior a 10.

15 2. Agente de lavado para material textil sólido según la reivindicación 1, caracterizado por que la proteasa presenta además en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 al menos uno de los siguientes aminoácidos:

- (a) treonina en la posición 3 (3T),
 20 (b) isoleucina en la posición 4 (4I),
 (c) alanina, treonina o arginina en la posición 61 (61A, 61T o 61R),
 (d) ácido aspártico o ácido glutámico en la posición 154 (154D o 154E),
 (e) prolina en la posición 188 (188P),
 (f) metionina en la posición 193 (193M),
 25 (g) isoleucina en la posición 199 (199I),
 (h) ácido aspártico, ácido glutámico o glicina en la posición 211 (211D, 211E o 211G),
 (i) combinaciones de los aminoácidos (a) a (h).

30 3. Agente de lavado para material textil sólido según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que éste contiene al menos una enzima adicional del mismo tipo o de un tipo diferente.

35 4. Agente de lavado para material textil sólido según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la al menos una enzima adicional comprende una proteasa, amilasa, celulasa, hemicelulasa, mananasa, tanasa, xilanasa, xantanasa, xiloglucanasa, β-glucosidasa, pectinasa, carragenasa, perhidrolasa, oxidasa, oxidorreductasa o una lipasa así como sus mezclas.

5. Agente de lavado para material textil sólido según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que éste no contiene agentes blanqueadores, en particular no contiene fuentes de peróxido inorgánicas u orgánicas.

40 6. Agente de lavado para material textil sólido según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que éste presenta un valor de pH (solución al 1 % en peso en agua desionizada a 20 °C) de 6,5 a 9,5 y en particular de 7,0 a 9,0.

45 7. Procedimiento para la limpieza de materiales textiles, caracterizado por que en al menos una etapa de procedimiento se usa un agente de lavado para material textil sólido según una de las reivindicaciones 1 a 6.

8. Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado por que éste se realiza a una temperatura entre 10 °C y 50 °C, preferentemente entre 10 °C y 40 °C y de manera especialmente preferente entre 20 °C y 40 °C.

50 9. Uso de una proteasa,

- (a1) que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 en al menos el 80 % y que presenta en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido ácido glutámico (E) o ácido aspártico (D), o
 55 (a2) que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 1 en al menos el 80 % y que presenta en la posición 99 en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 el aminoácido asparagina (N) o glutamina (Q), para la facilitación de una actividad proteolítica en un agente de lavado para material textil sólido, que presenta en solución al 1 % en peso en agua desionizada a 20 °C un valor de pH en el intervalo de 4 a inferior a 10.

60 10. Uso según la reivindicación 9, caracterizado por que la proteasa presenta además en la enumeración de acuerdo con SEQ ID NO. 1 al menos uno de los siguientes aminoácidos:

- (a) treonina en la posición 3 (3T),
 65 (b) isoleucina en la posición 4 (4I),
 (c) alanina, treonina o arginina en la posición 61 (61A, 61T o 61R),

ES 2 651 109 T3

- (d) ácido aspártico o ácido glutámico en la posición 154 (154D o 154E),
- (e) prolina en la posición 188 (188P),
- (f) metionina en la posición 193 (193M),
- (g) isoleucina en la posición 199 (199I),
- 5 (h) ácido aspártico, ácido glutámico o glicina en la posición 211 (211D, 211E o 211G),
- (i) combinaciones de los aminoácidos (a) a (h).