

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 699 838**

51 Int. Cl.:

C11D 3/386 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.04.2015 PCT/EP2015/059566**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.11.2015 WO15166075**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2015 E 15720956 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.09.2018 EP 3137587**

54 Título: **Composición de detergente**

30 Prioridad:

**02.05.2014 EP 14166842
02.05.2014 EP 14166844
28.05.2014 EP 14170247
16.06.2014 EP 14172551
09.03.2015 EP 15158240**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.02.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**GORI, KLAUS;
BALTSSEN, LILIAN EVA TANG;
ALLESEN-HOLM, MARIE;
NOERGAARD, ALLAN;
LEHMBECK, JAN y
SCHNORR, KIRK, MATTHEW**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 699 838 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

Composición de detergente

Referencia a un listado de secuencias

5 [0001] Esta solicitud contiene un listado de secuencias en forma legible por ordenador, que se incorpora en la presente para referencia.

Campo de la invención

[0002] La presente invención se refiere al uso de un polipéptido con actividad de desoxirribonucleasa (ADNsa) para prevenir, reducir o eliminar una biopelícula de un artículo, una composición que comprende tal polipéptido y un método de limpieza.

10 Antecedentes de la invención

[0003] Los microorganismos viven generalmente fijados a superficies en muchos ambientes naturales, industriales y médicos, encapsulados por sustancias extracelulares incluyendo biopolímeros y macromoléculas. La capa resultante de microorganismo encapsulado en limo se denomina una biopelícula. Las biopelículas son el modo predominante de crecimiento de las bacterias en el ambiente natural, y las bacterias que crecen en biopelículas exhiben propiedades fisiológicas distintas.

[0004] Las superficies duras se exponen a ADN y bacterias del ambiente en los que se usan. La vajilla se expone a ADN y bacterias de la comida servida o cocinada en los platos. Algunas de estas bacterias son capaces de adherirse al artículo y formar una biopelícula en el artículo. La presencia de ADN y bacterias implica que los artículos se vuelven pegajosos y por lo tanto la suciedad se adhiere a las áreas pegajosas. Esta suciedad ha demostrado ser difícil de eliminar con composiciones detergentes disponibles comercialmente. Además, cuando se lavan artículos muy sucios junto con artículos menos sucios, la suciedad presente en la solución de lavado tiende a pegarse a la biopelícula. Como resultado de esto, el artículo está más "sucio" después de la limpieza que antes de lavar. Además, estas bacterias son una fuente de mal olor, que se desarrolla tras el uso del artículo. El mal olor es difícil de eliminar y puede permanecer como un mal olor en el artículo aún después del lavado. La razón de este mal olor es la adhesión de las bacterias a la superficie, por ejemplo, en una grieta en un suelo o un plato. Debido a la adhesión a la superficie, las bacterias pueden permanecer incluso después del lavado y continuar siendo una fuente de mal olor.

[0005] Además, el interior de máquinas lavavajillas o lavadoras puede estar sujeto al crecimiento de biopelículas. El crecimiento y la proliferación de microbios en estas máquinas ocurre generalmente por la exposición prolongada a ambientes cálidos y húmedos que pueden contener residuos de jabón y residuos de ropa o de alimentos. Este ambiente conduce al desarrollo de olores indeseables y biopelículas. El crecimiento de biopelículas conduce además a la degradación del caucho, que potencialmente produce una reducción del ciclo de vida de las partes de caucho o de toda la lavadora.

[0006] La solicitud de patente internacional WO 2011/098579 se refiere a compuestos de desoxirribonucleasa bacteriana y métodos para la disrupción y prevención de biopelículas.

35 Resumen de la invención

[0007] La presente invención se refiere al uso de un polipéptido con actividad de DNasa para prevenir, reducir o eliminar una biopelícula de un artículo, donde el artículo es una superficie dura, en la que la superficie dura es vajilla, la superficie interior de una máquina lavavajillas o una lavadora para tejidos. La invención se refiere además a una composición detergente, en la que la composición comprende un polipéptido con actividad de desoxirribonucleasa (DNasa) y un agente de cuidado de metales tal y como se define en la reivindicación 5. Además se reivindica una composición detergente que comprende un polipéptido con actividad de desoxirribonucleasa (DNasa) y un adyuvante secuestrante fuerte y/o un adyuvante seleccionado del grupo constituido por citrato sódico, ácido cítrico, alcanolaminas, carbonato de sodio, bicarbonato sódico y ácido amino-tris-(metileno-fosfónico) (AMP). Además, se reivindica un método de limpieza para prevenir, reducir o eliminar una biopelícula a partir de un artículo que incluye las etapas de:

- a) poner en contacto un artículo con una composición que comprende un polipéptido que tiene actividad de DNasa o con una solución líquida que comprende un polipéptido que tiene actividad de DNasa;
- b) completar al menos un ciclo de limpieza; y

c) opcionalmente, enjuagar el artículo;

donde el artículo es una superficie dura, superficie dura la cual es vajilla, la superficie interior de una máquina lavavajillas o una lavadora para tejidos.

Definiciones

5 [0008] Variante alélica: el término "variante alélica" significa cualquiera de dos o más formas alternativas de un gen que ocupan el mismo locus cromosómico. La variación alélica surge naturalmente a través de mutaciones y puede dar lugar a polimorfismos dentro de poblaciones. Las mutaciones génicas pueden ser silenciosas (sin cambios en el polipéptido codificado) o pueden codificar polipéptidos que tienen secuencias de aminoácidos alteradas. Una variante alélica de un polipéptido es un polipéptido codificado por una variante alélica de un gen.

10 [0009] El término composición de lavavajillas automático se refiere a composiciones destinadas a limpiar vajilla como platos, tazas, vasos, cuencos, ollas, cubiertos, cucharas, cuchillos, tenedores, utensilios para servir, cerámica, plásticos, tablas de cortar, porcelana y cristalería en una máquina lavavajillas. Los términos abarcan cualesquiera materiales/compuestos seleccionados para aplicaciones de lavado doméstico o industrial y la forma del producto puede ser líquida, en polvo o granulada. Además de lipasa, la composición de lavavajillas automático contiene
15 componentes detergentes tales como polímeros, sistemas blanqueantes, activadores de blanqueo, catalizadores de blanqueo, silicatos, tinte y agentes de cuidado de metales.

[0010] Bacteriano: en el contexto de la presente invención, el término "bacteriano" en relación con un polipéptido (tal como una enzima, por ejemplo, una DNasa) se refiere a un polipéptido codificado por y derivable así directamente del genoma de una bacteria, donde tal bacteria no se ha modificado genéticamente para codificar dicho polipéptido,
20 por ejemplo, introduciendo la secuencia codificante en el genoma por tecnología del ADN recombinante. En el contexto de la presente invención, el término "DNasa bacteriana" o "polipéptido con actividad DNasa obtenido a partir de una fuente bacteriana" o "el polipéptido es de origen bacteriano" se refiere así a una DNasa codificada por y derivable así directamente del genoma de una especie bacteriana, donde la especie bacteriana no se ha sometido a una modificación genética que introduce ADN recombinante codificante de dicha DNasa. Así, la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido bacteriano que tiene actividad de DNasa es una secuencia presente de
25 manera natural en el fondo genético de una especie bacteriana. El polipéptido bacteriano que tiene actividad de DNasa codificado por tal secuencia también se puede referir a una DNasa de tipo salvaje (o DNasa parental). En otro aspecto, la invención proporciona polipéptidos que tienen actividad de DNasa, donde dichos polipéptidos son sustancialmente homólogos a una DNasa bacteriana. En el contexto de la presente invención, el término
30 "sustancialmente homólogo" denota un polipéptido con actividad de DNasa que es al menos un 80%, preferiblemente al menos un 85%, más preferiblemente al menos un 90%, más preferiblemente al menos un 95%, aún más preferiblemente al menos un 96%, un 97%, un 98%, y de la forma más preferible al menos un 99% idéntico a la secuencia de aminoácidos de una DNasa bacteriana seleccionada.

[0011] Biopelícula: una biopelícula es cualquier grupo de microorganismos en el que las células se unen entre sí o se unen a una superficie, tal como un tejido, vajilla o superficie dura u otro tipo de superficie. Estas células adherentes están frecuentemente incluidas dentro de una matriz autoproducida de sustancia polimérica extracelular (SPE). La SPE de la biopelícula es una conglomeración polimérica generalmente compuesta por ADN extracelular, proteínas y polisacáridos. Las biopelículas pueden formarse en superficies vivas o no vivas. Las células microbianas que crecen en una biopelícula son distintas fisiológicamente de las células planctónicas del mismo organismo, que,
40 en contraste, son células individuales que pueden flotar o nadar en un medio líquido.

[0012] Las bacterias que viven en una biopelícula normalmente tienen propiedades diferentes significativamente de las bacterias planctónicas de la misma especie, ya que el ambiente denso y protegido de la película les permite cooperar e interactuar de varias maneras. Un beneficio de este ambiente es la resistencia aumentada a detergentes y antibióticos, ya que la matriz extracelular densa y la capa externa de las células protegen el interior de la comunidad.
45

[0013] En la colada, pueden encontrarse bacterias productoras de biopelículas entre las especies siguientes: *Acinetobacter* sp., *Aeromicrobium* sp., *Brevundimonas* sp., *Microbacterium* sp., *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus epidermidis* y *Stenotrophomonas* sp. En las superficies duras, pueden encontrarse bacterias productoras de biopelículas entre las especies siguientes: *Acinetobacter* sp., *Aeromicrobium* sp., *Brevundimonas* sp.,
50 *Microbacterium* sp., *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus epidermidis* y *Stenotrophomonas* sp. En una forma de realización, la cepa productora de biopelículas es *Brevundimonas* sp. En una forma de realización, la cepa productora de biopelículas es *Pseudomonas alcaliphila* o *Pseudomonas fluorescens*.

[0014] ADNc: el término "ADNc" significa una molécula de ADN que se puede preparar por transcripción inversa a partir de una molécula de ARNm madura y empalmada obtenida a partir de una célula eucariótica o procariótica. El

ADNc carece de secuencias de intrones que pueden estar presentes en el ADN genómico correspondiente. El transcrito de ARN primario inicial es un precursor de ARNm que se procesa a través de una serie de etapas, incluyendo el empalme, antes de aparecer como ARNm empalmado maduro.

5 [0015] Secuencia codificante: el término "secuencia codificante" significa un polinucleótido, que especifica directamente la secuencia de aminoácidos de un polipéptido. Los límites de la secuencia codificante están determinados generalmente por un marco de lectura abierto, que empieza con un codón de inicio tal como ATG, GTG o TTG y acaba con un codón de terminación tal como, TAA, TAG o TGA. La secuencia codificante puede ser un ADN genómico, ADNc, ADN sintético o una combinación de los mismos.

10 [0016] Diferencia de color (valor L): un espacio de color Lab es un espacio de oposición de colores con la dimensión L para la claridad. Valor L, L* representa el negro más oscuro a $L^* = 0$ y el blanco más brillante a $L^* = 100$. En el contexto de la presente invención, también se hace referencia al valor L como diferencia de color. El método de la diferencia de color se usa en el ejemplo 2 de la presente solicitud de patente.

15 [0017] El término "ciclo de limpieza" se define en la presente como una operación de limpieza en la que una superficie dura o una vajilla se pone en contacto con una solución de lavado durante un periodo de tiempo mediante la circulación de la solución de lavado y la pulverización de la solución de lavado sobre la vajilla para limpiar la vajilla y, finalmente, se elimina la solución de lavado superflua. Un ciclo de limpieza se puede repetir una, dos, tres, cuatro, cinco o incluso seis veces a la misma temperatura o a temperaturas diferentes. De aquí en adelante, la vajilla de superficie dura generalmente se enjuaga y se seca. Uno de los ciclos de limpieza puede ser un paso de remojo, donde la superficie dura o la vajilla se deja en remojo en la solución de lavado durante un periodo de tiempo.

20 [0018] Secuencias de control: el término "secuencias de control" significa secuencias de ácido nucleico necesarias para la expresión de un polinucleótido que codifica un polipéptido maduro de la presente invención. Cada secuencia de control puede ser nativa (es decir, del mismo gen) o foránea (es decir, de un gen diferente) al polinucleótido que codifica el polipéptido o nativa o foránea entre sí. Tales secuencias de control incluyen, pero de forma no limitativa, un líder, una secuencia de poliadenilación, una secuencia de propéptido, un promotor, una secuencia de péptido señal y un terminador de la transcripción. Como mínimo, las secuencias de control incluyen un promotor y señales de parada transcripcional y traduccional. Las secuencias de control pueden estar provistas de conectores con el propósito de introducir sitios de restricción específicos que faciliten el ligamiento de las secuencias de control con la región codificante del polinucleótido que codifica un polipéptido.

30 [0019] Mediante el término "limpieza profunda" se entiende la disrupción o eliminación de una biopelícula o los componentes de una biopelícula tales como polisacáridos, proteínas, ADN, suciedad u otros componentes presentes en la biopelícula.

35 [0020] Componentes detergentes: el término "componentes detergentes" se define en la presente para referirse a los tipos de productos químicos que se pueden usar en composiciones detergentes. Ejemplos de componentes detergentes son álcalis, surfactantes, agentes de cuidado de metales, hidrótrofos, adyuvantes, coadyuvantes, quelantes o agentes quelantes, sistema blanqueante o componentes de blanqueo, polímeros, agentes de matizado textil, acondicionadores de tejidos, potenciadores de espuma, supresores de espuma, dispersantes, inhibidores de transferencia de tinte, agentes blanqueadores fluorescentes, perfume, abrillantadores ópticos, bactericidas, fungicidas, agentes de suspensión de suciedad, polímeros de liberación de suciedad, agentes de antirredeposición, inhibidores o estabilizadores enzimáticos, activadores enzimáticos, antioxidantes y solubilizantes.

40 [0021] Composición detergente: el término "composición detergente" se refiere a composiciones que encuentran un uso en la eliminación de compuestos no deseados de artículos que se van a limpiar, tales como superficies duras o vajillas. La composición detergente se puede utilizar para, por ejemplo, limpiar vajillas tanto para limpieza doméstica como para limpieza industrial. Los términos abarcan cualesquiera materiales/compuestos seleccionados para el tipo particular de composición de limpieza deseada y la forma del producto (por ejemplo, composiciones líquidas, en gel, en polvo, granuladas, en pasta o en espray) e incluye, pero de forma no limitativa, composiciones detergentes (por ejemplo, detergentes para ropa líquidos y/o sólidos y detergentes para tejidos finos; ambientadores de tejidos; suavizantes; y quitamanchas previos/pretratamientos textiles y de la ropa). Además de contener la enzima de la invención, la formulación detergente puede contener una o más enzimas adicionales (tales como proteasas, amilasas, lipasas, cutinasas, celulasas, endoglucanasas, xiloglucanasas, pectinasas, pectin liasas, xantanasas, peroxidadas, haloperoxigenasas, catalasas y mananasas, o cualquier mezcla de las mismas), y/o componentes detergentes tales como surfactantes, adyuvantes, quelantes o agentes quelantes, sistema de blanqueo o componentes de blanqueo, polímeros, acondicionadores de tejidos, potenciadores de espuma, supresores de espuma, tintes, perfume, conservadores del brillo, abrillantadores ópticos, bactericidas, fungicidas, agentes de suspensión de suciedad, agentes anticorrosivos, inhibidores o estabilizadores enzimáticos, activadores enzimáticos, transferasa(s), enzimas hidrolíticas, oxidorreductasas, agentes de azulado y tintes fluorescentes, antioxidantes y solubilizantes.

[0022] Vajilla: el término "vajilla" pretende significar cualquier forma de utensilio de cocina, juego de vajilla o servicio de mesa tales como, pero no limitado a, sartenes, platos, tazas, cuchillos, tenedores, cucharas, porcelana, etc. La vajilla puede estar hecha de cualquier material adecuado tal como metal, vidrio, caucho, plástico, PVC, acrílicos, cerámica, china o porcelana.

5 [0023] Composición lavavajillas: el término "composición lavavajillas" se refiere a composiciones que comprenden componentes detergentes, esta composición se destina a limpiar platos, artículos de mesa, cristalería, tablas de cortar, ollas, sartenes, cubiertos y todo tipo de composiciones para limpiar áreas de superficies duras en cocinas. La presente invención no se restringe a un tipo particular de composición lavavajillas o un detergente particular. La composición lavavajillas se puede usar tanto para lavado de vajilla doméstico, como para lavado de vajilla industrial e institucional, incluyendo composiciones para LVA.

10 [0024] DNasa (desoxirribonucleasa): el término "DNasa" significa un polipéptido con actividad de DNasa que cataliza la escisión hidrolítica de enlaces de fosfodiéster en el esqueleto de ADN, degradando así el ADN. Para los fines de la presente invención, la actividad de DNasa se determina según el procedimiento descrito en el ensayo I. En un aspecto, los polipéptidos de la presente invención tienen al menos el 20%, por ejemplo, al menos el 40%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95% o al menos el 100% de la actividad de DNasa del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2. Para los fines de la presente invención, la actividad de DNasa se determina según el procedimiento descrito en el ensayo I. En una forma de realización de la presente invención, la actividad de DNasa del polipéptido que tiene es de al menos el 105%, por ejemplo, al menos el 110%, al menos el 120%, al menos el 130%, al menos el 140%, al menos el 160%, al menos el 170%, al menos el 180% o al menos el 200% con referencia a la actividad de DNasa del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, un polipéptido que comprende o consiste en la secuencia expuesta en la SEQ ID N.º: 3, un polipéptido que comprende o consiste en la secuencia expuesta en la SEQ ID N.º: 5, un polipéptido que comprende o consiste en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6, un polipéptido que comprende o consiste en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 7 o un polipéptido que comprende o consiste en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 8.

20 [0025] Expresión: el término "expresión" incluye cualquier paso implicado en la producción de un polipéptido, incluyendo, pero de forma no limitativa, transcripción, modificación postranscripcional, traducción, modificación postraduccional y secreción.

25 [0026] Vector de expresión: el término "vector de expresión" significa una molécula de ADN lineal o circular que comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido y está operativamente unido a secuencias de control que proveen a su expresión.

30 [0027] Fragmento: el término "fragmento" significa un polipéptido con uno o más (por ejemplo, varios) aminoácidos ausentes del amino y/o carboxilo terminal de un polipéptido maduro o dominio; donde el fragmento tiene actividad de DNasa. En un aspecto, un fragmento contiene al menos 206 residuos de aminoácidos (por ejemplo, los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 2), al menos 205 residuos de aminoácidos (por ejemplo, los aminoácidos 2 a 206 de la SEQ ID N.º: 2), o al menos 204 residuos de aminoácidos (por ejemplo, los aminoácidos 3 a 206 de la SEQ ID N.º: 2). En un aspecto, un fragmento contiene al menos 139 residuos de aminoácidos (por ejemplo, los aminoácidos 50 a 188 de la SEQ ID N.º: 5), al menos 188 residuos de aminoácidos (por ejemplo, los aminoácidos 1 a 188 de la SEQ ID N.º: 5).

35 [0028] Fúngico: en el contexto de la presente invención, el término "fúngico" en relación con un polipéptido (tal como una enzima, por ejemplo, una DNasa) se refiere a un polipéptido codificado por y derivable así directamente del genoma de un hongo, donde tal hongo no ha sido genéticamente modificado para codificar dicho polipéptido, por ejemplo, introduciendo la secuencia codificante en el genoma por tecnología del ADN recombinante. En el contexto de la presente invención, el término "DNasa fúngica" o "polipéptido con actividad DNasa obtenido a partir de una fuente fúngica" o "el polipéptido es de origen fúngico" se refiere así a una DNasa codificada por y derivable así directamente del genoma de una especie fúngica, donde la especie fúngica no se ha sometido a una modificación genética que introduce ADN recombinante codificante de dicha DNasa. Así, la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido fúngico que tiene actividad de DNasa es una secuencia presente de manera natural en el fondo genético de una especie fúngica. El polipéptido fúngico que tiene actividad de DNasa codificado por tal secuencia también se puede referir a una DNasa de tipo salvaje (o DNasa parental). En otro aspecto, la invención proporciona polipéptidos que tienen actividad de DNasa, donde dichos polipéptidos son sustancialmente homólogos a una DNasa fúngica. En el contexto de la presente invención, el término "sustancialmente homólogo" denota un polipéptido con actividad de DNasa que es al menos un 80%, preferiblemente al menos un 85%, más preferiblemente al menos un 90%, más preferiblemente al menos un 95%, aún más preferiblemente al menos un 96%, un 97%, un 98% y, de la forma más preferible, al menos un 99% idéntico a la secuencia de aminoácidos de una DNasa fúngica seleccionada.

[0029] Superficie dura: el término "superficie dura" se define en la presente como superficies duras que incluyen suelos, mesas, paredes, techos, etc., así como superficies de objetos duros tales como coches (lavado de vehículos) y platos (vajillas). El término "superficie dura" incluye también las superficies del interior de máquinas de lavado, tales como el interior de lavadoras o máquinas lavavajillas, esto incluye cajas para la introducción de jabón, paredes, 5 ventanas, cestas, rejillas, boquillas, bombas, sumidero, filtros, tuberías, tubos, articulaciones, juntas, juntas de estanqueidad, accesorios, propulsores, tambores, desagües, trampas, entrada a trampas de monedas y salidas. El término superficie dura no abarca tejidos o telas.

[0030] Limpieza de superficies duras: el término "limpieza de superficies duras" se define en la presente como limpieza de superficies duras, tal como la reducción o eliminación de biopelículas de una superficie dura, donde las 10 superficies duras pueden incluir suelos, mesas, paredes, techos, etc., así como superficies de objetos duros tales como coches (lavado de vehículos) y platos (lavado de vajilla). La limpieza de superficies duras también incluye la limpieza del interior de máquinas de lavado, tal como el interior de lavadoras o máquinas lavavajillas, esto incluye cajas para la introducción de jabón, paredes, ventanas, cestas, rejillas, boquillas, bombas, sumidero, filtros, tuberías, tubos, articulaciones, juntas, juntas de estanqueidad, accesorios, propulsores, tambores, desagües, trampas, 15 entrada a trampas de monedas y salidas. El lavado de vajilla incluye, pero de forma no limitativa, la limpieza de platos, tazas, vasos, cuencos, ollas, cubiertos, cucharas, cuchillos, tenedores, utensilios para servir, cerámica, plásticos, tablas de cortar, porcelana y cristalería.

[0031] Célula huésped: el término "célula huésped" significa cualquier tipo celular que es susceptible de transformación, transfección, transducción o similar con un constructo de ácido nucleico o vector de expresión que 20 comprende un polinucleótido de la presente invención. El término "célula huésped" abarca cualquier descendiente de una célula parental que no es idéntica a la célula parental debido a mutaciones que ocurren durante la replicación.

[0032] Aislado: el término "aislado" significa una sustancia en una forma o ambiente que no ocurre en la naturaleza. Los ejemplos no limitativos de sustancias aisladas incluyen (1) cualquier sustancia que no ocurre en la naturaleza, 25 (2) cualquier sustancia que incluye, pero de forma no limitativa, cualquier enzima, variante, ácido nucleico, proteína, péptido o cofactor, que se aparta, al menos parcialmente, de uno o más o todos los constituyentes de origen natural con los que se asocia en la naturaleza; (3) cualquier sustancia modificada por la mano del hombre con respecto a esa sustancia encontrada en la naturaleza; o (4) cualquier sustancia modificada mediante el aumento de la cantidad de la sustancia con respecto a otros componentes con los que se asocia naturalmente (por ejemplo, producción recombinante en una célula huésped; copias múltiples de un gen que codifica la sustancia; y uso de un promotor 30 más fuerte que el promotor naturalmente asociado al gen que codifica la sustancia). Una sustancia aislada puede estar presente en una muestra de caldo de fermentación; por ejemplo, una célula huésped puede modificarse genéticamente para expresar el polipéptido de la invención. El caldo de fermentación de esa célula huésped comprenderá el polipéptido aislado.

[0033] Lavado de ropa: el término "lavado de ropa" se refiere tanto al lavado de ropa doméstico como al lavado de 35 ropa industrial y se refiere al proceso de tratamiento de tejidos con una solución que contiene una composición de limpieza o detergente de la presente invención. El proceso de lavado de ropa puede, por ejemplo, efectuarse utilizando, por ejemplo, una lavadora doméstica o industrial o puede llevarse a cabo a mano.

[0034] Mediante el término "mal olor" se entiende un olor que no se desea en artículos limpios. El artículo limpiado 40 debería oler fresco y limpio sin malos olores adheridos al artículo. Un ejemplo de mal olor son compuestos con un olor desagradable, que pueden estar producidos por microorganismos. Otro ejemplo son olores desagradables que pueden ser sudor u olor corporal adheridos a un artículo que ha estado en contacto con humanos o animales. Otro ejemplo de mal olor puede ser el olor de especias, que se adhiere a artículos, por ejemplo, curry u otras especias exóticas que huelen intensamente. Una manera de medir la capacidad de un artículo para adherir el mal olor es mediante el uso del ensayo II.

[0035] Polipéptido maduro: el término "polipéptido maduro" significa un polipéptido en su forma final tras la traducción y cualquier modificación postraduccional, tal como procesado del extremo N-terminal, truncamiento del 45 extremo C-terminal, glicosilación, fosforilación, etc. En un aspecto, el polipéptido maduro son los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 2 y los aminoácidos -37 a -16 de la SEQ ID N.º: 2 son un péptido señal y los aminoácidos -15 a -1 de la SEQ ID N.º: 2 son un propéptido. En un aspecto, el polipéptido maduro son los aminoácidos 1 a 188 de la 50 SEQ ID N.º: 5 y los aminoácidos -17 a -1 de la SEQ ID N.º: 2 son un péptido señal. En un aspecto, el polipéptido maduro son los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID N.º: 6, el polipéptido maduro son los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID N.º: 7 o el polipéptido maduro son los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 8. Se sabe en la técnica que una célula huésped puede producir una mezcla de dos o más polipéptidos maduros diferentes (es decir, con un aminoácido C-terminal y/o N-terminal diferente) expresado por el mismo polinucleótido. También se sabe en la 55 técnica que diferentes células huésped procesan los polipéptidos de manera diferente, y así, una célula huésped que expresa un polinucleótido puede producir un polipéptido maduro diferente (por ejemplo, con un aminoácido C-terminal y/o N-terminal diferente) en comparación con otra célula huésped que expresa el mismo polinucleótido. En un aspecto, un polipéptido maduro contiene hasta 206 residuos de aminoácidos y de SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 3 o

SEQ ID N.º: 8 (por ejemplo, los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 2), o hasta 204 residuos de aminoácidos (por ejemplo, los aminoácidos 3 a 206 de la SEQ ID N.º: 2).

[0036] Secuencia codificante del polipéptido maduro: el término "secuencia codificante del polipéptido maduro" significa un polinucleótido que codifica un polipéptido maduro que tiene actividad de DNasa. En un aspecto, la secuencia codificante del polipéptido maduro son los nucleótidos unidos 1 a 242, 309 a 494, 556 a 714 y 766 a 907 de la SEQ ID N.º: 1. En un aspecto, la secuencia codificante del polipéptido maduro son los nucleótidos 52 a 864 de la SEQ ID N.º: 4, donde se predicen tres intrones en la secuencia en los aminoácidos de las posiciones 76-164, 289-362 y 520-615 de la SEQ ID N.º: 4. Una señal de secreción está presente en los aminoácidos de las posiciones 1-51 de la SEQ ID N.º: 4.

[0037] Constructo de ácido nucleico: el término "constructo de ácido nucleico" significa una molécula de ácido nucleico, mono- o bicatenario, que se aísla de un gen de origen natural o se modifica para contener segmentos de ácidos nucleicos de manera que de otro modo no existiría en la naturaleza o que es sintético, que comprende una o más secuencias de control.

[0038] Operativamente unido: el término "operativamente unido" significa una configuración en la que una secuencia de control se coloca en una posición apropiada con respecto a la secuencia codificante de un polinucleótido de manera que la secuencia de control dirige la expresión de la secuencia codificante.

[0039] Caucho: el término "caucho" pretende cubrir cualquier caucho estándar que debe vulcanizarse para proporcionar un artículo de caucho estable dimensionalmente. El término "estable dimensionalmente" pretende abarcar un artículo de caucho vulcanizado que es estructuralmente capaz de ser manipulado sin desintegrarse en partes más pequeñas. Así, el artículo debe mostrar algún grado de integridad estructural y, siendo un caucho, un cierto grado de módulo de flexión. Los tipos específicos de caucho se enumeran a continuación y se han utilizado previamente en la industria del caucho para una variedad de aplicaciones y generalmente son bien conocidos y enseñados en el estado de la técnica.

[0040] El componente o componentes de caucho de la formulación de caucho de la invención y el artículo curado se selecciona preferiblemente del grupo constituido por caucho de nitrilo [tal como caucho de acrilonitrilo-butadieno (NBR)], caucho de monómero de etileno propileno dieno (EPDM), NBR hidrogenado, NBR carboxilado y mezclas de los mismos. Resulta importante considerar las propiedades físicas deseadas del artículo de caucho cuando se selecciona el polímero y el sistema de curado. Por ejemplo, los polímeros EPDM de alto peso molecular tienden a mostrar mayor resistencia y resistencia a la tracción en verde y menor deformación permanente por compresión en comparación con polímeros de peso molecular más bajo. En los elastómeros curados con peróxido, con frecuencia es más deseable usar estos polímeros de alto peso molecular ya que los compuestos de peróxido presentan una resistencia a la 'rotura en caliente' más pobre a temperaturas elevadas en comparación con compuestos curados con azufre.

[0041] Identidad de secuencia: la relación entre dos secuencias de aminoácidos o entre dos secuencias de nucleótidos se describe con el parámetro "identidad de secuencia". Para los fines de la presente invención, la identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos se determina utilizando el algoritmo de Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453) tal como se implementa en el programa Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, Trends Genet. 16: 276-277), preferiblemente la versión 5.0.0 o posterior. Los parámetros utilizados son una penalización por apertura de espacio de 10, una penalización por extensión de espacio de 0,5 y la matriz de sustitución EBLOSUM62 (versión de EMBOSS de BLOSUM62). El resultado de Needle etiquetado como "identidad más larga" (obtenido utilizando la opción -nobrief) se usa como el porcentaje de identidad y se calcula de la siguiente manera:

$$(\text{Residuos idénticos} \times 100) / (\text{Longitud del alineamiento} - \text{Número total de espacios en el alineamiento})$$

[0042] Para los fines de la presente invención, la identidad de secuencia entre dos secuencias desoxirribonucleótidas se determina utilizando el algoritmo de Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, *supra*) tal como se implementa en el programa de Needle del paquete EMBOSS (EM-BOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, *supra*), preferiblemente la versión 5.0.0 o posterior. Los parámetros usados son una penalización por apertura de espacio de 10, una penalización por extensión de espacio de 0,5 y la matriz de sustitución EDNAFULL (versión de EMBOSS de NCBI NUC4.4). El resultado de Needle etiquetado como "identidad más larga" (obtenido utilizando la opción -nobrief) se usa como el porcentaje de identidad y se calcula de la siguiente manera:

$$(\text{Desoxirribonucleótidos idénticos} \times 100) / (\text{Longitud del alineamiento} - \text{Número total de espacios en el alineamiento}).$$

Condiciones de astringencia:

5 [0043] El término "condiciones de astringencia muy baja" significa, para sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en SSPE 5X, SDS al 0,3%, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y formamida al 25%, siguiendo procedimientos estándares de transferencia de Southern durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces, cada vez durante 15 minutos, utilizando SSC 2X, SDS al 0,2% a 45°C.

10 [0044] El término "condiciones de astringencia baja" significa, para sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en SSPE 5X, SDS al 0,3%, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y formamida al 25%, siguiendo procedimientos estándares de transferencia de Southern durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces, cada vez durante 15 minutos, utilizando SSC 2X, SDS al 0,2% a 50°C.

15 [0045] El término "condiciones de astringencia media" significa, para sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en SSPE 5X, SDS al 0,3%, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y formamida al 35%, siguiendo procedimientos estándares de transferencia de Southern durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces, cada vez durante 15 minutos, utilizando SSC 2X, SDS al 0,2% a 55°C.

20 [0046] El término "condiciones de astringencia media-alta" significa, para sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en SSPE 5X, SDS al 0,3%, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y formamida al 35%, siguiendo procedimientos estándares de transferencia de Southern durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces, cada vez durante 15 minutos, utilizando SSC 2X, SDS al 0,2% a 60°C.

25 [0047] El término "condiciones de astringencia alta" significa, para sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en SSPE 5X, SDS al 0,3%, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y formamida al 50%, siguiendo procedimientos estándares de transferencia de Southern durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces, cada vez durante 15 minutos, utilizando SSC 2X, SDS al 0,2% a 65°C.

30 [0048] El término "condiciones de astringencia muy alta" significa, para sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en SSPE 5X, SDS al 0,3%, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y formamida al 50%, siguiendo procedimientos estándares de transferencia de Southern durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces, cada vez durante 15 minutos, utilizando SSC 2X, SDS al 0,2% a 70°C.

35 [0049] Subsecuencia: el término "subsecuencia" significa un polinucleótido con uno o más (por ejemplo, varios) nucleótidos ausentes del extremo 5' y/o 3' de una secuencia codificante del polipéptido maduro; donde la subsecuencia codifica un fragmento con actividad de DNasa. En un aspecto, una subsecuencia contiene al menos 796 nucleótidos (por ejemplo, los nucleótidos 112 a 907 de la SEQ ID N.º: 1), al menos 793 nucleótidos (por ejemplo, los nucleótidos 115 a 907 de la SEQ ID N.º: 1) o al menos 790 nucleótidos (por ejemplo, los nucleótidos 118 a 907 de la SEQ ID N.º: 1). En un aspecto, una subsecuencia contiene al menos 587 nucleótidos (por ejemplo, los nucleótidos 278 a 864 de la SEQ ID N.º: 4), al menos 650 nucleótidos (por ejemplo, los nucleótidos 215 a 864 de la SEQ ID N.º: 4) o al menos 816 nucleótidos (por ejemplo, los nucleótidos 52 a 864 de la SEQ ID N.º: 4).

40 [0050] Variante: el término "variante" significa un polipéptido con la misma actividad que la enzima parental que incluye una modificación, es decir, una sustitución, inserción y/o delección, en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. Una sustitución significa el reemplazo del aminoácido que ocupa una posición por un aminoácido diferente; una delección significa la eliminación del aminoácido que ocupa una posición; y una inserción significa la adición de un aminoácido adyacente e inmediatamente posterior al aminoácido que ocupa una posición. En el contexto de la presente invención, una variante de una DNasa identificada tiene la actividad enzimática del progenitor, es decir, la capacidad de catalizar la escisión hidrolítica de enlaces de fosfodiéster en el esqueleto del ADN (actividad de desoxirribonucleasa). En una forma de realización, la actividad de desoxirribonucleasa de la variante se aumenta con referencia a la DNasa parental, por ejemplo, el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2.

50 [0051] Solución de lavado: el término "solución de lavado" pretende significar la solución o mezcla de agua y detergentes que incluyen opcionalmente enzimas usadas para la limpieza de superficies duras o para el lavado de vajilla.

Descripción detallada de la invención

[0052] Los inventores han descubierto sorprendentemente que los polipéptidos que tienen actividad de desoxirribonucleasa (DNasa) se pueden usar para prevenir, reducir o eliminar biopelículas de artículos tales como superficies duras.

5 [0053] Las superficies duras, que están expuestas a ADN y bacterias del ambiente pueden desarrollar una biopelícula en la superficie. Tal biopelícula puede ser difícil de eliminar y tiende a pegarse a la superficie. Un ejemplo son las superficies internas de lavadoras y máquinas lavavajillas que están frecuentemente cubiertas por biopelículas. El crecimiento y la proliferación de microbios en estas máquinas ocurre generalmente por la exposición prolongada a ambientes cálidos y húmedos que pueden contener residuos de jabón y residuos de ropa o de alimentos. Este ambiente conduce al desarrollo de olores indeseables y biopelículas. El crecimiento de biopelículas
10 conduce además a la degradación del caucho, que potencialmente produce una reducción del ciclo de vida de las partes de caucho o de toda la lavadora.

[0054] Sin embargo, los inventores han descubierto que se pueden usar polipéptidos con actividad de desoxirribonucleasa (DNasa) para prevenir, reducir o eliminar biopelículas de lavadoras o máquinas lavavajillas.

15 [0055] Otro ejemplo de formación de biopelículas en superficies duras son las superficies duras presentes en ambientes cálidos y húmedos tales como superficies duras en áreas de la cocina, cuartos de baño o áreas de piscinas. Las superficies duras pueden estar hechas de metal, vidrio, caucho, plástico, PVC, acrílicos, cerámica, china o porcelana.

[0056] El polipéptido con actividad de DNasa se puede usar para prevenir, reducir o eliminar la pegajosidad del artículo. Una biopelícula que comprende ADN puede ser pegajosa y, así, la suciedad se adhiere a la biopelícula. En una forma de realización, el polipéptido con actividad de DNasa se puede usar para prevenir, reducir o eliminar la adherencia de suciedad al artículo.

20

[0057] El polipéptido con actividad de DNasa se puede usar en artículos que tienen un crecimiento de biopelícula pronunciado o si partes del artículo tienen un crecimiento pronunciado de biopelícula. El polipéptido con actividad de DNasa se puede usar para pretratar estas partes del artículo, donde las manchas de biopelícula en el artículo son pronunciadas.

25

[0058] La presencia de biopelícula en un artículo puede causar mal olor, tal como un mal olor. Una fuente de mal olor producido por una biopelícula es E-2-nonenal. Por lo tanto, no se desea la presencia de biopelículas en una lavadora o una máquina lavavajillas. Además de mal olor en la lavadora o máquina lavavajillas, el mal olor puede pegarse a los artículos lavados en las máquinas. Por ejemplo, artículos de la colada o la vajilla pueden oler mal cuando se sacan mojados de la máquina o incluso cuando el artículo está seco. El uso de polipéptidos con actividad de DNasa puede prevenir, reducir o eliminar la cantidad de E-2-nonenal.

30

[0059] En una forma de realización de la invención, el polipéptido con actividad de DNasa puede prevenir, reducir o eliminar biopelículas y olores de al menos una cepa de *Brevundimonas sp.*, al menos una cepa de *Pseudomonas fluorescens* o al menos una cepa de *Pseudomonas alcaliphila*.

35 [0060] En una forma de realización de la invención, se evita, reduce o elimina la cantidad de E-2-nonenal presente en un artículo mojado. En una forma de realización, se evita, reduce o elimina la cantidad de E-2-nonenal presente en el artículo seco.

[0061] El polipéptido con actividad de DNasa se puede pulverizar sobre el artículo. Por ejemplo, el polipéptido que tiene actividad de DNasa se puede pulverizar en el interior de una lavadora para tejidos o una máquina lavavajillas o se puede pulverizar sobre una superficie dura en áreas de la cocina o del cuarto de baño.

40

[0062] En una forma de realización de la invención, el artículo se pone en contacto con una solución líquida que comprende un polipéptido con actividad de DNasa. La solución líquida puede además comprender componentes detergentes tales como un surfactante. La solución líquida puede ser una solución de lavado para lavado de ropa o limpieza de superficies duras.

45 [0063] Toda la parte interior de lavadoras o máquinas lavavajillas puede ponerse en contacto con el polipéptido que tiene actividad de DNasa. Todas las partes de las máquinas, incluyendo las partes hechas de metal, vidrio, caucho, plástico, PVC, acrílicos, cerámica, china o porcelana, pueden ponerse en contacto con el polipéptido y el polipéptido prevendrá, reducirá o eliminará la biopelícula y el mal olor del artículo. Los artículos metálicos pueden estar hechos de hierro, cobre, magnesio, cromo, níquel, aluminio, titanio, plomo, oro, plata o una aleación de los mismos. En una forma de realización, el artículo está hecho de acero inoxidable. Las máquinas lavavajillas o lavadoras también
50 pueden contener partes hechas de caucho, tal como caucho natural o caucho sintético. Las superficies duras de

áreas de la cocina o del cuarto de baño también pueden estar hechas de materiales tales como metal, vidrio, caucho, plástico, PVC, acrílicos, cerámica, china o porcelana.

5 [0064] En una forma de realización de la invención, el polipéptido con actividad de DNasa se usa en el lavado industrial o institucional de vajilla. El término lavado de vajilla es un término generalmente usado en industrias e instituciones y significa lavado de artículos de vajilla.

10 [0065] El lavado de vajilla industrial e institucional es un proceso aplicado en una situación industrial, comercial o institucional para proporcionar artículos limpios e higiénicos en un plazo tan breve como sea posible. Para conseguir este resultado, los lavavajillas aplican generalmente altas temperaturas y fuerte acción mecánica y química durante el proceso de lavado. Dada la amplia gama de aplicaciones potenciales de los lavavajillas, hay una gran variedad de sistemas disponibles. Estos incluyen sistemas bajo la encimera de lavado único (similares a los lavavajillas domésticos), sistemas de uso único con capota, sistemas para equipos más grandes o muy sucios y transportadores grandes o máquinas de vuelo que operan continuamente. Los lavavajillas contienen comúnmente un sumidero o depósito de agua de lavado. El fin de este sumidero es reducir el consumo de agua y productos químicos de lavado de vajilla al permitir la reutilización y recirculación del agua durante un periodo de tiempo o lavados.

15 [0066] En la mayoría de aplicaciones de lavado de vajilla, el tiempo disponible para lavar es limitado debido a limitaciones de capacidad. Generalmente, un ciclo de lavado dura entre 50-90 segundos, pero puede ser de hasta 10 minutos. Para superar estas limitaciones temporales y entregar artículos limpios e higiénicos, los lavavajillas generalmente aplican un alto nivel de acción mecánica a los artículos. Esto se hace generalmente usando agua a alta presión distribuida a través de boquillas y que se recircula en el lavavajillas. En algunos casos, se puede introducir un elemento abrasivo en el sistema (por ejemplo, perlas poliméricas) para mejorar el efecto mecánico del agua en los artículos sucios. A pesar del alto grado de acción mecánica aplicada en los procesos de lavado de vajilla, se confía en una acción química fuerte para proporcionar los niveles requeridos de limpieza y, si es necesario, de higiene. Los productos químicos para el lavado de vajilla se caracterizan por ser en general altamente alcalinos y contener otros elementos para mejorar el rendimiento de limpieza para asegurar un resultado satisfactorio y para proteger la máquina lavavajillas de los productos químicos alcalinos potencialmente corrosivos.

20

25

30 [0067] Durante la operación de los procesos de lavado de vajilla, las superficies internas de la máquina lavavajillas se exponen a agua que contiene niveles potencialmente altos de suciedad orgánica y, con el tiempo, se puede formar una película o depósito de suciedad en las superficies internas de la máquina lavavajillas. Esta película puede ser potencialmente resistente a la eliminación durante las operaciones normales de limpieza diaria. En procesos de lavado de vajilla donde está presente una película de suciedad en las superficies internas de la máquina, no es raro ver rendimientos reducidos, requisitos de dosificación de productos químicos aumentados, malos olores y la formación de biopelículas en la máquina.

35 [0068] Para proteger las partes metálicas de las máquinas u otras superficies duras, el polipéptido con actividad de DNasa se puede utilizar junto con un agente de cuidado de metales. La invención se refiere además a una composición detergente que comprende un polipéptido con actividad de DNasa y un agente de cuidado de metales, donde el agente de cuidado de metales se puede seleccionar del grupo constituido por:

- 40 a) benzotriazoles, incluyendo benzotriazol o bisbenzotriazol y derivados sustituidos de los mismos, derivados los cuales incluyen sustituyentes con grupos alquilo C1-C20 lineales o de cadena ramificada e hidroxilo, tio, fenilo o halógenos tales como flúor, cloro, bromo y yodo;
- 45 b) sales y complejos metálicos elegidos del grupo constituido por sales y/o complejos de zinc, manganeso, titanio, zirconio, hafnio, vanadio, cobalto, galio y cerio, estando los metales en uno de los estados de oxidación II, III, IV, V o VI, de manera tal que las sales metálicas y/o los complejos metálicos se pueden elegir del grupo constituido por sulfato de Mn(II), citrato de Mn(II), estearato de Mn(II), acetilacetato de Mn(II), K₂TiF₆, K₂ZrF₆, CoSO₄, Co(NO₃)₂ y Ce(NO₃)₃, sales de zinc, por ejemplo sulfato de zinc, hidrocincita, acetato de zinc o carbonato de zinc;
- c) silicatos, incluyendo silicato de sodio o de potasio, disilicato de sodio, metasilicato de sodio, filosilicato cristalino y mezclas de los mismos.

[0069] La divulgación se refiere además a una composición detergente que comprende un polipéptido con actividad de desoxirribonucleasa (DNasa) y un adyuvante secuestrante fuerte.

50 [0070] Un adyuvante fuerte se clasifica como quelantes de alta eficiencia que pueden enlazar fuertemente cationes bivalentes tales como Ca²⁺ con una constante de estabilidad logarítmica del complejo catión/quelante superior a 4, en particular superior a 5, superior a 6 o superior a 7. Las constantes de estabilidad se determinan a una fuerza iónica de 0,1 M y a una temperatura de 25°C.

5 [0071] Los adyuvantes secuestrantes fuertes incluyen, por ejemplo, materiales tales como tripolifosfato hidrosoluble, tetraacetato de etilendiamina y fosfonatos orgánicos. Los pirofosfatos de metales alcalinos se clasifican también como adyuvantes secuestrantes fuertes. El adyuvante secuestrante fuerte es un adyuvante con fósforo o un adyuvante sin fósforo. En la presente invención, se pueden usar adyuvantes tanto con fósforo como sin fósforo. Se prefieren los adyuvantes sin fósforo porque son mejores para el medio ambiente.

[0072] Un adyuvante que contiene fósforo generalmente comprende un fosfato o un fosfonato inorgánico, típicamente una sal de metal alcalino tal como sodio o potasio.

10 [0073] El fosfato inorgánico puede ser un difosfato, un trifosfato, un tripolifosfato o pirofosfato. Los ejemplos específicos de fosfatos inorgánicos incluyen $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (STPP o tripolifosfato de sodio) y $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (pirofosfato tetrasódico).

15 [0074] El fosfonato puede ser un fosfonato de alquilo, un fosfonato de arilo o un fosfonato de alcarilo, donde el grupo alquilo, arilo o alcarilo puede sustituirse. Los ejemplos de fosfonatos incluyen ácido 1-hidroxietiliden-1,1-difosfónico (HEDP, ácido etidróico), dietilentriamina penta(ácido metilfosfónico) (DTPMP), ácido etilendiamino tetra(metilfosfónico) (EDTMPA), ácido amino tris(metilfosfónico) (ATMP), ácido trimetilfosfónico de nitrilo (NTMP), ácido 2-amino etilfosfónico (AEPn), dimetil metilfosfonato (DMMP), ácido tetrametilen diamino tetra(metilfosfónico) (TDTMP), ácido hexametilen diamino tetra(metilfosfónico) (HDTMP), ácido fosfonobutanotricarboxílico (PBTC); ácido N-(fosfonometil) iminodiacético (PMIDA), ácido 2-carboxietil fosfónico (CEPA), ácido 2-hidroxil fosfonocarboxílico (HPAA).

20 [0075] Un adyuvante secuestrante fuerte sin fósforo puede incluir, por ejemplo, ácido etilendiaminatetraacético (EDTA), ácido metilglicinadiacético (MGDA), ácido nitrilotriacético (NTA), ácido iminodisuccínico (IDS), ácido etilendiaminodisuccínico (EDDS) y sal tetra sódica de ácido L-glutámico N,N-ácido diacético (GLDA).

[0076] Los ejemplos de constantes de estabilidad en el complejo adyuvante de calcio y el contenido de fosfato se enumeran a continuación:

Adyuvante	Tipo de adyuvante	Fósforo	Log K_{Ca}
Adyuvantes secuestrantes fuertes			
EDTA	Secuestrante	no	10,7
EDTMP	Secuestrante	sí	10,0
NTMP	Secuestrante	sí	7,6
DTPMP	Secuestrante	sí	7,1
MGDA	Secuestrante	no	7
NTA	Secuestrante	no	6,4
HEDP	Secuestrante	sí	6
STPP	Secuestrante	sí	5,36
IDS	Secuestrante	no	5,2
GLDA	Secuestrante	no	5,2
Pirofosfato	Secuestrante	sí	5
EDDS	Secuestrante	no	4,6
Otros adyuvantes			
Carbonato	Precipitante	no	7,8
Ácido cítrico	Secuestrante	no	3,5
AMP	Secuestrante	sí	1,7

25 [0077] La concentración del adyuvante secuestrante fuerte en la composición detergente puede ser de 0,5% (p/p) a 80 % del adyuvante secuestrante fuerte, tal como en el intervalo de 1,0-75%, en el intervalo de 1-70%, en el intervalo de 1-65%, en el intervalo de 1-60%, en el intervalo de 1-55%, en el intervalo de 1-50%, en el intervalo de 1-45%, en el intervalo de 1-40%, en el intervalo de 1-35%, en el intervalo de 1-30% o en el intervalo de 1-25%. Cuando se lava con un lavavajillas automatizado la composición detergente se libera en el lavado principal.

5 [0078] La concentración del adyuvante secuestrante fuerte en la solución de lavado puede ser de 0,01 a 5,0 gramos del adyuvante secuestrante fuerte/litro de solución de lavado (g/l), tal como en el intervalo de 0,01-4,0 g/L, en el intervalo de 0,01-3,0 g/L, en el intervalo de 0,01-2,8 g/L, en el intervalo de 0,01-2,6 g/L, en el intervalo de 0,01-2,4 g/L, en el intervalo de 0,01-2,2 g/L, en el intervalo de 0,01-2,0 g/L, en el intervalo de 0,01-1,8 g/L, en el intervalo de 0,01-1,6 g/L, en el intervalo de 0,01-1,4 g/L, en el intervalo de 0,01-1,2 g/L o en el intervalo de 0,01-1,0 g/L.

[0079] La concentración de GLDA en la composición detergente puede ser de 0,5% (p/p) a 80 % del adyuvante secuestrante fuerte, tal como en el intervalo de 1,0-75%, en el intervalo de 1-70%, en el intervalo de 1-65%, en el intervalo de 1-60%, en el intervalo de 1-55%, en el intervalo de 1-50%, en el intervalo de 1-45%, en el intervalo de 1-40%, en el intervalo de 1-35%, en el intervalo de 1-30% o en el intervalo de 1-25%.

10 [0080] La concentración de MGDA en la composición detergente puede ser de 0,5% (p/p) a 50 % del adyuvante secuestrante fuerte, tal como en el intervalo de 1-45%, en el intervalo de 1-40%, en el intervalo de 1-35%, en el intervalo de 1-30% o en el intervalo de 1-25%.

15 [0081] La concentración de carbonato, tal como carbonato de sodio en la composición detergente puede ser de 0,5% (p/p) a 26% del adyuvante secuestrante fuerte, tal como en el intervalo de 1,0-20%, en el intervalo de 1-70%, en el intervalo de 1-15%, en el intervalo de 1-10%, en el intervalo de 1-5% o en el intervalo de 1-3%.

[0082] La concentración de citrato, tal como citrato sódico en la composición detergente puede ser de 0,5% (p/p) a 50 % del adyuvante secuestrante fuerte, tal como en el intervalo de 1-45%, en el intervalo de 1-40%, en el intervalo de 1-35%, en el intervalo de 1-30% o en el intervalo de 1-25%.

20 [0083] La concentración de STTP en la composición detergente puede ser de 0,5% (p/p) a 50 % del adyuvante secuestrante fuerte, tal como en el intervalo de 1-45%, en el intervalo de 1-40%, en el intervalo de 1-35%, en el intervalo de 1-30% o en el intervalo de 1-25%.

25 [0084] Además del adyuvante secuestrante fuerte, la composición detergente puede comprender opcionalmente uno o más de otros adyuvantes, por ejemplo, un adyuvante débil o un adyuvante de precipitación. Los adyuvantes de precipitación son materiales tales como carbonatos, bicarbonatos, sesquicarbonatos, silicatos, aluminatos, oxilatos y ácidos grasos, particularmente como una sal de metal alcalino tal como sodio o potasio.

[0085] En una forma de realización de la invención, el adyuvante usado en la composición detergente se puede seleccionar del grupo constituido por citrato sódico, ácido cítrico, alcanolaminas tales como mono-, di- o trietanolamina (MEA, DEA o TEA), carbonato de sodio (precipitante, $\log K_{Ca} = 7,8$), bicarbonato sódico y ácido amino-tris-(metileno-fosfónico) (AMP).

30 [0086] La presente composición detergente asegura que las superficies duras aparecen limpias y atractivas después de lavarse y ningún mal olor está presente en las superficies limpiadas. Además, cuando el consumidor está satisfecho con el resultado del proceso de lavado automático con la presente composición detergente LVA y con el hecho de que ningún olor desagradable se libera de la vajilla limpia o el interior del lavavajillas, el consumidor no tiende a poner una dosis excesiva de la composición de detergente LVA para mejorar el resultado de limpieza. Esto
35 tiene una influencia positiva en el ambiente local donde se libera la solución de lavado drenado.

[0087] La composición detergente puede comprender además otros componentes detergentes tales como surfactantes, adyuvantes, un auxiliar de floculación, agentes quelantes, inhibidores de transferencia de tinte, enzimas, estabilizadores enzimáticos, inhibidores enzimáticos, materiales catalíticos, activadores de blanqueo, peróxido de hidrógeno, fuentes de peróxido de hidrógeno, perácidos preformados, agentes de dispersión
40 poliméricos, agentes de eliminación/antirredeposición de suciedad arcillosa, abrillantadores, supresores de espuma, tintes, perfumes, agentes elastizantes de la estructura, suavizantes, portadores, hidrótrofos, adyuvantes y coadyuvantes, agentes de matizado de tejidos, agentes antiespumantes, dispersantes, auxiliares de procesamiento, bactericidas, fungicidas y/o pigmentos y combinaciones de los mismos. En una forma de realización, la composición detergente comprende un surfactante. En una forma de realización, la composición detergente comprende un
45 adyuvante. En una forma de realización, la composición detergente comprende un agente de eliminación/antirredeposición de suciedad arcillosa.

[0088] Para mejorar la limpieza de superficies duras, por ejemplo, vajilla, la composición detergente puede comprender además una o más enzimas seleccionadas del grupo constituido por proteasas, lipasas, cutinasas, amilasas, carbohidrasas, celulasas, pectinasas, mananasas, arabinasas, galactanasas, xilanasas, peroxidadas y
50 oxidadas.

[0089] La composición detergente se puede utilizar para prevenir, reducir o eliminar biopelículas de una superficie. La superficie puede ser una superficie dura, por ejemplo, una vajilla.

5 [0090] En una forma de realización, la composición es una pastilla, un comprimido homogéneo, un comprimido con dos o más capas, una bolsa con uno o más compartimentos, un polvo regular o compacto, un gránulo, una pasta, un gel o un líquido regular compacto o concentrado. La composición puede ser un detergente líquido, un detergente en polvo o un detergente granulado.

10 [0091] La divulgación se refiere además a una composición detergente líquida que comprende un surfactante y un detergente y un adyuvante de detergente en una concentración total de al menos el 3% en peso, y una microcápsula que contiene una enzima detergente, donde la membrana de la microcápsula se produce por reticulación de una poliamina polirramificada con un peso molecular superior a 1 kDa. Los inventores han descubierto, que encapsular enzimas en una microcápsula con una membrana semipermeable de la invención y tener una actividad del agua en el interior de estas cápsulas (antes de la adición al detergente líquido) superior que en el detergente líquido, hace que las cápsulas se colapsen (parcialmente) cuando se añaden al detergente (el agua está saliendo), dejando así el interior de las cápsulas que contienen enzimas más concentrado y más viscoso. El colapso de la membrana también puede resultar en una permeabilidad reducida. Esto puede utilizarse además añadiendo estabilizadores/polímeros, especialmente aquellos que no son permeables a través de la membrana. El colapso y el aumento resultante en la viscosidad reducirá/obstaculizará la difusión de componentes hostiles (por ejemplo, surfactantes o secuestrantes) en las cápsulas, y aumentará así la estabilidad de almacenamiento de la enzima en el detergente líquido. Los componentes del detergente líquido que son sensibles a la enzima (por ejemplo, componentes que hacen de sustrato para la enzima) también se protegen contra la degradación por la enzima. Durante el lavado, el detergente líquido se diluye en agua, aumentando así la actividad del agua. El agua difundirá ahora en las cápsulas (ósmosis). Las cápsulas se hincharán y la membrana se hará permeable a la enzima para que puedan abandonar las cápsulas o sencillamente estallará, y de esta manera se libera la enzima. El concepto es muy eficaz para estabilizar las enzimas contra los componentes hostiles del detergente líquido y, viceversa, también protege de las enzimas a los componentes del detergente líquido sensibles a las enzimas.

15

20

25

[0092] Los ejemplos de componentes detergentes que son sensibles a, y se pueden degradar por, enzimas incluyen (enzima pertinente en paréntesis): goma xantana (xantanasa), polímeros con enlaces éster (lipasa), aceite de ricino hidrogenado (lipasa), perfume (lipasa), surfactantes de metil éster sulfonato (lipasa), celulosa y derivados de la celulosa (por ejemplo, CMC) (celulasa), y dextrina y ciclodextrina (amilasa).

30 [0093] También pueden encapsularse los ingredientes sensibles del detergente y, se estabilizan así, en las microcápsulas de la divulgación. Los ingredientes sensibles del detergente son propensos a la degradación durante el almacenamiento. Tales ingredientes del detergente incluyen compuestos blanqueantes, activadores de blanqueo, perfumes, polímeros, adyuvantes, surfactantes, etc.

35 [0094] Generalmente, las microcápsulas de la divulgación pueden utilizarse para separar componentes/compuestos incompatibles en detergentes.

[0095] La adición de las microcápsulas a detergentes puede utilizarse para influir en la apariencia visual del producto detergente, tal como un efecto opacificante (microcápsulas pequeñas) o un efecto de partículas visibles claramente (microcápsulas grandes). Las microcápsulas también pueden estar coloreadas.

40 [0096] Las microcápsulas pueden utilizarse para reducir los niveles de polvo de enzima durante la manipulación y el procesamiento de los productos enzimáticos.

[0097] A menos que se indique lo contrario, todos los porcentajes se indican como porcentaje en peso (% p/p) en toda la solicitud.

45 [0098] Microcápsula: las microcápsulas se producen típicamente formando gotitas de agua en un continuo que no es miscible con agua - es decir, típicamente preparando una emulsión de agua en aceite - y posteriormente formando la membrana por polimerización interfacial mediante la adición de un agente de reticulación. Después del curado eventual, las cápsulas se pueden recoger y enjuagar y formular adicionalmente por métodos conocidos en la técnica. La formulación de las cápsulas se añade posteriormente al detergente.

50 [0099] La carga útil, los constituyentes principales de la membrana y el componente adicional eventual que se van a encapsular se encuentran en la fase acuosa. En el continuo se encuentran componentes que estabilizan las gotitas de agua hacia la coalescencia (emulsionantes, estabilizadores de emulsión, surfactantes, etc.) y el agente de reticulación se añade también a través del continuo.

[0100] La emulsión se puede preparar por cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, por agitación mecánica, procesos de goteo, emulsión de membrana, microfluidos, sonicación, etc. En algunos casos, la mezcla simple de las fases dará lugar automáticamente a una emulsión, frecuentemente referida como autoemulsión. La utilización de métodos que dan como resultado una distribución de tamaño estrecha es una ventaja.

5 [0101] El/Los agente(s) de reticulación se añade(n) típicamente a la emulsión con posterioridad, o directamente o, más típicamente, preparando una solución del agente de reticulación en un solvente que es soluble en la fase continua. La emulsión y el agente de reticulación o la solución del mismo pueden mezclarse por métodos convencionales usados en la técnica, por ejemplo, por mezcla simple o controlando cuidadosamente los flujos de la emulsión y la solución del agente de reticulación a través de un mezclador en línea.

10 [0102] En algunos casos, se necesita el curado de las cápsulas para completar la formación de la membrana. El curado es frecuentemente la agitación simple de las cápsulas durante algún tiempo para permitir que termine la reacción de polimerización interfacial. En otros casos, la formación de membrana se puede detener mediante la adición de un extintor de la reacción.

15 [0103] Las cápsulas pueden modificarse posteriormente, por ejemplo, haciendo reaccionar componentes sobre la membrana para obstaculizar o reducir la floculación de las partículas en el detergente como se describe en WO 99/01534.

[0104] Las cápsulas producidas se pueden aislar o concentrar mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, por filtración, centrifugación, destilación o decantación de la dispersión de cápsulas.

20 [0105] Las cápsulas resultantes pueden formularse posteriormente, por ejemplo, por adición de surfactantes para dar al producto las propiedades deseadas para el almacenamiento, el transporte y la posterior manipulación y adición al detergente. Otros agentes de formulación de microcápsulas incluyen modificadores reológicos, biocidas (por ejemplo, Proxel), ácido/base para el ajuste del pH (que también se ajustará dentro de las microcápsulas) y agua para el ajuste de la actividad del agua.

[0106] El proceso de formación de cápsulas puede incluir las etapas siguientes:

- 25 - preparación de la(s) fase(s) inicial(es) de agua y aceite,
 - formación de una emulsión de agua en aceite,
 - formación de membrana por polimerización interfacial,
 - modificación posterior opcional,
 - aislamiento y/o formulación opcional,
 30 - adición al detergente.

[0107] El proceso puede ser un proceso discontinuo o un proceso continuo o semicontinuo.

35 [0108] Una microcápsula según la divulgación es una esfera acuosa pequeña con una membrana uniforme alrededor. El material dentro de la microcápsula se conoce como núcleo, fase interna o relleno, mientras que la membrana se llama a veces envoltura, recubrimiento o pared. Las microcápsulas de la divulgación tienen diámetros entre 0,5 μm y 2 milímetros. Preferiblemente, el diámetro medio de las microcápsulas está en el intervalo de 1 μm a 1000 μm , más preferiblemente en el intervalo de 5 μm a 500 μm , aún más preferiblemente en el intervalo de 10 μm a 500 μm , aún más preferiblemente en el intervalo de 50 μm a 500 μm , y de la forma más preferible en el intervalo de 50 μm a 200 μm . Alternativamente, el diámetro de las microcápsulas está en el intervalo de 0,5 μm a 30 μm ; o en el intervalo de 1 μm a 25 μm . El diámetro de la microcápsula se mide en la fase oleosa después de que la polimerización se haya completado. El diámetro de la cápsula puede cambiar dependiendo de la actividad del agua del ambiente químico circundante.

45 [0109] La microencapsulación de enzimas, tal como se usa en la presente invención, se puede realizar por polimerización interfacial, donde los dos reactivos de una reacción de polimerización se encuentran en una interfaz y reaccionan rápidamente. La base de este método es la reacción de una poliamina con un derivado ácido, normalmente un haluro ácido, que actúa como un agente de reticulación. La poliamina es preferiblemente hidrosoluble sustancialmente (cuando está en forma de base libre). En las condiciones adecuadas, se forman membranas flexibles finas rápidamente en la interfaz. Una manera de realizar la polimerización es usar una solución acuosa de la enzima y la poliamina, que se emulsionan con un solvente no acuoso (y un emulsionante), y se añade una solución que contiene el derivado ácido. Un agente alcalino puede estar presente en la solución enzimática para neutralizar el ácido formado durante la reacción. Las membranas poliméricas (poliamida) se forman instantáneamente en la interfaz de las gotitas de emulsión. La membrana polimérica de la microcápsula es

típicamente de una naturaleza catiónica y, por tanto, se une/forma complejos con compuestos de una naturaleza aniónica.

[0110] El diámetro de las microcápsulas se determina por el tamaño de las gotitas de emulsión, que se controla, por ejemplo, mediante la velocidad de agitación.

5 [0111] Emulsión: una emulsión es una dispersión temporal o permanente de una fase líquida dentro de una segunda fase líquida. El segundo líquido se conoce generalmente como la fase continua. Los surfactantes se usan comúnmente para ayudar en la formación y la estabilización de emulsiones. No todos los surfactantes son igualmente capaces de estabilizar una emulsión. El tipo y la cantidad de un surfactante tienen que seleccionarse para una utilidad de emulsión óptima, especialmente con respecto a la preparación y la estabilidad física de la emulsión, y la estabilidad durante la dilución y el procesamiento posterior. La estabilidad física se refiere al mantenimiento de una emulsión en una forma de dispersión. Los procesos tales como la coalescencia, agregación, adsorción a las paredes del contenedor, sedimentación y formación de cremas, son formas de inestabilidad física y deberían evitarse. Ejemplos de surfactantes adecuados se describen en WO 97/24177, páginas 19-21; y en WO 99/01534.

15 [0112] Las emulsiones pueden clasificarse además como emulsiones simples, donde la fase líquida dispersa es un líquido homogéneo simple, o como una emulsión más compleja, donde la fase líquida dispersa es una combinación heterogénea de fases líquidas o sólidas, tal como una emulsión doble o una emulsión múltiple. Por ejemplo, se puede formar una emulsión doble de agua en aceite o una emulsión múltiple donde la propia fase acuosa contiene además una fase oleosa emulsionada; este tipo de emulsión puede especificarse como una emulsión de aceite en agua en aceite (O/W/O). Alternativamente, se puede formar una emulsión de agua en aceite donde la fase acuosa contiene una fase sólida dispersa a menudo referida como una suspensión-emulsión. Se pueden describir otras emulsiones más complejas. Debido a la dificultad inherente al describir tales sistemas, el término emulsión se utiliza para describir tanto las emulsiones simples como las más complejas sin limitar necesariamente la forma de la emulsión o el tipo y el número de fases presentes.

25 [0113] Poliamina: la rigidez/flexibilidad y la permeabilidad de la membrana está influida principalmente por la elección de la poliamina. La poliamina es una poliamina polirramificada. Cada rama, que termina preferiblemente con un grupo amino primario sirve como un punto de anclaje en la red de membrana, proporcionando así las propiedades favorables. Una poliamina polirramificada es una poliamina que tiene más de dos puntos de ramificación y más de dos grupos amino reactivos (capaces de reaccionar con el agente de reticulación, es decir, grupos amino primarios y secundarios). La poliamina polirramificada se usa como material de partida cuando se prepara la emulsión - no se forma *in situ* a partir de otros materiales de partida. Para obtener las propiedades atractivas, la estructura polirramificada de la poliamina debe estar presente como material de partida.

35 [0114] Hay una relación estrecha entre el número de puntos de ramificación y el número de aminas primarias, ya que las aminas primarias siempre se colocarán al final de una rama: una amina lineal solo puede contener dos aminas primarias. Para cada punto de ramificación introducido hipotéticamente en tal diamina lineal se permitirá la introducción de una o más amina(s) primaria(s) al final de la(s) rama(s) introducida(s). En este contexto entendemos el grupo amino primario como parte de la rama, es decir, el punto final de la rama. Por ejemplo, consideramos tanto a la tris(2-aminoetil)amina como a la 1,2,3-propanetriamina como moléculas con un punto de ramificación. Para la invención, la poliamina tiene al menos cuatro aminas primarias. Los puntos de ramificación se pueden introducir a partir de una cadena de hidrocarburo alifática como en los ejemplos indicados previamente o a partir de enlaces de carbono insaturados, tal como en, por ejemplo, 3,3'-diaminobencidina, o de grupos amino terciarios, tal como en N,N,N,N'-tetraquis-(2-aminoetil)etilendiamina.

45 [0115] Además del número de puntos de ramificación, hemos encontrado que la compacidad de los grupos amino reactivos es de gran importancia. Una sustancia como, por ejemplo, N,N,N,N'-tetraquis-(12-aminododecil)etilenediamina no sería adecuada. Tampoco un péptido o una proteína, tal como una enzima, serviría para la formación de membranas. Por tanto, la poliamina polirramificada no es un péptido o una proteína.

50 [0116] En una forma de realización, los grupos amino reactivos constituyen al menos el 15% del peso molecular de la poliamina polirramificada, tal como más del 20% o más del 25%. Preferiblemente, el peso molecular de la poliamina polirramificada es al menos 1 kDa; más preferiblemente, el peso molecular de la poliamina polirramificada es al menos 1,3 kDa.

[0117] En una forma de realización preferida, la poliamina polirramificada es una polietilenimina (PEI) y modificaciones de la misma, que tienen más de dos puntos de ramificación y más de dos grupos amino reactivos; donde los grupos amino reactivos constituyen al menos el 15% del peso molecular de la PEI, tal como más del 20% o más del 25%. Preferiblemente, el peso molecular de la PEI es al menos 1 kDa.

[0118] Se pueden utilizar combinaciones de diferentes poliaminas polirramificadas para la preparación de la microcápsula. Las propiedades ventajosas (por ejemplo, la estabilidad de almacenamiento de la enzima, la fuga reducida de enzima, la entrada reducida de ingredientes del detergente) de la microcápsula se pueden mejorar añadiendo una o más aminas pequeñas con un peso molecular inferior a 1 kDa. La amina pequeña es preferiblemente hidrosoluble de manera sustancial (cuando está en forma de base libre) y puede ser un material tal como etilendiamina, hexametilendiamina, hexadiamina, dietilentetramina, etilentetramina, diaminobenceno, piperazina, tetrametilenpentamina o, preferiblemente, dietilentriamina (DETA). Las aminas pequeñas se pueden añadir en una cantidad de hasta el 50%, preferiblemente hasta el 40%, hasta el 30%, hasta el 20%, hasta el 10% o hasta el 5% en peso del contenido total de amina pequeña y poliamina polirramificada, cuando se prepara la microcápsula. Agente de reticulación: el agente de reticulación como se usa en la presente invención es una molécula con al menos dos grupos/sitios capaces de reaccionar con aminas para formar enlaces covalentes.

[0119] El agente de reticulación es preferiblemente soluble en aceite y puede estar en la forma de un anhídrido de ácido o haluro de ácido, preferiblemente un cloruro de ácido. Por ejemplo, puede ser cloruro de adipoilo, cloruro de sebacoilo, cloruro de ácido dodecanodioico, cloruro de ftaloilo, cloruro de tereftaloilo, cloruro de isoftaloilo o cloruro de trimesoilo; pero preferiblemente, el agente de reticulación es cloruro de tereftaloilo o cloruro de trimesoilo.

[0120] La invención se refiere además a un método de limpieza para prevenir, reducir o eliminar una biopelícula de un artículo que comprende las etapas de:

- a) poner en contacto un artículo con una composición según la invención o con una solución líquida que comprende un polipéptido con actividad de DNasa;
- b) completar al menos un ciclo de limpieza; y
- c) opcionalmente, enjuagar el artículo;

donde el artículo es una superficie dura, superficie dura la cual es vajilla, la superficie interior de una máquina lavavajillas o una lavadora para tejidos. En una forma de realización, se trata de una superficie dura, como la superficie interior de una máquina lavavajillas o una lavadora. La superficie interior de una máquina lavavajillas o lavadora puede comprender una caja para la introducción de jabón, paredes, ventanas, cestas, rejillas, boquillas, bombas, sumidero, filtros, tuberías, tubos, articulaciones, juntas, juntas de estanqueidad, accesorios, propulsores, tambores, desagües, trampas, entrada a trampas de monedas y salidas. Las superficies interiores en un lavavajillas o máquina lavavajillas pueden estar hechas de varios materiales tales como metal, vidrio, caucho, plástico, PVC, acrílicos, cerámica, china o porcelana.

[0121] En una forma de realización de la invención, una vajilla, tal como platos, tazas, vasos, cuencos, ollas, cubiertos, cucharas, cuchillos, tenedores, utensilios para servir, cerámica, plásticos, tablas de cortar, porcelana y cristalería. En una forma de realización, la vajilla se limpia simultáneamente con la limpieza de la superficie dura, por ejemplo, el interior de la máquina lavavajillas se limpia a la vez que se lava o se limpia la vajilla. O el interior de una lavadora se limpia a la vez que se lavan los artículos de la colada.

[0122] La solución líquida usada en el método puede comprender además agentes antiestáticos, surfactantes, adyuvantes, un auxiliar de floculación, agentes quelantes, inhibidores de transferencia de tinte, enzimas, estabilizadores enzimáticos, inhibidores enzimáticos, materiales catalíticos, activadores de blanqueo, peróxido de hidrógeno, fuentes de peróxido de hidrógeno, perácidos preformados, agentes de dispersión poliméricos, agentes de eliminación/antirredeposición de suciedad arcillosa, abrillantadores, supresores de espuma, tintes, perfumes, agentes elastizantes de la estructura, suavizantes, portadores, hidrótrofos, adyuvantes y coadyuvantes, agentes de matizado de tejidos, agentes antiespumantes, dispersantes, auxiliares de procesamiento, bactericidas, fungicidas y/o pigmentos y/o combinaciones de los mismos.

[0123] En una forma de realización, la solución líquida comprende además una o más enzimas seleccionadas del grupo constituido por proteasas, lipasas, cutinasas, amilasas, carbohidrasas, celulasas, pectinasas, mananasas, arabinasas, galactanasas, xilanasas, peroxidadas y oxidadas.

[0124] El pH de la solución líquida está en el intervalo de 1 a 11, tal como en el intervalo de 5,5 a 11, tal como en el intervalo de 7 a 9, en el intervalo de 7 a 8 o en el intervalo de 7 a 8,5.

[0125] La temperatura de la solución líquida puede estar en el intervalo de 5°C a 95°C, o en el intervalo de 10°C a 80°C, en el intervalo de 10°C a 70°C, en el intervalo de 10°C a 60°C, en el intervalo de 10°C a 50°C, en el intervalo de 15°C a 40°C o en el intervalo de 20°C a 30°C. En una forma de realización, la temperatura de la solución líquida es de 30°C.

[0126] En una forma de realización, el artículo se enjuaga después de ponerse en contacto con la solución líquida o la composición. El artículo puede enjuagarse con agua o con agua que comprende un acondicionador.

5 [0127] El polipéptido con actividad de DNasa puede ser de origen animal, vegetal, microbiano. En una forma de realización, el polipéptido es de origen humano. En una forma de realización, el polipéptido se obtiene de material vegetal tal como frijol mungo. En una forma de realización, el polipéptido es de origen bacteriano o fúngico.

[0128] Un polipéptido de origen fúngico se puede seleccionar del grupo constituido por:

- 10 a. un polipéptido con al menos el 60% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, un polipéptido con al menos el 60% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3 o un polipéptido con al menos el 60% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 5
- b. un polipéptido codificado por un polinucleótido que hibrida bajo condiciones de astringencia baja con
- 15 i. la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1 o la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 4,
- ii. la secuencia de ADNc de la misma, o
- iii. el complemento en toda su longitud de (i) o (ii);
- 20 c. un polipéptido codificado por un polinucleótido con al menos el 60% de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1 o la secuencia de ADNc de la misma o un polipéptido codificado por un polinucleótido con al menos el 60% de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 4 o la secuencia de ADNc de la misma;
- d. una variante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2 que comprende una sustitución, deleción y/o inserción en una o más posiciones, una variante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3 que comprende una sustitución, deleción y/o inserción en una o más posiciones o una variante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 5 que comprende una sustitución, deleción y/o inserción en una o más posiciones; y
- e. un fragmento del polipéptido de (a), (b), (c) o (d) que tiene actividad de DNasa.

25 [0129] El número de solicitud de patente europea 14164424.5 divulga en los ejemplos 1 a 3 cómo se producen los polipéptidos de SEQ ID N.º: 2 y SEQ ID N.º: 3. El número de solicitud de patente europea 14164429.4 divulga en los ejemplos 1 a 2 cómo se produce el polipéptido de SEQ ID N.º: 5.

[0130] Un polipéptido de origen bacteriano se puede seleccionar del grupo constituido por:

- 30 a. un polipéptido con al menos el 60% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6 o un polipéptido con al menos el 60% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 7;
- b. una variante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6 que comprende una sustitución, deleción y/o inserción en una o más posiciones o una variante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 7 que comprende una sustitución, deleción y/o inserción en una o más posiciones; y
- c. un fragmento del polipéptido de (a) o (b) que tiene actividad de DNasa;

35 [0131] El polipéptido puede tener al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3, o con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 5, o con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6 o con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 7.

40 [0132] La solicitud de patente internacional publicada con el número WO2011098579 divulga en el ejemplo 3 cómo clonar y expresar el polipéptido de SEQ ID N.º: 6.

45 [0133] El polipéptido puede comprender o consistir en la SEQ ID N.º: 2 o el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, el polipéptido comprende o consiste en la SEQ ID N.º: 3 o el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3, el polipéptido comprende o consiste en la SEQ ID N.º: 5 o el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 5, el polipéptido comprende o consiste en la SEQ ID N.º: 6 o el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6 o el polipéptido comprende o consiste en la SEQ ID N.º: 7 o el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 7.

[0134] El polipéptido maduro puede comprender los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 2, los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 3, los aminoácidos 1 a 188 de la SEQ ID N.º: 5, los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID N.º: 6 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID N.º: 7.

[0135] El polipéptido puede ser una variante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 3, SEQ ID N.º: 5, SEQ ID N.º: 6 o SEQ ID N.º: 7, donde la variante comprende una sustitución, delección y/o inserción en una o más posiciones o una variante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 3, SEQ ID N.º: 5, SEQ ID N.º: 6 o SEQ ID N.º: 7 que comprende una sustitución, delección y/o inserción en una o más posiciones.

5 [0136] El polipéptido puede ser un fragmento de la SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 3, SEQ ID N.º: 5, SEQ ID N.º: 6 o SEQ ID N.º: 7, donde el fragmento tiene actividad de DNasa.

[0137] El polipéptido con actividad de DNasa se puede obtener de *Aspergillus*, por ejemplo de *Aspergillus oryzae*.

10 [0138] En una forma de realización, la presente invención se refiere a polipéptidos con una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2 de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%, que tienen actividad de DNasa. En un aspecto, los polipéptidos difieren en hasta 10 aminoácidos, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2.

15 [0139] En una forma de realización, la presente invención se refiere a polipéptidos con una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3 de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%, que tienen actividad de DNasa. En un aspecto, los polipéptidos difieren en hasta 10 aminoácidos, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3.

20 [0140] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a un polipéptido con actividad de DNasa codificado por un polinucleótido con una identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 5 o la secuencia de ADNc del mismo de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, o el 100% y donde el polipéptido se usa para prevenir, reducir o eliminar la electricidad estática de un artículo.

30 [0141] En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado. Un polipéptido de la presente invención comprende o consiste preferiblemente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.º: 2 o una variante alélica de la misma; o es un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 2.

35 [0142] En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado. Un polipéptido de la presente invención comprende o consiste preferiblemente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.º: 3 o una variante alélica de la misma; o es un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 3.

40 [0143] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a un polipéptido aislado que tiene actividad de DNasa codificado por un polinucleótido que hibrida bajo condiciones de astringencia baja con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1, (ii) la secuencia de ADNc del mismo, o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii) (Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2a edición, Cold Spring Harbor, Nueva York). En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

45 [0144] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a un polipéptido con actividad de DNasa codificado por un polinucleótido con una identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1 o la secuencia de ADNc del mismo de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%. En otra forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

50 [0145] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a un polipéptido con actividad de DNasa codificado por un polinucleótido con una identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6, SEQ ID N.º: 7 o la secuencia de ADNc del mismo de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%.

98%, al menos el 99% o el 100% y donde el polipéptido se usa para prevenir, reducir o eliminar la electricidad estática de un artículo.

5 [0146] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a variantes del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2 que comprenden una sustitución, delección y/o inserción en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. En una forma de realización, el número de sustituciones de aminoácidos, delecciones y/o inserciones introducidas en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2 es de hasta 10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Los cambios de aminoácidos pueden ser de una naturaleza menor, es decir, sustituciones o inserciones de aminoácidos conservadoras que no afectan significativamente al plegado y/o la actividad de la proteína; delecciones pequeñas, típicamente de 1-30 aminoácidos; extensiones pequeñas del amino o el carboxilo terminal, tal como un residuo de metionina aminoterminal; un péptido conector pequeño de hasta 20-25 residuos; o una extensión pequeña que facilita la purificación cambiando la carga neta u otra función, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

15 [0147] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a variantes del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3 que comprende una sustitución, delección y/o inserción en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. En una forma de realización, el número de sustituciones de aminoácidos, delecciones y/o inserciones introducidas en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3 es de hasta 10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Los cambios de aminoácidos pueden ser de una naturaleza menor, es decir, sustituciones o inserciones de aminoácidos conservadoras que no afectan significativamente al plegado y/o la actividad de la proteína; delecciones pequeñas, típicamente de 1-30 aminoácidos; extensiones pequeñas del amino o el carboxilo terminal, tal como un residuo de metionina aminoterminal; un péptido conector pequeño de hasta 20-25 residuos; o una extensión pequeña que facilita la purificación cambiando la carga neta u otra función, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

25 [0148] El polipéptido con actividad de DNasa puede obtenerse también de *Trichoderma*, por ejemplo de *Trichoderma harzianum*. En una forma de realización, la presente invención se refiere a polipéptidos con una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 5 de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%, que tienen actividad de DNasa. En un aspecto, los polipéptidos difieren en hasta 10 aminoácidos, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 5.

30 [0149] En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado. Un polipéptido de la presente invención comprende o consiste preferiblemente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.º: 5 o una variante alélica de la misma; o es un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 5. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 188 de la SEQ ID N.º: 5.

35 [0150] En otra forma de realización, la presente invención se refiere a un polipéptido aislado que tiene actividad de DNasa codificado por un polinucleótido que hibrida bajo condiciones de astringencia baja con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 4, (ii) la secuencia de ADNc del mismo, o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii) (Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2a edición, Cold Spring Harbor, Nueva York). En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

40 [0151] El polinucleótido de SEQ ID N.º: 1 o SEQ ID N.º: 4 o una subsecuencia del mismo, así como el polipéptido de SEQ ID N.º: 5, SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 3 o un fragmento del mismo, se puede utilizar para diseñar sondas de ácido nucleico para identificar y clonar ADN codificante de polipéptidos que tienen actividad de DNasa a partir de cepas de diferentes géneros o especies según métodos bien conocidos en la técnica.

45 [0152] En particular, tales sondas se pueden usar para la hibridación con el ADN genómico o ADNc de una célula de interés, siguiendo procedimientos estándares de transferencia de Southern, para identificar y aislar el gen correspondiente en el mismo. Tales sondas pueden ser considerablemente más cortas que la secuencia entera, pero deberían ser de al menos 15, por ejemplo, al menos 25, al menos 35, o al menos 70 nucleótidos de longitud. Preferiblemente, la sonda de ácido nucleico es de al menos 100 nucleótidos de longitud, por ejemplo, al menos 200 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 400 nucleótidos, al menos 500 nucleótidos, al menos 600 nucleótidos, al menos 700 nucleótidos, al menos 800 nucleótidos o al menos 900 nucleótidos de longitud. Se pueden usar tanto sondas de ADN como de ARN. Las sondas se marcan típicamente para la detección del gen correspondiente (por ejemplo, con ³²P, ³H, ³⁵S, biotina o avidina).

55 [0153] Una genoteca de ADN genómico o ADNc obtenida a partir de tales otras cepas se puede cribar para ADN que hibrida con las sondas anteriormente descritas y codifica un polipéptido con actividad de DNasa. El ADN genómico o de otro tipo de tales otras cepas se puede separar por electroforesis en gel de poliacrilamida o agarosa, u otras

técnicas de separación. El ADN de las genotecas o el ADN separado se pueden transferir e inmovilizar en nitrocelulosa u otro material portador adecuado. Para identificar un clon o ADN que hibride con la SEQ ID N.º: 4 o una subsecuencia de la misma, el material portador se usa en una transferencia de Southern.

5 [0154] Para los fines de la presente descripción, la hibridación indica que el polinucleótido hibrida con una sonda de ácido nucleico marcada que corresponde con (i) la SEQ ID N.º: 1 o SEQ ID N.º: 4; (ii) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1 o SEQ ID N.º: 4; (iii) la secuencia de ADNc del mismo; (iv) el complemento en toda su longitud de la misma; o (v) una subsecuencia de la misma; bajo condiciones de astringencia muy baja a muy alta. Las moléculas con las que hibrida la sonda de ácido nucleico bajo estas condiciones se pueden detectar utilizando, por ejemplo, película radiográfica o cualquiera de los otros medios de detección conocidos en la técnica.

10 [0155] En otra forma de realización, la presente invención usa un polipéptido con actividad de DNasa codificado por un polinucleótido que tiene una identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1 o SEQ ID N.º: 4 o la secuencia de ADNc del mismo de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%. En otra forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

15 [0156] En otra forma de realización, la presente invención usa variantes del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 3 o SEQ ID N.º: 5 que comprenden una sustitución, delección y/o inserción en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. En una forma de realización, el número de sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 3 o SEQ ID N.º: 5 es de hasta 10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Los cambios de aminoácidos pueden ser de una naturaleza menor, es decir, sustituciones o inserciones de aminoácidos conservadoras que no afectan significativamente al plegado y/o la actividad de la proteína; delecciones pequeñas, típicamente de 1-30 aminoácidos; extensiones pequeñas del amino o el carboxilo terminal, tal como un residuo de metionina aminoterminal; un péptido conector pequeño de hasta 20-25 residuos; o una extensión pequeña que facilita la purificación cambiando la carga neta u otra función, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

20 [0157] El polipéptido con actividad de DNasa puede obtenerse también de *Bacillus*, por ejemplo de *Bacillus subtilis* o *Bacillus licheniformis*.

25 [0158] En una forma de realización, la presente invención usa polipéptidos que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6 o SEQ ID N.º: 7 de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%, que tienen actividad de DNasa. En un aspecto, los polipéptidos difieren en hasta 10 aminoácidos, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6 o SEQ ID N.º: 7.

30 [0159] En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado. Un polipéptido usado en la presente invención comprende o consiste preferiblemente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.º: 6, SEQ ID N.º: 7 o una variante alélica de la misma; o es un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6 o SEQ ID N.º: 7. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID N.º: 6 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID N.º: 7.

35 [0160] En otra forma de realización, la presente invención usa un polipéptido con actividad de DNasa codificado por un polinucleótido con una identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6, SEQ ID N.º: 7 o la secuencia de ADNc del mismo de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%. En otra forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

40 [0161] En otra forma de realización, la presente invención usa variantes del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6 o SEQ ID N.º: 7 que comprenden una sustitución, delección y/o inserción en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. En una forma de realización, el número de sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6 o SEQ ID N.º: 7 es de hasta 10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Los cambios de aminoácidos pueden ser de una naturaleza menor, es decir sustituciones o inserciones de aminoácidos conservadoras que no afectan significativamente al plegado y/o la actividad de la proteína; delecciones pequeñas, típicamente de 1-30 aminoácidos; extensiones pequeñas del amino o el carboxilo terminal, tal como un residuo de metionina aminoterminal; un péptido conector pequeño de hasta 20-25 residuos; o una extensión pequeña que facilita la purificación cambiando la carga neta u otra función, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

55

5 [0162] Se encuentran ejemplos de sustituciones conservadoras en los grupos de aminoácidos básicos (arginina, lisina e histidina), aminoácidos ácidos (ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (glutamina y asparagina), aminoácidos hidrofóbicos (leucina, isoleucina y valina), aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina) y aminoácidos pequeños (glicina, alanina, serina, treonina y metionina). Las sustituciones de aminoácidos que generalmente no alteran la actividad específica se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, por H. Neurath y R.L. Hill, 1979, In, *The Proteins*, Academic Press, Nueva York. Las sustituciones comunes son Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu y Asp/Gly.

10 [0163] Alternativamente, los cambios de aminoácidos son de tal naturaleza que se alteran las propiedades fisicoquímicas de los polipéptidos. Por ejemplo, los cambios de aminoácidos pueden mejorar la termoestabilidad del polipéptido, alterar la especificidad del sustrato, cambiar el pH óptimo y similar.

15 [0164] Los aminoácidos esenciales de un polipéptido se pueden identificar según procedimientos conocidos en la técnica, tales como la mutagénesis dirigida al sitio o la mutagénesis de barrido de alanina (Cunningham and Wells, 1989, *Science* 244: 1081-1085). En la técnica anterior, se introducen mutaciones de alanina única en cada residuo en la molécula, y las moléculas mutantes resultantes se evalúan para determinar la actividad de DNasa para identificar residuos de aminoácidos que son críticos para la actividad de la molécula. Véase también, Hilton et al., 1996, *J. Biol. Chem.* 271: 4699-4708. El sitio activo de la enzima u otra interacción biológica puede determinarse también por análisis físico de la estructura, como se determina por técnicas tales como la resonancia magnética nuclear, la cristalografía, la difracción de electrones o el marcaje por fotoafinidad, junto con la mutación de aminoácidos del sitio de contacto putativo. Véase, por ejemplo, de Vos et al., 1992, *Science* 255: 306-312; Smith et al., 1992, *J. Mol. Biol.* 224: 899-904; Wlodaver et al., 1992, *FEBS Lett.* 309: 59-64. La identidad de aminoácidos esenciales también se puede inferir a partir de un alineamiento con un polipéptido relacionado.

20

25 [0165] Las sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácidos únicas o múltiples pueden realizarse y evaluarse usando métodos conocidos de mutagénesis, recombinación y/o combinación aleatoria, seguidos de un procedimiento de cribado pertinente, tales como los descritos por Reidhaar-Olson y Sauer, 1988, *Science* 241: 53-57; Bowie y Sauer, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2152-2156; WO 95/17413; o WO 95/22625. Otros métodos que se pueden usar incluyen la PCR propensa a errores, la presentación en fagos (por ejemplo, Lowman et al., 1991, *Biochemistry* 30: 10832-10837; patente de EE.UU. nº 5,223,409; WO 92/06204) y la mutagénesis dirigida a la región (Derbyshire et al., 1986, *Gene* 46: 145; Ner et al., 1988, *DNA* 7: 127).

30 [0166] Los métodos de mutagénesis/combinación aleatoria pueden estar combinados con métodos de cribado automatizados de alto rendimiento para detectar la actividad de polipéptidos mutagenizados clonados expresados por células huésped (Ness et al., 1999, *Nature Biotechnology* 17: 893-896). Moléculas de ADN mutagenizadas que codifican polipéptidos activos se pueden recuperar de las células huésped y secuenciar rápidamente usando métodos estándares en la técnica. Estos métodos permiten la determinación rápida de la importancia de los residuos de aminoácidos individuales de un polipéptido.

35

[0167] El polipéptido puede ser un polipéptido híbrido donde una región de un polipéptido se fusiona en el N-terminal o el C-terminal de una región de otro polipéptido.

40 [0168] El polipéptido puede ser un polipéptido de fusión o polipéptido de fusión escindible donde otro polipéptido se fusiona en el N-terminal o el C-terminal del polipéptido usado en la presente invención. Un polipéptido de fusión se produce por fusión de un polinucleótido que codifica otro polipéptido con un polinucleótido usado en la presente invención. Las técnicas para producir polipéptidos de fusión se conocen en la técnica, e incluyen ligar las secuencias codificantes que codifican los polipéptidos de modo que están en marco y que la expresión del polipéptido de fusión está bajo control de los mismos promotor(es) y terminador. Los polipéptidos de fusión también se pueden construir usando la tecnología de inteína donde se crean polipéptidos de fusión postraduccionalmente (Cooper et al., 1993, *EMBO J.* 12: 2575-2583; Dawson et al., 1994, *Science* 266: 776-779).

45

[0169] Un polipéptido de fusión puede comprender además un sitio de escisión entre los dos polipéptidos. Al segregarse la proteína de fusión, el sitio se escinde liberando los dos polipéptidos. Los ejemplos de sitios de escisión incluyen, pero de forma no limitativa, los sitios descritos en Martin et al., 2003, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 3: 568-576; Svetina et al., 2000, *J. Biotechnol.* 76: 245-251; Rasmussen-Wilson et al., 1997, *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3488-3493; Ward et al., 1995, *Biotechnology* 13: 498-503; y Contreras et al., 1991, *Biotechnology* 9: 378-381; Eaton et al., 1986, *Biochemistry* 25: 505-512; Collins-Racie et al., 1995, *Biotechnology* 13: 982-987; Carter et al., 1989, *Proteins: Structure, Function, and Genetics* 6: 240-248; y Stevens, 2003, *Drug Discovery World* 4: 35-48.

50

Enzima usada en la invención - desoxirribonucleasa (DNasa)

[0170] Un polipéptido con actividad de DNasa o una desoxirribonucleasa (DNasa) es cualquier enzima que cataliza la escisión hidrolítica de enlaces fosfodiéster en el esqueleto de ADN, degradando así el ADN. Los dos términos polipéptido con actividad de DNasa y DNasa se usan de forma intercambiable.

5 [0171] Según la presente invención, se prefiere una DNasa que es obtenible de un hongo; en particular se prefiere una DNasa que es obtenible de un *Aspergillus*; se prefiere en particular una DNasa que es obtenible de *Aspergillus oryzae*. En una forma de realización de la presente invención, el polipéptido con actividad de desoxirribonucleasa no es la nucleasa S1 de *Aspergillus oryzae*.

10 [0172] La DNasa usada en la presente invención incluye el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2, mostrado como los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 2, que es obtenido de *Aspergillus oryzae*. El polipéptido con actividad de DNasa se puede obtener de *Aspergillus*, por ejemplo de *Aspergillus oryzae*. En una forma de realización de la invención, el polipéptido con actividad de DNasa es el polipéptido usado.

15 [0173] Un aspecto de la presente invención usa un polipéptido aislado que tiene una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2 de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%, que tiene actividad de DNasa. En un aspecto, los polipéptidos difieren en hasta 10 aminoácidos, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2.

20 [0174] En una forma de realización, la presente invención usa polipéptidos aislados que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3 de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%, que tienen actividad de DNasa. En un aspecto, los polipéptidos difieren en hasta 10 aminoácidos, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3.

25 [0175] En una forma de realización, la presente invención usa polipéptidos aislados que tienen una identidad de secuencia con la SEQ ID N.º: 8 de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%, que tienen actividad de DNasa. En un aspecto, los polipéptidos difieren en hasta 10 aminoácidos, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 8.

30 [0176] Un polipéptido de la presente invención comprende o consiste preferiblemente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.º: 2 o una variante alélica de la misma; o es un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 2.

35 [0177] En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado. Un polipéptido usado en la presente invención comprende o consiste preferiblemente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.º: 3 o una variante alélica de la misma; o es un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 204 de la SEQ ID N.º: 3. Un aspecto de la presente descripción se refiere a una composición que comprende o consistente en un polipéptido consistente en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N.º: 8 y un polipéptido usado en la presente invención consistente en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N.º: 3.

45 [0178] En otra forma de realización, la presente invención usa un polipéptido aislado que tiene actividad de DNasa codificado por un polinucleótido que hibrida bajo condiciones de astringencia baja con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1, (ii) la secuencia de ADNc del mismo, o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii) (Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2a edición, Cold Spring Harbor, Nueva York). En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

[0179] En otra forma de realización, la presente invención usa un polipéptido aislado que tiene actividad de DNasa codificado por un polinucleótido que hibrida bajo condiciones de astringencia media-baja con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1, (ii) la secuencia de ADNc del mismo, o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii). En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

50 [0180] En otra forma de realización, la presente invención usa un polipéptido aislado que tiene actividad de DNasa codificado por un polinucleótido que hibrida bajo condiciones de astringencia media con (i) la secuencia codificante

del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1, (ii) la secuencia de ADNc del mismo, o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii). En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

5 [0181] En otra forma de realización, la presente invención usa un polipéptido aislado que tiene actividad de DNasa codificado por un polinucleótido que hibrida bajo condiciones de astringencia media-alta con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1, (ii) la secuencia de ADNc del mismo, o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii). En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

10 [0182] En otra forma de realización, la presente invención usa un polipéptido aislado que tiene actividad de DNasa codificado por un polinucleótido que hibrida bajo condiciones de astringencia alta con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1, (ii) la secuencia de ADNc del mismo, o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii). En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

[0183] En otra forma de realización, la presente invención usa un polipéptido aislado que tiene actividad de DNasa codificado por un polinucleótido que hibrida bajo condiciones de astringencia muy alta con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1, (ii) la secuencia de ADNc del mismo, o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii). En una forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

15 [0184] En otra forma de realización, la presente invención usa un polipéptido que tiene actividad de DNasa codificado por un polinucleótido con una identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 1 o la secuencia de ADNc del mismo de al menos el 60%, por ejemplo, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100%. En otra forma de realización, el polipéptido se ha aislado.

20

[0185] En otra forma de realización, la presente invención usa variantes del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2 que comprenden una sustitución, delección, y/o inserción en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. En una forma de realización, el número de sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2 es de hasta 10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Los cambios de aminoácidos pueden ser de una naturaleza menor, es decir, sustituciones o inserciones de aminoácidos conservadoras que no afectan significativamente al plegado y/o la actividad de la proteína; delecciones pequeñas, típicamente de 1-30 aminoácidos; extensiones pequeñas del amino o el carboxilo terminal, tal como un residuo de metionina aminoterminal; un péptido conector pequeño de hasta 20-25 residuos; o una extensión pequeña que facilita la purificación cambiando la carga neta u otra función, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

25

30

[0186] En otra forma de realización, la presente invención usa variantes del polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3 que comprenden una sustitución, delección y/o inserción en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. En una forma de realización, el número de sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3 es de hasta 10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Los cambios de aminoácidos pueden ser de una naturaleza menor, es decir, sustituciones o inserciones de aminoácidos conservadoras que no afectan significativamente al plegado y/o la actividad de la proteína; delecciones pequeñas, típicamente de 1-30 aminoácidos; extensiones pequeñas del amino o el carboxilo terminal, tal como un residuo de metionina aminoterminal; un péptido conector pequeño de hasta 20-25 residuos; o una extensión pequeña que facilita la purificación cambiando la carga neta u otra función, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

35

40

[0187] La enzima de DNasa puede comprender o consistir en la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos -37 a 206 de la SEQ ID N.º: 2 o un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa, tal como el polipéptido maduro. O la enzima de DNasa puede comprender o consistir en un fragmento de los aminoácidos -37 a 206 de la SEQ ID N.º: 2 o los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 2, fragmento en el que uno o más aminoácidos se eliminan del amino y/o carboxilo terminal de la SEQ ID N.º: 2.

45

[0188] La enzima DNasa puede comprender o consistir en la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 3 o un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa, tal como el polipéptido maduro. O la enzima de DNasa puede comprender o consistir en un fragmento de los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 3 o los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 3, fragmento en el que uno o más aminoácidos se eliminan del amino y/o carboxilo terminal de la SEQ ID N.º: 3.

50

[0189] La enzima DNasa puede comprender o consistir en la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 8 o un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa, tal como el polipéptido maduro. O la enzima de DNasa puede comprender o consistir en un fragmento de los aminoácidos 1 a

206 de la SEQ ID N.º: 8 o los aminoácidos 1 a 206 de la SEQ ID N.º: 8, fragmento en el que uno o más aminoácidos se eliminan del amino y/o carboxilo terminal de la SEQ ID N.º: 8.

5 [0190] La presente invención también usa polipéptidos de DNasa que son sustancialmente homólogos a los polipéptidos anteriores y homólogos (parálogos u ortólogos) de especies de los mismos. El término "sustancialmente homólogo" se utiliza en la presente para indicar polipéptidos que son al menos 80%, preferiblemente al menos 85%, más preferiblemente al menos 90%, más preferiblemente al menos 95%, aún más preferiblemente al menos 97% idénticos y, de la forma más preferible, al menos 99% o más idénticos a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N.º: 2 o a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.º: 3, o un fragmento de los mismos que tiene actividad de DNasa, o sus ortólogos o parálogos.

10 [0191] En otra forma de realización, la DNasa de SEQ ID N.º: 2 comprende una sustitución, delección y/o inserción en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. En otra forma de realización, la DNasa de SEQ ID N.º: 3 comprende una sustitución, delección y/o inserción en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. En una forma de realización, el número de sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 2 o en el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 3 no es más de 10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9. Los cambios de aminoácidos pueden ser de una naturaleza menor, es decir, sustituciones o inserciones de aminoácidos conservadoras que no afectan significativamente al plegado y/o la actividad de la proteína; delecciones pequeñas, típicamente de 1-30 aminoácidos; extensiones pequeñas del amino o el carboxilo terminal, tal como un residuo de metionina aminoterminal; un péptido conector pequeño de hasta 20-25 residuos; o una extensión pequeña que facilita la purificación cambiando la carga neta u otra función, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

15

20

[0192] Según la presente invención, se prefiere una DNasa que es obtenible de un hongo; en particular, se prefiere una DNasa que es obtenible de un *Trichoderma*; en particular, se prefiere una DNasa que es obtenible de *Trichoderma harzianum*.

25 [0193] La DNasa usada en la presente invención incluye el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 5, mostrado como los aminoácidos 1 a 188 de la SEQ ID N.º: 5, que es obtenido de *Trichoderma harzianum*.

[0194] La enzima DNasa puede comprender o consistir en la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos -17 a 188 de la SEQ ID N.º: 5 o un fragmento de la misma que tiene actividad de DNasa, tal como el polipéptido maduro. O la enzima DNasa puede comprender o consistir en un fragmento de los aminoácidos -17 a 188 de la SEQ ID N.º: 5 o los aminoácidos 1 a 188 de la SEQ ID N.º: 5, fragmento en el que uno o más aminoácidos se eliminan del amino y/o carboxilo terminal de la SEQ ID N.º: 5.

30

[0195] La presente invención también usa polipéptidos de DNasa que son sustancialmente homólogos a los polipéptidos anteriores, y homólogos (parálogos u ortólogos) de especies de los mismos. El término "sustancialmente homólogo" se utiliza en la presente para indicar polipéptidos que son al menos 80%, preferiblemente al menos 85%, más preferiblemente al menos 90%, más preferiblemente al menos 95%, aún más preferiblemente al menos 97% idénticos y, de la forma más preferible, al menos 99% o más idénticos a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N.º: 5, o un fragmento de los mismos que tiene actividad de DNasa, o sus ortólogos o parálogos.

35

[0196] Según la presente invención, se prefiere una DNasa que es obtenible de una bacteria; en particular, se prefiere una DNasa que es obtenible de un *Bacillus*; en particular, se prefiere una DNasa que es obtenible de *Bacillus subtilis* o *Bacillus licheniformis*.

40

[0197] La DNasa usada en la presente invención incluye el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 6, mostrado como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID N.º: 6, que se deriva de *Bacillus subtilis*; o el polipéptido maduro de SEQ ID N.º: 7, mostrado como los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID N.º: 7, que se deriva de *Bacillus licheniformis*.

[0198] La enzima de DNasa puede comprender o consistir en la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos -26 a 110 de la SEQ ID N.º: 6 o los aminoácidos -33 a 109 de la SEQ ID N.º: 7, o un fragmento de las mismas que tiene actividad de DNasa, tal como el polipéptido maduro. Un fragmento de los aminoácidos -26 a 110 de la SEQ ID N.º: 6 o los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID N.º: 6 es un polipéptido que tiene uno o más aminoácidos eliminados del amino y/o carboxilo terminal de la SEQ ID N.º: 6. Un fragmento de o los aminoácidos -33 a 109 de la SEQ ID N.º: 7 o 1 a 109 de la SEQ ID N.º: 7 es un polipéptido que tiene uno o más aminoácidos eliminados del amino y/o carboxilo terminal de la SEQ ID N.º: 7.

45

50

[0199] La presente invención también usa polipéptidos de DNasa que son sustancialmente homólogos a los polipéptidos anteriores, y homólogos (parálogos u ortólogos) de especies de los mismos. El término

"sustancialmente homólogo" se utiliza en la presente para indicar polipéptidos que son al menos 80%, preferiblemente al menos 85%, más preferiblemente al menos 90%, más preferiblemente al menos 95%, aún más preferiblemente al menos 97% idéntico y, de la forma más preferible, al menos 99% o más idénticos a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N.º: 6 o SEQ ID N.º: 7, o un fragmento de los mismos que tiene actividad de DNasa, o sus ortólogos o parálogos.

[0200] Se encuentran ejemplos de sustituciones conservadoras en los grupos de aminoácidos básicos (arginina, lisina e histidina), aminoácidos ácidos (ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (glutamina y asparagina), aminoácidos hidrofóbicos (leucina, isoleucina y valina), aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina) y aminoácidos pequeños (glicina, alanina, serina, treonina y metionina). Las sustituciones de aminoácidos que generalmente no alteran la actividad específica se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, por H. Neurath y R.L. Hill, 1979, In, *The Proteins*, Academic Press, Nueva York. Las sustituciones comunes son Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu y Asp/Gly.

[0201] Alternativamente, los cambios de aminoácidos son de tal naturaleza que se alteran las propiedades fisicoquímicas de los polipéptidos. Por ejemplo, los cambios de aminoácidos pueden mejorar la termoestabilidad del polipéptido, alterar la especificidad del sustrato, cambiar el pH óptimo y similar.

[0202] Los aminoácidos esenciales de un polipéptido se pueden identificar según procedimientos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis de barrido de alanina (Cunningham and Wells, 1989, *Science* 244: 1081-1085). En la técnica anterior, se introducen mutaciones de alanina única en cada residuo de la molécula, y las moléculas mutantes resultantes se evalúan para determinar la actividad de DNasa para identificar residuos de aminoácidos que son críticos para la actividad de la molécula. Véase también, Hilton et al., 1996, *J. Biol. Chem.* 271: 4699-4708. El sitio activo de la enzima u otra interacción biológica puede determinarse también por análisis físico de la estructura, como se determina por técnicas tales como la resonancia magnética nuclear, la cristalografía, la difracción de electrones o el marcaje por fotoafinidad, junto con la mutación de aminoácidos del sitio de contacto putativo. Véase, por ejemplo, de Vos et al., 1992, *Science* 255: 306-312; Smith et al., 1992, *J. Mol. Biol.* 224: 899-904; Wlodaver et al., 1992, *FEBS Lett.* 309: 59-64. La identidad de aminoácidos esenciales también se puede inferir a partir de un alineamiento con un polipéptido relacionado.

[0203] Las sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácidos únicas o múltiples pueden realizarse y evaluarse usando métodos conocidos de mutagénesis, recombinación y/o combinación aleatoria, seguidos de un procedimiento de cribado pertinente, tales como los descritos por Reidhaar-Olson y Sauer, 1988, *Science* 241: 53-57; Bowie y Sauer, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2152-2156; WO 95/17413; o WO 95/22625. Otros métodos que se pueden usar incluyen la PCR propensa a errores, la presentación en fagos (por ejemplo, Lowman et al., 1991, *Biochemistry* 30: 10832-10837; patente de EE.UU. N.º 5,223,409; WO 92/06204) y la mutagénesis dirigida a la región (Derbyshire et al., 1986, *Gene* 46: 145; Ner et al., 1988, *DNA* 7: 127).

[0204] Los métodos de mutagénesis/combinación aleatoria pueden estar combinados con métodos de cribado automatizados de alto rendimiento para detectar la actividad de polipéptidos mutagenizados clonados expresados por células huésped (Ness et al., 1999, *Nature Biotechnology* 17: 893-896). Moléculas de ADN mutagenizadas que codifican polipéptidos activos se pueden recuperar de las células huésped y secuenciar rápidamente usando métodos estándares en la técnica. Estos métodos permiten la determinación rápida de la importancia de los residuos de aminoácidos individuales de un polipéptido.

[0205] El polipéptido puede ser un polipéptido híbrido donde una región de un polipéptido se fusiona en el N-terminal o el C-terminal de una región de otro polipéptido.

[0206] El polipéptido puede ser un polipéptido de fusión o polipéptido de fusión escindible donde otro polipéptido se fusiona en el N-terminal o el C-terminal del polipéptido usado en la presente invención. Un polipéptido de fusión se produce por fusión de un polinucleótido que codifica otro polipéptido con un polinucleótido. Las técnicas para producir polipéptidos de fusión se conocen en la técnica, e incluyen ligar las secuencias codificantes que codifican los polipéptidos de modo que están en marco y que la expresión del polipéptido de fusión está bajo control de los mismos promotor(es) y terminador. Los polipéptidos de fusión también se pueden construir usando la tecnología de inteína donde se crean polipéptidos de fusión postraduccionalmente (Cooper et al., 1993, *EMBO J.* 12: 2575-2583; Dawson et al., 1994, *Science* 266: 776-779).

[0207] Un polipéptido de fusión puede comprender además un sitio de escisión entre los dos polipéptidos. Al segregarse la proteína de fusión, el sitio se escinde liberando los dos polipéptidos. Los ejemplos de sitios de escisión incluyen, pero de forma no limitativa, los sitios descritos en Martin et al., 2003, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 3: 568-576; Svetina et al., 2000, *J. Biotechnol.* 76: 245-251; Rasmussen-Wilson et al., 1997, *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3488-3493; Ward et al., 1995, *Biotechnology* 13: 498-503; y Contreras et al., 1991, *Biotechnology* 9: 378-381; Eaton

et al., 1986, *Biochemistry* 25: 505-512; Collins-Racie et al., 1995, *Biotechnology* 13: 982-987; Carter et al., 1989, *Proteins: Structure, Function, and Genetics* 6: 240-248; y Stevens, 2003, *Drug Discovery World* 4: 35-48.

5 [0208] La concentración de la DNasa está típicamente en el intervalo de 0,00004-100 ppm de proteína enzimática, tal como en el intervalo de 0,00008-100, en el intervalo de 0,0001-100, en el intervalo de 0,0002-100, en el intervalo de 0,0004-100, en el intervalo de 0,0008-100, en el intervalo de 0,001-100 ppm de proteína enzimática, 0,01-100 ppm de proteína enzimática, preferiblemente 0,05-50 ppm de proteína enzimática, más preferiblemente 0,1-50 ppm de proteína enzimática, más preferiblemente 0,1-30 ppm de proteína enzimática, más preferiblemente 0,5-20 ppm de proteína enzimática y, de la forma más preferible, 0,5-10 ppm de proteína enzimática.

10 [0209] La DNasa usada en la presente invención se puede añadir a una composición detergente en una cantidad que corresponde con al menos 0,002 mg de proteína DNasa, tal como al menos 0,004 mg de proteína DNasa, al menos 0,006 mg de proteína DNasa, al menos 0,008 mg de proteína DNasa, al menos 0,01 mg de proteína DNasa, al menos 0,1 mg de proteína, preferiblemente al menos 1 mg de proteína, más preferiblemente al menos 10 mg de proteína, aún más preferiblemente al menos 15 mg de proteína, de la forma más preferible al menos 20 mg de proteína e incluso de la forma más preferible al menos 25 mg de proteína. Así, la composición detergente puede comprender al menos 0,00008% de proteína DNasa, preferiblemente al menos 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%, 0,008%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9% o 1,0% de proteína DNasa.

20 [0210] La DNasa de la composición detergente de la invención se puede estabilizar utilizando agentes estabilizantes convencionales, por ejemplo un poliol tal como propilenglicol o glicerol, un azúcar o alcohol de azúcar, ácido láctico, ácido bórico, o un derivado de ácido bórico, por ejemplo un éster de borato aromático, o un derivado de ácido fenilborónico tal como ácido 4-formilfenilborónico, y la composición se puede formular como se describe en, por ejemplo, WO92/19709 y WO92/19708.

[0211] Un polipéptido usado en la presente invención también se puede incorporar en las formulaciones detergentes descritas en WO97/07202.

25 **Composiciones detergentes**

[0212] En una forma de realización, la invención se dirige a composiciones detergentes tal y como se define en la reivindicación 5. La elección de componentes adicionales entra en la habilidad del experto e incluye ingredientes convencionales, incluyendo los componentes no limitativos ejemplares expuestos a continuación.

Agentes de cuidado de metales

30 [0213] Los agentes de cuidado de metales pueden prevenir o reducir el deslustre, la corrosión o la oxidación de metales, incluyendo aluminio, acero inoxidable y metales no ferrosos, tales como plata y cobre. Los ejemplos adecuados incluyen uno o más de los siguientes:

35 (a) benzotriazoles, incluyendo benzotriazol o bisbenzotriazol y derivados sustituidos de los mismos. Los derivados de benzotriazol son aquellos compuestos donde los sitios de sustitución disponibles en el anillo aromático se sustituyen parcial o completamente. Los sustituyentes adecuados incluyen grupos alquilo C1-C20 lineales o de cadena ramificada e hidroxilo, tio, fenilo o halógenos tales como flúor, cloro, bromo y yodo;

40 (b) sales metálicas y complejos elegidos del grupo constituido por sales y/o complejos de zinc, manganeso, titanio, zirconio, hafnio, vanadio, cobalto, galio y cerio, estando los metales en en uno de los estados de oxidación II, III, IV, V o VI. En un aspecto, sales metálicas y/o complejos metálicos adecuados se pueden elegir del grupo constituido por sulfato de Mn(II), citrato de Mn(II), estearato de Mn(II), acetilacetato de Mn(II), KTiF₆, KZrF₆, CoSO₄, Co(NO₂)₂ y Ce(NO₃)₃, sales de zinc, por ejemplo sulfato de zinc, hidrocincita, acetato de zinc o carbonato de zinc;

(c) silicatos, incluyendo silicato de sodio o de potasio, disilicato de sodio, metasilicato de sodio, filosilicato cristalino y las mezclas de los mismos.

45 [0214] Otras sustancias con actividad redox orgánicas e inorgánicas adecuadas que actúan como inhibidores de la corrosión de plata/cobre se describen en WO 94/26860 y WO 94/26859.

[0215] Preferiblemente, la composición de la invención comprende de 0,1 a 5% en peso de la composición de un agente de cuidado de metales, preferiblemente el agente de cuidado de metales es una sal de zinc.

Surfactantes

[0216] La composición lavavajillas puede incluir al menos un surfactante no iónico. Los surfactantes no iónicos adecuados incluyen, pero de forma no limitativa, surfactantes no iónicos de baja formación de espuma (LFNI). Un surfactante LFNI se usa más típicamente en una composición de lavavajillas automático debido a la acción mejorada de revestimiento de agua (especialmente de la cristalería) que confieren a la composición de lavavajillas automático. También pueden abarcar materiales poliméricos sin silicona, con fosfato o sin fosfato que se conocen por despumar suciedad de alimentos encontrada en el lavavajillas automático. El surfactante LFNI puede tener un punto de enturbiamiento relativamente bajo y un alto equilibrio hidrofílico-lipofílico (HLB). Los puntos de enturbiamiento de soluciones al 1% en agua son típicamente inferiores a aproximadamente 32°C y alternativamente inferiores a, por ejemplo, 0°C, para el control óptimo de la formación de espuma a lo largo de un intervalo completo de temperaturas del agua. Si se desea, se puede utilizar un surfactante LFNI biodegradable con las propiedades anteriores. Un surfactante LFNI puede incluir, pero no está limitado a: surfactantes alcoxilados, especialmente etoxilatos derivados de alcoholes primarios, y las mezclas de los mismos con surfactantes más sofisticados, tales como los polímeros en bloque inverso de polioxipropileno/polioxietileno/polioxipropileno. Los compuestos poliméricos de bloque de polioxietileno-polioxipropileno adecuados que cumplen con los requisitos pueden incluir aquellos a base de etilenglicol, propilenglicol, glicerol, trimetilolpropano y etilendiamina, y las mezclas de los mismos. Los compuestos poliméricos preparados a partir de una etoxilación y propoxilación secuenciales de compuestos iniciadores con un único átomo de hidrógeno reactivo, tales como alcoholes alifáticos C 12, generalmente no proporcionan un control de espuma satisfactorio en las composiciones de lavavajillas automático. Sin embargo, algunos de los compuestos surfactantes de polímeros de bloque designados como PLURONIC(R) y TETRONIC(R) por BASF-Wiandotte Corp., Wyandotte, Mich., son adecuados en las composiciones de lavavajillas automático.

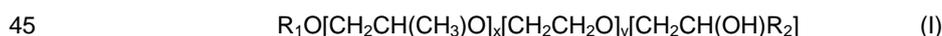
[0217] El surfactante LFNI puede incluir opcionalmente un óxido de propileno en una cantidad de hasta aproximadamente el 15% en peso. Otros surfactantes LFNI se pueden preparar por los procesos descritos en la patente de EE.UU. N.º 4,223,163. El surfactante LFNI también se puede derivar a partir de un alcohol graso de cadena lineal que contiene de aproximadamente 16 a aproximadamente 20 átomos de carbono (alcohol C16-C20), alternativamente un alcohol C18, condensado con un promedio de aproximadamente 6 a aproximadamente 15 moles, o de aproximadamente 7 a aproximadamente 12 moles y, alternativamente, de aproximadamente 7 a aproximadamente 9 moles de óxido de etileno por mol de alcohol. El surfactante no iónico etoxilado así derivado puede tener una distribución etoxilada estrecha relativa al promedio.

[0218] En formas de realización determinadas, un surfactante LFNI con un punto de enturbiamiento inferior a 30°C puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 60%, o de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10% en peso y, alternativamente, de aproximadamente 1% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

[0219] En formas de realización preferidas, el surfactante es un surfactante no iónico o un sistema surfactante no iónico con una temperatura de inversión de fase, tal como se mide a una concentración del 1% en agua destilada, entre 40 y 70°C, preferiblemente entre 45 y 65°C. Por "sistema surfactante no iónico" se entiende en la presente una mezcla de dos o más surfactantes no iónicos. Se prefieren para uso en la presente los sistemas surfactantes no iónicos.

[0220] Los surfactantes no iónicos adecuados incluyen: i) surfactantes no iónicos etoxilados preparados por la reacción de un monohidroxialcanol o alquilfenol con 6 a 20 átomos de carbono con preferiblemente al menos 12 moles, particularmente preferido al menos 16 moles, y todavía más preferido al menos 20 moles de óxido de etileno por mol de alcohol o alquilfenol; ii) surfactantes alcohol alcoxilados que tienen de 6 a 20 átomos de carbono y al menos un grupo etoxi y propoxi. Se prefieren para uso en la presente las mezclas de surfactantes i) e ii).

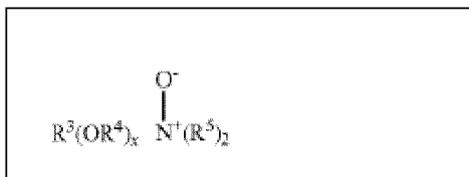
[0221] Otros surfactantes no iónicos adecuados son los alcoholes poli(oxialquilados) rematados con epoxi representados por la fórmula:



donde R_1 es un radical de hidrocarburo alifático lineal o ramificado que tiene de 4 a 18 átomos de carbono; R_2 es un radical de hidrocarburo alifático lineal o ramificado que tiene de 2 a 26 átomos de carbono; x es un número entero con un valor medio de 0,5 a 1,5, más preferiblemente aproximadamente 1; e y y es un número entero con un valor de al menos 15, más preferiblemente al menos 20.

[0222] Preferiblemente, el surfactante de fórmula I tiene al menos aproximadamente 10 átomos de carbono en la unidad epóxido terminal $[CH_2CH(OH)R_2]$. Los surfactantes adecuados de fórmula I son los surfactantes no iónicos POLY-TERGENT(R) SLF- 18B de Olin Corporation, como se describe, por ejemplo, en WO 94/22800, publicado el 13 de octubre de 1994 por Olin Corporation.

[0223] Los surfactantes y/o sistemas preferiblemente no iónicos en la presente tienen un tiempo de humectación de Draves de menos de 360 segundos, preferiblemente menos de 200 segundos, más preferiblemente menos de 100 segundos y especialmente menos de 60 segundos, tal como se mide por el método de humectación de Draves (método estándar ISO 8022 utilizando las condiciones siguientes; 3-g de gancho, 5-g de madeja de algodón, solución acuosa al 0,1% en peso a una temperatura de 25 °C). Los surfactantes de óxidos de amina son útiles también en la presente invención ya que los surfactantes de antirredeposición incluyen compuestos lineales y ramificados con la fórmula:



donde R^3 se selecciona de un grupo alquilo, hidroxialquilo, acilamidopropilo y alquilfenilo, o mezclas de los mismos, que contiene de 8 a 26 átomos de carbono, preferiblemente de 8 a 18 átomos de carbono; R^4 es un grupo alquileo o hidroxialquileo que contiene de 2 a 3 átomos de carbono, preferiblemente 2 átomos de carbono, o mezclas de los mismos; x es de 0 a 5, preferiblemente de 0 a 3; y cada R^5 es un grupo alquilo o hidroxialquilo que contiene de 1 a 3, preferiblemente de 1 a 2 átomos de carbono, o un grupo de óxido de polietileno que contiene de 1 a 3, preferiblemente 1, grupos de óxido de etileno. Los grupos R^5 se pueden unir unos a otros, por ejemplo, a través de un átomo de oxígeno o de nitrógeno, para formar una estructura anular. Estos surfactantes de óxido de amina incluyen en particular óxidos de dimetilalquilamina C10-C18 y óxidos de alcóxietildihidroxiethylamina C8-C18. Los ejemplos de tales materiales incluyen óxido de dimetiloctilamina, óxido de dietildecilamina, óxido de bis-(2-hidroxiethyl)dodecilamina, óxido de dimetildodecilamina, óxido de dipropiltetradecilamina, óxido de metiletilhexadecilamina, óxido de dodecilamidopropil dimetilamina, óxido de cetil dimetilamina, óxido de estearil dimetilamina, óxido de dimetilamina de sebo y óxido de dimetil-2-hidroxiocetadecilamina. Se prefieren el óxido de alquildimetilamina C10-C18 y el óxido de acilamido alquil dimetilamina C10-C18.

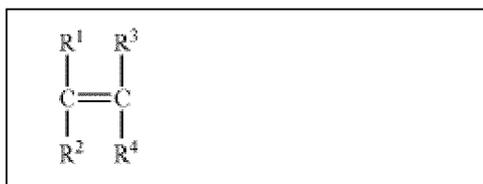
[0224] Los surfactantes y, especialmente, los surfactantes no iónicos pueden estar presentes en cantidades de 0 a 10% en peso, preferiblemente de 0,1% a 10%, y de la forma más preferible de 0,25% a 6%.

Polímero sulfonado

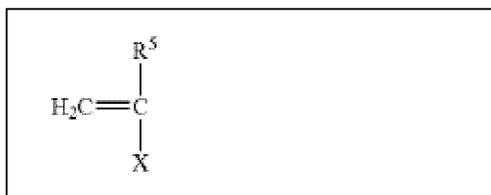
[0225] El polímero, en caso de ser usado, se usa en cualquier cantidad adecuada de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 20%, preferiblemente de 1% a aproximadamente 15%, más preferiblemente de 2% a 10% en peso de la composición. Los polímeros sulfonados/carboxilados son especialmente adecuados para las composiciones contenidas en la bolsa de la invención.

[0226] Los polímeros sulfonados/carboxilados adecuados descritos en la presente pueden tener un peso molecular promedio en peso inferior o igual a aproximadamente 100.000 Da, o menor o igual a aproximadamente 75.000 Da, o menor o igual a aproximadamente 50.000 Da, o de aproximadamente 3.000 Da a aproximadamente 50.000, preferiblemente de aproximadamente 5.000 Da a aproximadamente 45.000 Da.

[0227] Como se indica en la presente, los polímeros sulfonados/carboxilados pueden comprender (a) al menos una unidad estructural derivada de al menos un monómero de ácido carboxílico que tiene la fórmula general (I):



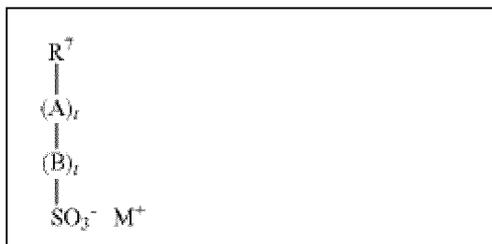
donde R^1 a R^4 son, independientemente, hidrógeno, metilo, grupo de ácido carboxílico o CH_2COOH y donde los grupos de ácido carboxílico pueden neutralizarse; (b) opcionalmente, una o más unidades estructurales derivadas de al menos un monómero no iónico que tiene la fórmula general (II):



donde R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁ a C₆, o hidroxialquilo C₁ a C₆, y o X es aromático (siendo R⁵ hidrógeno o metilo cuando X es aromático) o X es de la fórmula general (III):



- 5 donde R⁶ es (independientemente de R⁵) hidrógeno, alquilo C₁ a C₆ o hidroxialquilo C₁ a C₆, e Y es O o N; y al menos una unidad estructural derivada de al menos un monómero de ácido sulfónico con la fórmula general (IV):



- 10 donde R⁷ es un grupo que comprende al menos un enlace sp², A es O, N, P, S o un enlace amido o éster, B es un grupo aromático mono- o policíclico o un grupo alifático, cada t es independientemente 0 o 1, y M⁺ es un catión. En un aspecto, R⁷ es un alqueno C₂ a C₆. En otro aspecto, R⁷ es eteno, buteno o propeno.

[0228] Los monómeros de ácido carboxílico preferidos incluyen uno o más de los siguientes: ácido acrílico, ácido maleico, ácido itacónico, ácido metacrílico, o ésteres etoxilatos de ácidos acrílicos, siendo más preferidos los ácidos acrílico y metacrílico. Los monómeros sulfonados preferidos incluyen uno o más de los siguientes: (met) alil sulfonato de sodio, sulfonato de vinilo, fenil (met) alil éter sulfonato de sodio, o ácido 2-acrilamido-metil propano sulfónico. Los monómeros no iónicos preferidos incluyen uno o más de los siguientes: metil (met) acrilato, etil (met) acrilato, t-butil (met) acrilato, metil (met) acrilamida, etil (met) acrilamida, t-butil (met) acrilamida, estireno, o [alfa]-metil estireno. Preferiblemente, el polímero comprende los siguientes niveles de monómeros: de aproximadamente el 40 a aproximadamente el 90%, preferiblemente de aproximadamente el 60 a aproximadamente el 90% en peso del polímero de uno o más monómeros de ácido carboxílico; de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 50%, preferiblemente de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 40% en peso del polímero de uno o más monómeros de ácido sulfónico; y opcionalmente de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 30%, preferiblemente de aproximadamente el 2 a aproximadamente el 20% en peso del polímero de uno o más monómeros no iónicos. Un polímero preferido especialmente comprende aproximadamente del 70% a aproximadamente el 80% en peso del polímero de al menos un monómero de ácido carboxílico y de aproximadamente el 20% a aproximadamente el 30% en peso del polímero de al menos un monómero de ácido sulfónico. 99

[0229] El ácido carboxílico es preferiblemente ácido (met)acrílico. El monómero de ácido sulfónico es preferiblemente uno de los siguientes: ácido 2-acrilamido metil-1-propanosulfónico, ácido 2-metacrilamido-2-metil-1-propanosulfónico, ácido 3-metacrilamido-2-hidroxipropanosulfónico, ácido alilsulfónico, ácido metalilsulfónico, ácido aliloxibencenosulfónico, ácido metaliloxibencenosulfónico, ácido 2-hidroxi-3-(2-propeniloxi)propanosulfónico, ácido 2-metil-2-propeno-1-sulfónico, ácido estireno sulfónico, ácido vinilsulfónico, acrilato de 3-sulfopropilo, metacrilato de 3-sulfopropilo, sulfometilacrilamida, sulfometilmetacrilamida, y sales hidrosolubles de los mismos. El monómero de ácido sulfónico insaturado es más preferiblemente ácido 2-acrilamido-2-propanosulfónico (AMPS).

[0230] Los polímeros disponibles comerciales preferidos incluyen: Alcosperse 240, Aquatreat AR 540 y Aquatreat MPS suministrados por Alco Chemical; Acumer 3100, Acumer 2000, Acusol 587G y Acusol 588G, suministrados por Rohm & Haas; Goodrich K-798, K-775 y K-797, suministrados por BF Goodrich; y ACP 1042, suministrado por SP technologies Inc. Los polímeros preferidos en particular son Acusol 587G y Acusol 588G, suministrados por Rohm & Haas.

[0231] En los polímeros, todos o algunos de los grupos de ácido carboxílico o sulfónico pueden estar presentes en la forma neutralizada, es decir, el átomo de hidrógeno ácido del grupo ácido carboxílico y/o sulfónico de algunos o todos los grupos ácidos pueden sustituirse con iones metálicos, preferiblemente iones de metal alcalino y, en particular, con iones de sodio.

10 Hidrótropos

[0232] Un hidrótropro es un compuesto que solubiliza compuestos hidrofóbicos en soluciones acuosas (o por el contrario, sustancias polares en un ambiente no polar). Típicamente, los hidrótropos tienen un carácter tanto hidrofílico como hidrofóbico (las denominadas propiedades anfífilas, como se conoce de los surfactantes); sin embargo, la estructura molecular de los hidrótropos generalmente no favorece la autoagregación espontánea, véase, por ejemplo, la revisión por Hodgdon y Kaler (2007), Current Opinion in Colloid & Interface Science 12: 121-128. Los hidrótropos no muestran una concentración crítica por encima de la cual ocurre la autoagregación como la que se encuentra para los surfactantes y los lípidos que forman fases micelares, lamelares u otras mesofases bien definidas. En cambio, muchos hidrótropos muestran un proceso de agregación de tipo continuo donde los tamaños de los agregados crecen a medida que la concentración aumenta. Sin embargo, muchos hidrótropos alteran el comportamiento de fase, la estabilidad, y las propiedades coloidales de sistemas que contienen sustancias de carácter polar y no polar, incluyendo mezclas de agua, aceite, surfactantes y polímeros. Los hidrótropos se usan clásicamente a través de las industrias, desde farmacéuticas, de cuidado personal, alimentarias, hasta de aplicaciones técnicas. El uso de hidrótropos en composiciones detergentes permite, por ejemplo, formulaciones más concentradas de surfactantes (como en el proceso de compactación de detergentes líquidos por eliminación de agua) sin inducir fenómenos no deseados tales como la separación de fases o una viscosidad alta.

[0233] El detergente puede contener 0-10% en peso, por ejemplo, 0-5% en peso, tal como de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 5%, o de aproximadamente el 3% a aproximadamente el 5%, de un hidrótropro. Puede utilizarse cualquier hidrótropro conocido en la técnica para uso en detergentes. Los ejemplos no limitativos de hidrótropos incluyen bencenosulfonato de sodio, p-tolueno sulfonato de sodio (STS), xileno sulfonato de sodio (SXS), cumeno sulfonato de sodio (SCS), cimeno sulfonato de sodio, óxidos de amina, alcoholes y poliglicoléteres, hidroxinaftoato de sodio, sulfonato de hidroxinaftaleno de sodio, sulfato de etilhexilo de sodio, y combinaciones de los mismos.

Adyuvantes y coadyuvantes

[0234] La composición detergente puede contener aproximadamente 0-65% en peso, tal como de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 50% de un adyuvante o coadyuvante de detergente, o una mezcla de los mismos. El adyuvante y/o coadyuvante puede ser en particular un agente quelante que forme complejos hidrosolubles con Ca y Mg. Puede utilizarse cualquier adyuvante y/o coadyuvante conocido en la técnica para uso en detergentes. Los ejemplos no limitativos de adyuvantes incluyen zeolitas, difosfatos (pifosfatos), trifosfatos tales como el trifosfato de sodio (STP o STPP), carbonatos tales como el carbonato de sodio, silicatos solubles tales como el metasilicato de sodio, silicatos estratificados (por ejemplo, SKS-6 de Hoechst), etanolaminas tales como 2-aminoetan-1-ol (MEA), dietanolamina (DEA, conocida también como 2,2'-iminodietan-1-ol), trietanolamina (TEA, conocida también como 2,2',2''-nitrilotrietan-1-ol), y carboximetil inulina (CMI), y combinaciones de los mismos.

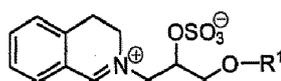
[0235] La composición detergente también puede contener 0-50% en peso, tal como de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 30%, de un coadyuvante de detergente. La composición detergente puede incluir un coadyuvante solo o en combinación con un adyuvante, por ejemplo, un adyuvante de zeolita. Los ejemplos no limitativos de coadyuvantes incluyen homopolímeros de poliacrílatos o copolímeros de los mismos, tales como el ácido poli(acrílico) (PAA) o el copoli(ácido acrílico/ácido maleico) (PAA/PMA). Otros ejemplos no limitativos incluyen citrato, queladores tales como aminocarboxilatos, aminopolicarboxilatos y fosfonatos, y ácido alquil- o alqueniilsuccínico. Los ejemplos específicos adicionales incluyen ácido 2,2',2''-nitrilotriacético (NTA), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA), ácido iminodisuccínico (IDS), ácido etilendiamina-N,N'-disuccínico (EDDS), ácido metilglicinadiacético (MGDA), ácido glutámico-N,N-ácido diacético (GLDA), ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico (HEDP), ácido etilendiaminotetra(metilenfosfónico) (EDTMPA), ácido dietilentriaminopentaquis(metilenfosfónico) (DTMPA o DTPMPA), ácido N-(2-hidroxietil)iminodiacético (EDG), ácido aspártico-N-ácido monoacético (ASMA), ácido aspártico-N,N-ácido diacético (ASDA), ácido aspártico-N-ácido monopropiónico (ASMP), ácido iminodisuccínico (IDA), ácido N-(2-sulfometil)-aspártico (SMAS), ácido N-(2-sulfoetil)-aspártico (SEAS), ácido N-(2-sulfometil)-glutámico (SMGL), ácido N-(2-sulfoetil)-glutámico (SEGL), ácido N-

metiliminodiacético (MIDA), ácido α -alanina-N,N-diacético (α -ALDA), ácido serina-N,N-diacético (SEDA), ácido isoserina-N,N-diacético (ISDA), ácido fenilalanina-N,N-diacético (PHDA), ácido antranílico-N,N-ácido diacético (ANDA), ácido sulfanílico-N,N-ácido diacético (SLDA), ácido taurina-N,N-diacético (TUDA) y ácido sulfometil-N,N-diacético (SMDA), ácido N-(2-hidroxietil)etilendiamino-N,N,N"-triacético (HEDTA), dietanoglicina (DEG), ácido dietilentriamina penta(metilenfosfónico) (DTPMP), ácido aminotris(metilenfosfónico) (ATMP), y combinaciones y sales de los mismos. Adyuvantes ejemplares adicionales y/o coadyuvantes se describen en, por ejemplo, WO 09/102854, US 5977053.

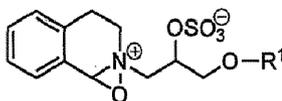
Sistemas blanqueantes

[0236] El detergente puede contener 0-30% en peso, tal como de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 20%, de un sistema blanqueante. Se puede utilizar cualquier sistema blanqueante conocido en la técnica para uso en detergentes. Los componentes del sistema blanqueante adecuados incluyen catalizadores de blanqueo, fotoblanqueadores, activadores de blanqueo, fuentes de peróxido de hidrógeno tales como percarbonato de sodio, perboratos de sodio y peróxido de hidrógeno-urea (1:1), perácidos preformados y mezclas de los mismos. Perácidos preformados adecuados incluyen, pero de forma no limitativa, ácidos y sales peroxicarboxílicos, ácidos diperoxidicarboxílicos, ácidos y sales perimidicos, ácidos y sales peroximonosulfúricos, por ejemplo, Oxone (R), y mezclas de los mismos. Los ejemplos no limitativos de sistemas blanqueantes incluyen sistemas blanqueantes a base de peróxido, que pueden comprender, por ejemplo, una sal inorgánica, incluyendo sales de metal alcalino tales como sales de perborato de sodio (normalmente, mono- o tetrahidratadas), percarbonato, persulfato, perfosfato, sales de persulfato, en combinación con un activador de blanqueo formador de perácido. El término activador de blanqueo se entiende en la presente como un compuesto que reacciona con peróxido de hidrógeno para formar un perácido mediante perhidrólisis. El perácido así formado constituye el blanqueador activado. Los activadores de blanqueo adecuados para usarse en la presente incluyen aquellos que pertenecen a la clase de ésteres, amidas, imidas o anhídridos. Ejemplos adecuados son tetraacetiletlenodiamina (TAED), 4-[(3,5,5-trimetilhexanoil)oxi]benceno-1-sulfonato de sodio (ISONOBS), 4-(dodecanoiloxi)benceno-1-sulfonato (LOBS), 4-(decanoiloxi)benceno-1-sulfonato, 4-(decanoiloxi)benzoato (DOBS o DOBA), 4-(nonanoiloxi)benceno-1-sulfonato (NOBS), y/o aquellos descritos en WO98/17767. Una familia particular de activadores de blanqueo de interés se describió en EP624154 y particularmente preferido en esa familia es el acetil trietil citrato (ATC). El ATC o un triglicérido de cadena corta como la triacetina tiene la ventaja de que es respetuoso con el medio ambiente. Además, el acetil trietil citrato y la triacetina tienen buena estabilidad en el producto durante el almacenamiento y son activadores de blanqueo eficaces. Finalmente, el ATC es multifuncional, ya que el citrato liberado en la reacción de perhidrólisis puede funcionar como un adyuvante. Alternativamente, el sistema blanqueante puede comprender peroxiácidos, por ejemplo, del tipo de la amida, imida o sulfona. El sistema blanqueante también puede comprender perácidos tal como el ácido 6-(ftalimido)peroxihexanoico (PAP). El sistema blanqueante también puede incluir un catalizador de blanqueo. En algunas formas de realización, el componente blanqueador puede ser un catalizador orgánico seleccionado del grupo constituido por catalizadores orgánicos con las fórmulas siguientes:

(i)



(ii)



(iii) y mezclas de las mismas;

donde cada R^1 es independientemente un grupo alquilo ramificado que contiene de 9 a 24 carbonos o un grupo alquilo lineal que contiene de 11 a 24 carbonos, preferiblemente cada R^1 es, independientemente, un grupo alquilo ramificado que contiene de 9 a 18 carbonos o un grupo alquilo lineal que contiene de 11 a 18 carbonos, más preferiblemente, cada R^1 es independientemente seleccionado del grupo constituido por 2-propilheptilo, 2-butiloctilo, 2-pentilnonilo, 2-hexildecilo, dodecilo, tetradecilo, hexadecilo, octadecilo, isononilo, isodecilo, isotridecilo e isopentadecilo. Otros sistemas blanqueantes ejemplares se describen, por ejemplo, en WO2007/087258, WO2007/087244, WO2007/087259, EP1867708 (Vitamina K) y WO2007/087242. Los fotoblanqueadores adecuados pueden ser, por ejemplo, ftalocianinas de zinc o de aluminio sulfonatadas.

[0237] Preferiblemente, el componente blanqueador comprende una fuente de perácido además de un catalizador de blanqueo, particularmente, un catalizador de blanqueo orgánico. La fuente de perácido se puede seleccionar de (a) perácido preformado; (b) sal de percarbonato, perborato o persulfato (fuente de peróxido de hidrógeno) preferiblemente en combinación con un activador de blanqueo; y (c) enzima perhidrolasa y un éster para formar perácido *in situ* en presencia de agua en una etapa de tratamiento textil.

Agentes de cuidado de metales

[0238] Los agentes de cuidado de metales pueden prevenir o reducir el deslustre, la corrosión o la oxidación de metales, incluyendo aluminio, acero inoxidable y metales no ferrosos, tales como plata y cobre. Los ejemplos adecuados incluyen uno o más de los siguientes:

- 10 (a) benzotriazoles, incluyendo benzotriazol o bisbenzotriazol y derivados sustituidos de los mismos. Los derivados de benzotriazol son aquellos compuestos donde los sitios de sustitución disponibles en el anillo aromático se sustituyen parcial o completamente. Los sustituyentes adecuados incluyen grupos alquilo C1-C20 lineales o de cadena ramificada e hidroxilo, tio, fenilo o halógenos tales como flúor, cloro, bromo y yodo;
- 15 (b) sales metálicas y complejos elegidos del grupo constituido por sales y/o complejos de zinc, manganeso, titanio, zirconio, hafnio, vanadio, cobalto, galio y cerio, estando los metales en en uno de los estados de oxidación II, III, IV, V o VI. En un aspecto, sales metálicas y/o complejos metálicos adecuados se pueden elegir del grupo constituido por sulfato de Mn(II), citrato de Mn(II), estearato de Mn(II), acetilacetato de Mn(II), KTiF₆, KZrF₆, CoSO₄, Co(NO₃)₂ y Ce(NO₃)₃, sales de zinc, por ejemplo sulfato de zinc, hidrocincita, acetato de zinc o carbonato de zinc;
- 20 (c) silicatos, incluyendo silicato de sodio o de potasio, disilicato de sodio, metasilicato de sodio, filosilicato cristalino y las mezclas de los mismos.

[0239] Otras sustancias con actividad redox orgánicas e inorgánicas adecuadas que actúan como inhibidores de la corrosión de plata/cobre se describen en WO 94/26860 y WO 94/26859.

- 25 [0240] Preferiblemente, la composición de la invención comprende del 0,1 al 5% en peso de la composición de un agente de cuidado de metales, preferiblemente el agente de cuidado de metales es una sal de zinc.

Polímeros

- [0241] El detergente puede contener 0-10% en peso, tal como 0,5-5%, 2-5%, 0,5-2% o 0,2-1% de un polímero. Puede utilizarse cualquier polímero conocido en la técnica para uso en detergentes. El polímero puede funcionar como un coadyuvante como se ha mencionado anteriormente, o puede proporcionar propiedades antirredeposición, protección de fibra, liberación de suciedad, inhibición de transferencia de tinte, limpieza de grasa y/o antiespumantes. Algunos polímeros pueden tener más de una de las propiedades anteriormente mencionadas y/o más de uno de los motivos mencionados más adelante. Los polímeros ejemplares incluyen (carboximetil)celulosa (CMC), alcohol polivinílico (PVA); poli(vinilpirrolidona) (PVP), poli(etilenglicol) o poli(óxido de etileno) (PEG), poli(etilenimina) etoxilada, carboximetil inulina (CMI), y policarboxilatos tales como PAA, ácido PAA/PMA, ácido poliaspártico y copolímeros de lauril metacrilato/ácido acrílico, CMC (HM-CMC) y siliconas modificados hidrofóbicamente, copolímeros de ácido tereftálico y glicoles oligoméricos, copolímeros de poli(etilentereftalato) y poli(oxietentereftalato) (PET-POET), PVP, poli(vinilimidazol) (PVI), poli(vinilpiridina-N-óxido) (PVPO o PVPNO) y polivinilpirrolidona-vinilimidazol (PVPVI). Otros polímeros ejemplares incluyen policarboxilatos sulfonatados, óxido de polietileno y óxido de polipropileno (PEO-PPO) y diquaturnium etoxi sulfato. Otros polímeros ejemplares se describen en, por ejemplo, WO 2006/130575. Se contemplan también las sales de los polímeros anteriormente mencionados.

Agentes de matizado de tejidos

- [0242] Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir agentes de matizado de tejidos tales como tintes o pigmentos, que cuando se formulan en composiciones detergentes pueden depositarse sobre un tejido cuando dicho tejido se pone en contacto con una solución de lavado que comprende dichas composiciones detergentes y alterando así el tinte de dicho tejido a través de la absorción/reflexión de luz visible. Los agentes blanqueadores fluorescentes emiten al menos alguna luz visible. En cambio, los agentes de matizado de tejidos alteran el tinte de una superficie, ya que absorben al menos una porción del espectro de luz visible. Los agentes de matizado de tejidos adecuados incluyen tintes y conjugados de tinte-arcilla, y también pueden incluir pigmentos. Los tintes adecuados incluyen tintes de molécula pequeña y tintes poliméricos. Los tintes de molécula pequeña adecuados incluyen tintes de molécula pequeña seleccionados del grupo constituido por tintes que entran en las clasificaciones del Índice de Color (C.I.) de Direct Blue, Direct Red, Direct Violet, Acid Blue, Acid Red, Acid Violet, Basic Blue, Basic Violet y Basic Red, o mezclas de los mismos, por ejemplo, como se describe en WO2005/03274, WO2005/03275, WO2005/03276 y EP1876226. La composición detergente preferiblemente

comprende de aproximadamente el 0,00003 % en peso a aproximadamente el 0,2 % en peso, de aproximadamente el 0,00008 % en peso a aproximadamente el 0,05 % en peso, o incluso de aproximadamente el 0,0001 % en peso a aproximadamente el 0,04 % en peso de agente de matizado de tejidos. La composición puede comprender del 0,0001 % en peso al 0,2 % en peso de agente de matizado de tejidos, esto se puede preferir especialmente cuando la composición está en forma de una bolsa de dosis unitaria. Los agentes de matizado adecuados se describen también en, por ejemplo, WO 2007/087257 y WO2007/087243.

Enzimas

[0243] El aditivo de detergente, al igual que la composición detergente, puede comprender una o más enzimas adicionales tales como una proteasa, lipasa, cutinasa, una amilasa, carbohidrasa, celulasa, pectinasa, mananasa, arabinasa, galactanasa, xilanas, oxidasa, por ejemplo, una lacasa, y/o peroxidasa.

[0244] En general las propiedades de la(s) enzima(s) seleccionada(s) debería(n) ser compatible(s) con el detergente seleccionado, (es decir, pH óptimo, compatibilidad con otros constituyentes enzimáticos y no enzimáticos, etc.), y la(s) enzima(s) debería(n) estar presente(s) en cantidades eficaces.

Celulasas

[0245] Las celulasas adecuadas incluyen aquellas de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes modificados químicamente o generados mediante ingeniería de proteínas. Las celulasas adecuadas incluyen celulasas de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Humicola*, *Fusarium*, *Thielavia*, *Acremonium*, por ejemplo, las celulasas fúngicas producidas de *Humicola insolens*, *Myceliophthora thermophila* y *Fusarium oxysporum* descritas en US 4,435,307, US 5,648,263, US 5,691,178, US 5,776,757 y WO 89/09259.

[0246] Celulasas especialmente adecuadas son las celulasas alcalinas o neutras que tienen beneficios para el cuidado del color. Ejemplos de tales celulasas son las celulasas descritas en EP 0 495 257, EP 0 531 372, WO 96/11262, WO 96/29397, WO 98/08940. Otros ejemplos son las variantes de celulasa tales como las descritas en WO 94/07998, EP 0 531 315, US 5,457,046, US 5,686,593, US 5,763,254, WO 95/24471, WO 98/12307 y WO99/001544.

[0247] Otras celulasas son la enzima endo-beta-1,4-glucanasa con una secuencia de al menos el 97% de identidad con la secuencia de aminoácidos de la posición 1 a la posición 773 de la SEQ ID N.º:2 de WO 2002/099091 o una xiloglucanasa de la familia 44, una enzima xiloglucanasa que tiene una secuencia de al menos el 60% de identidad con las posiciones 40-559 de la SEQ ID N.º: 2 de WO 2001/062903.

[0248] Las celulasas disponibles comercialmente incluyen Celluzyme™, y Carezyme™ (Novozymes A/S) Carezyme Premium™ (Novozymes A/S), Celluclean™ (Novozymes A/S), Celluclean Classic™ (Novozymes A/S), Cellusoft™ (Novozymes A/S), Whitezyme™ (Novozymes A/S), Clazinase™, y Puradax HA™ (Genencor International Inc.), y KAC-500(B)™ (Kao Corporation).

35 Proteasas

[0249] Las proteasas adecuadas incluyen aquellas de origen bacteriano, fúngico, de planta, vírico o animal, por ejemplo, de origen vegetal o microbiano. Se prefiere el origen microbiano. Se incluyen los mutantes químicamente modificados o generados mediante ingeniería de proteínas. Puede ser una proteasa alcalina, tal como una serina proteasa o una metaloproteasa. Una serina proteasa puede, por ejemplo, ser de la familia S1, tal como la tripsina, o la familia S8, tal como la subtilisina. Una proteasa de metaloproteasas puede ser, por ejemplo, una termolisina de, por ejemplo, la familia M4 u otra metaloproteasa, tal como las de las familias M5, M7 o M8.

[0250] El término "subtilasas" se refiere a un subgrupo de serina proteasa según Siezen et al., Protein Engng. 4 (1991) 719-737 y Siezen et al. Protein Science 6 (1997) 501-523. Las serina proteasas son un subgrupo de proteasas caracterizadas por el hecho de que tienen una serina en el sitio activo, que forma un aducto covalente con el sustrato. Las subtilasas se pueden dividir en 6 subdivisiones, es decir, la familia de la subtilisina, la familia de la termitasa, la familia de la proteinasa K, la familia de la peptidasa de lantibiótica, la familia de la Kexina y la familia de la pirolisina.

[0251] Ejemplos de subtilasas son aquellas obtenidas de *Bacillus* tales como *Bacillus lentus*, *B. alkalophilus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus* y *Bacillus gibsonii* descritas en; US7262042 y WO09/021867, y *subtilisina lentus*, *subtilisina Novo*, *subtilisina Carlsberg*, *Bacillus licheniformis*, *subtilisina BPN'*, *subtilisina 309*, *subtilisina 147* y *subtilisina 168* descritas en WO89/06279 y la proteasa PD138 descrita en (WO93/18140). Otras proteasas útiles pueden ser aquellas descritas en WO92/175177, WO01/016285, WO02/026024 y WO02/016547. Ejemplos de proteasas de tipo tripsina son la tripsina (por ejemplo, de origen porcino o bovino) y la proteasa de *Fusarium* descrita en WO89/06270, WO94/25583 y WO05/040372, y las proteasas de quimotripsina obtenidas de *Cellulomonas* descritas en WO05/052161 y WO05/052146.

[0252] Una proteasa preferida adicional es la proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483, como se describe, por ejemplo, en WO95/23221, y las variantes de las mismas que se describen en WO92/21760, WO95/23221, EP1921147 y EP1921148.

[0253] Ejemplos de metaloproteasas son la metaloproteasa neutra como se describe en WO07/044993 (Genencor Int.), tales como las obtenidas de *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0254] Ejemplos de proteasas útiles son las variantes descritas en: WO92/19729, WO96/034946, WO98/20115, WO98/20116, WO99/011768, WO01/44452, WO03/006602, WO04/03186, WO04/041979, WO07/006305, WO11/036263, WO11/036264, especialmente las variantes con sustituciones en una o más de las siguientes posiciones: 3, 4, 9, 15, 27, 36, 57, 68, 76, 87, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 106, 118, 120, 123, 128, 129, 130, 160, 167, 170, 194, 195, 199, 205, 206, 217, 218, 222, 224, 232, 235, 236, 245, 248, 252 y 274 (utilizando la numeración BPN'). Con mayor preferencia, las variantes de subtilasa pueden comprender las mutaciones: S3T, V4I, S9R, A15T, K27R, *36D, V68A, N76D, N87S,R, *97E, A98S, S99G,D,A, S99AD, S101G,M,R S103A, V104I,Y,N, S106A, G118V,R, H120D,N, N123S, S128L, P129Q, S130A, G160D, Y167A, R170S, A194P, G195E, V199M, V205I, L217D, N218D, M222S, A232V, K235L, Q236H, Q245R, N252K, T274A (usando la numeración BPN').

[0255] Las enzimas proteasas adecuadas disponibles comercialmente incluyen aquellas vendidas con los nombres comerciales Alcalase®, Duralase™, Durazym™, Relase®, Relase® Ultra, Savinase®, Savinase® Ultra, Primase®, Polarzyme®, Kannase®, Liquanase®, Liquanase® Ultra, Ovozyme®, Coronase®, Coronase® Ultra, Neutrase®, Everlase® y Esperase® (Novozymes A/S), aquellas vendidas con los nombres comerciales Maxatase®, Maxacal®, Maxapem®, Purafect®, Purafect Prime®, Preferenz™, Purafect MA®, Purafect Ox®, Purafect OxP®, Puramax®, Properase®, Effectenz™, FN2®, FN3®, FN4®, Excellase®, Opticlean® y Optimase® (Danisco/DuPont), Axapem™ (Gist-Brocades N.V.), BLAP (secuencia mostrada en la figura 29 de US5352604) y variantes de las mismas (Henkel AG) y KAP (subtilisina de *Bacillus alkalophilus*) de Kao.

Lipasas y cutinasas

[0256] Las lipasas y cutinasas adecuadas incluyen aquellas de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen las enzimas mutantes modificadas químicamente o generadas mediante ingeniería de proteínas. Los ejemplos incluyen lipasa de *Thermomyces*, por ejemplo de *T. lanuginosus* (denominado previamente *Humicola lanuginosa*) como se describe en EP258068 y EP305216, cutinasa de *Humicola*, por ejemplo *H. insolens* (WO96/13580), lipasa de cepas de *Pseudomonas* (algunas de estas ahora red denominadas *Burkholderia*), por ejemplo *P. alcaligenes* o *P. pseudoalcaligenes* (EP218272), *P. cepacia* (EP331376), *P. sp. cepa* SD705 (WO95/06720 & WO96/27002), *P. wisconsinensis* (WO96/12012), lipasas de *Streptomyces* de tipo GDSL (WO10/065455), cutinasa de *Magnaporthe grisea* (WO10/107560), cutinasa de *Pseudomonas mendocina* (US5,389,536), lipasa de *Thermobifida fusca* (WO11/084412), lipasa de *Geobacillus stearothermophilus* (WO11/084417), lipasa de *Bacillus subtilis* (WO11/084599) y lipasa de *Streptomyces griseus* (WO11/150157) y *S. pristinaespiralis* (WO12/137147).

[0257] Otros ejemplos son las variantes de lipasa tales como las descritas en EP407225, WO92/05249, WO94/01541, WO94/25578, WO95/14783, WO95/30744, WO95/35381, WO95/22615, WO96/00292, WO97/04079, WO97/07202, WO00/34450, WO00/60063, WO01/92502, WO07/87508 y WO09/109500.

[0258] Los productos de lipasa comercial preferidos incluyen Lipolase™, Lipex™, Lipolex™ y Lipoclean™ (Novozymes A/S), Lumafast (originalmente de Genencor) y Lipomax (originalmente de Gist-Brocades).

[0259] Otros ejemplos más son las lipasas a veces referidas como aciltransferasas o perhidrolasas, por ejemplo, aciltransferasas con homología con la lipasa A de *Candida antarctica* (WO10/111143), aciltransferasa de *Mycobacterium smegmatis* (WO05/56782), perhidrolasas de la familia CE 7 (WO09/67279), y variantes de la perhidrolasa de *M. smegmatis*, en particular la variante S54V usada en el producto comercial Gentle Power Bleach de Huntsman Textile Effects Pte Ltd (WO10/100028).

Amilasas

[0260] Las amilasas adecuadas que se pueden usar con la enzima de la divulgación pueden ser una alfa-amilasa o una glucoamilasa y pueden ser de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen los mutantes químicamente modificados o generados mediante ingeniería de proteínas. Las amilasas incluyen, por ejemplo, alfa-amilasas obtenidas de *Bacillus*, por ejemplo, una cepa especial de *Bacillus licheniformis*, descrita con más detalle en GB 1,296,839.

5 [0261] Las amilasas adecuadas incluyen amilasas que tienen la SEQ ID N.º: 2 de WO 95/10603 o variantes que tienen el 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID N.º: 3 de las mismas. Las variantes preferidas se describen en WO 94/02597, WO 94/18314, WO 97/43424 y la SEQ ID N.º: 4 de WO 99/019467, tales como las variantes con sustituciones en una o más de las siguientes posiciones: 15, 23, 105, 106, 124, 128, 133, 154, 156, 178, 179, 181, 188, 190, 197, 201, 202, 207, 208, 209, 211, 243, 264, 304, 305, 391, 408 y 444.

10 [0262] Otras amilasas adecuadas incluyen amilasas que tienen la SEQ ID N.º: 6 de WO 02/010355 o variantes de las mismas que tienen el 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID N.º: 6. Las variantes preferidas de la SEQ ID N.º: 6 son aquellas que tienen una eliminación en las posiciones 181 y 182 y una sustitución en la posición 193.

15 [0263] Otras amilasas que son adecuadas son la alfa-amilasa híbrida que comprende los residuos 1-33 de la alfa-amilasa obtenida de *B. amyloliquefaciens* mostrada en la SEQ ID N.º: 6 de WO 2006/066594 y los residuos 36-483 de la alfa-amilasa de *B. licheniformis* mostrada en la SEQ ID N.º: 4 de WO 2006/066594 o variantes de las mismas que tienen el 90% de identidad de secuencia. Las variantes preferidas de esta alfa-amilasa híbrida son aquellas que tienen una sustitución, una eliminación o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: G48, T49, G107, H156, A181, N190, M197, 1201, A209 y Q264. Las variantes más preferidas de la alfa-amilasa híbrida que comprende los residuos 1-33 de la alfa-amilasa obtenida de *B. amyloliquefaciens* mostrada en la SEQ ID N.º: 6 de
20 WO 2006/066594 y los residuos 36-483 de la SEQ ID N.º: 4 son aquellas con las sustituciones:

M197T;
H156Y+A181T+N190F+A209V+Q264S; o
G48A+T49I+G107A+H156Y+A181T+N190F+I201F+A209V+Q264S.

25 [0264] Amilasas adicionales que son adecuadas son las amilasas que tienen la SEQ ID N.º: 6 de WO 99/019467 o variantes de las mismas que tienen el 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID N.º: 6. Las variantes preferidas de la SEQ ID N.º: 6 son aquellas que tienen una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: R181, G182, H183, G184, N195, I206, E212, E216 y K269. Amilasas preferidas particularmente son aquellas que tienen una eliminación en las posiciones R181 y G182 o las posiciones H183 y G184.

30 [0265] Amilasas adicionales que pueden usarse son aquellas que tienen la SEQ ID N.º: 1, SEQ ID N.º: 3, SEQ ID N.º: 2 o SEQ ID N.º: 7 de WO 96/023873 o variantes de las mismas que tienen el 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID N.º: 1, SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 3 o SEQ ID N.º: 7. Variantes preferidas de SEQ ID N.º: 1, SEQ ID N.º: 2, SEQ ID N.º: 3 o SEQ ID N.º: 7 son aquellas con una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: 140, 181, 182, 183, 184, 195, 206, 212, 243, 260, 269, 304 y 476, usando la SEQ ID 2
35 de WO 96/023873 para la numeración. Variantes más preferidas son aquellas que tienen una eliminación en dos posiciones seleccionadas de 181, 182, 183 y 184, tales como 181 y 182, 182 y 183, o las posiciones 183 y 184. Las variantes más preferidas de la amilasa de SEQ ID N.º: 1, SEQ ID N.º: 2 o SEQ ID N.º: 7 son aquellas que tienen una delección en las posiciones 183 y 184 y una sustitución en una o más de las posiciones 140, 195, 206, 243, 260, 304 y 476.

40 [0266] Otras amilasas que se pueden usar son las amilasas que tienen la SEQ ID N.º: 2 de WO 08/153815, SEQ ID N.º: 10 de WO 01/66712 o variantes de las mismas que tienen el 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID N.º: 2 de WO 08/153815 o el 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID N.º: 10 de WO 01/66712. Las variantes preferidas de la SEQ ID N.º: 10 de WO 01/66712 son aquellas que tienen una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: 176, 177, 178, 179, 190, 201, 207, 211 y 264.

45 [0267] Amilasas adecuadas adicionales son las amilasas que tienen la SEQ ID N.º: 2 de WO 09/061380 o variantes que tienen el 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID N.º: 2 de las mismas. Variantes preferidas de la SEQ ID N.º: 2 son aquellas que tienen un truncamiento del C-terminal y/o una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: Q87, Q98, S125, N128, T131, T165, K178, R180, S181, T182, G183, M201, F202, N225, S243, N272, N282, Y305, R309, D319, Q320, Q359, K444 y G475. Variantes más preferidas de la SEQ
50 ID N.º: 2 son aquellas que tienen la sustitución en una o más de las siguientes posiciones: Q87E,R, Q98R, S125A, N128C, T131I, T165I, K178L, T182G, M201L, F202Y, N225E,R, N272E,R, S243Q,A,E,D, Y305R, R309A, Q320R, Q359E, K444E y G475K y/o una delección en la posición R180 y/o S181 o de T182 y/o G183. Las variantes más preferidas de la amilasa de SEQ ID N.º: 2 son aquellas que tienen las sustituciones:

N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K;

N128C+K178L+T182G+F202Y+Y305R+D319T+G475K;
 S125A+N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K; o
 S125A+N128C+T131I+T165I+K178L+T182G+Y305R+G475K, donde las variantes se truncan por el C-terminal
 y, opcionalmente, comprenden además una sustitución en la posición 243 y/o una delección en la posición 180
 y/o la posición 181.

[0268] Otras amilasas adecuadas son la alfa-amilasa que tiene la SEQ ID N.º: 12 de WO01/66712 o una variante que tiene al menos el 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID N.º: 12. Las variantes de amilasa preferidas son aquellas con una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones de la SEQ ID N.º: 12 de WO01/66712: R28, R118, N174, R181, G182, D183, G184, G186, W189, N195, M202, Y298, N299, K302, S303, N306, R310, N314; R320, H324, E345, Y396, R400, W439, R444, N445, K446, Q449, R458, N471, N484. Las amilasas preferidas en particular incluyen variantes que tienen una delección de D183 y G184 y con las sustituciones R118K, N195F, R320K y R458K, y una variante que tiene adicionalmente sustituciones en una o más posiciones seleccionadas del grupo: M9, G149, G182, G186, M202, T257, Y295, N299, M323, E345 y A339, la más preferida es una variante que adicionalmente tiene sustituciones en todas estas posiciones.

[0269] Otros ejemplos son variantes de amilasa tales como las descritas en WO2011/098531, WO2013/001078 y WO2013/001087.

[0270] Amilasas disponibles comercialmente son Duramyl™, Termamyl™, Fungamyl™, Stainzyme™, Stainzyme Plus™, Natalase™, Liquozyme X y BAN™ (de Novozymes A/S), y Rapidase™, Purastar™/Effectenz™, Powerase y Preferenz S100 (de Genencor International Inc./DuPont).

20 Peroxidasas/oxidadas

[0271] Una peroxidasa según la divulgación es una enzima peroxidasa comprendida por la clasificación enzimática EC 1.11.1.7, como dispone el Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBBM), o cualquier fragmento obtenido de la misma, que muestre actividad de peroxidasa.

[0272] Las peroxidasas adecuadas incluyen aquellas de origen vegetal, bacteriano o fúngico. Se incluyen los mutantes químicamente modificados o generados mediante ingeniería de proteínas. Los ejemplos de peroxidasas útiles incluyen peroxidasas de *Coprinosia*, por ejemplo, de *C. cinerea* (EP 179,486), y variantes de las mismas, como aquellas descritas en WO 93/24618, WO 95/10602 y WO 98/15257.

[0273] Una peroxidasa según la divulgación también incluye una enzima haloperoxidasa, tal como cloroperoxidasa, bromoperoxidasa y compuestos que muestran actividad de cloroperoxidasa o de bromoperoxidasa. Las haloperoxidasas se clasifican según su especificidad para iones haluro. Las cloroperoxidasas (E.C. 1.11.1.10) catalizan la formación de hipoclorito a partir de iones cloruro.

[0274] En una forma de realización, la haloperoxidasa de la divulgación es una cloroperoxidasa. Preferiblemente, la haloperoxidasa es una haloperoxidasa de vanadio, es decir, una haloperoxidasa que contiene vanadato. En un método preferido de la presente invención, la haloperoxidasa que contiene vanadato se combina con una fuente de ion cloruro.

[0275] Las haloperoxidasas se han aislado de muchos hongos diferentes, en particular del grupo de hongos hifomicetos dematiáceos, tales como *Caldariomyces*, por ejemplo, *C. fumago*, *Alternaria*, *Curvularia*, por ejemplo, *C. verruculosa* y *C. inaequalis*, *Drechslera*, *Ulocladium* y *Botrytis*.

[0276] Las haloperoxidasas también se han aislado de bacterias tales como *Pseudomonas*, por ejemplo, *P. pyrocinia*, y *Streptomyces*, por ejemplo, *S. aureofaciens*.

[0277] En una forma de realización preferida, la haloperoxidasa es derivable de *Curvularia* sp., en particular *Curvularia verruculosa* o *Curvularia inaequalis*, tales como *C. inaequalis* CBS 102.42 como se describe en WO 95/27046; o *C. verruculosa* CBS 147.63 o *C. verruculosa* CBS 444.70 como se describe en WO 97/04102; o de *Drechslera hartlebii* como se describe en WO 01/79459, *Dendryphiella salina* como se describe en WO 01/79458, *Phaeotrichoconis crotalarie* como se describe en WO 01/79461, o *Geniculosporium* sp. como se describe en WO 01/79460.

[0278] Una oxidasa según la divulgación incluye, en particular, cualquier enzima lacasa comprendida por la clasificación enzimática EC 1.10.3.2, o cualquier fragmento obtenido de la misma que muestre actividad de lacasa, o un compuesto que muestre una actividad similar, tal como una catecol oxidasa (EC 1.10.3.1), una o-aminofenol oxidasa (EC 1.10.3.4) o una bilirrubina oxidasa (EC 1.3.3.5).

[0279] Las enzimas lacasa preferidas son las enzimas de origen microbiano. Las enzimas se pueden obtener de plantas, bacterias u hongos (incluyendo hongos filamentosos y levaduras).

5 [0280] Los ejemplos adecuados de hongos incluyen una lacasa derivable a partir de una cepa de *Aspergillus*, *Neurospora*, por ejemplo, *N. crassa*, *Podospora*, *Botrytis*, *Collybia*, *Fomes*, *Lentinus*, *Pleurotus*, *Trametes*, por ejemplo, *T. villosa* y *T. versicolor*, *Rhizoctonia*, por ejemplo, *R. solani*, *Coprinopsis*, por ejemplo, *C. cinerea*, *C. comatus*, *C. friesii*, y *C. plicatilis*, *Psathyrella*, por ejemplo, *P. condelleana*, *Panaeolus*, por ejemplo, *P. papilionaceus*, *Myceliophthora*, por ejemplo, *M. thermophila*, *Schytalidium*, por ejemplo, *S. thermophilum*, *Polyporus*, por ejemplo, *P. pinsitus*, *Phlebia*, por ejemplo, *P. radiata* (WO 92/01046), o *Coriolus*, por ejemplo, *C. hirsutus* (JP 2238885).

[0281] Los ejemplos adecuados de bacterias incluyen una lacasa derivable a partir de una cepa de *Bacillus*.

10 [0282] Una lacasa obtenida de *Coprinopsis* o *Myceliophthora* es preferida; en particular una lacasa obtenida de *Coprinopsis cinerea*, como se describe en WO 97/08325; o de *Myceliophthora thermophila*, como se describe en WO 95/33836.

15 [0283] La(s) enzima(s) detergente(s) se puede(n) incluir en una composición detergente añadiendo aditivos separados que contienen una o más enzimas, o añadiendo un aditivo combinado que comprende todas estas enzimas. Un aditivo de detergente usado en la invención, es decir, un aditivo separado o un aditivo combinado, puede formularse, por ejemplo, como un granulado, un líquido, una lechada, etc. Formulaciones de aditivos de detergente preferidas son los granulados, en particular los granulados no pulverulentos, los líquidos, en particular los líquidos estabilizados, o las lechadas.

20 [0284] Los granulados no pulverulentos pueden ser producidos, por ejemplo, como se describe en US 4,106,991 y 4,661,452 y pueden, opcionalmente, recubrirse por métodos conocidos en la técnica. Ejemplos de materiales de recubrimiento cerosos son los productos de poli(óxido de etileno) (polietilenglicol, PEG) con pesos molares medios de 1000 a 20000; nonilfenoles etoxilados que tienen de 16 a 50 unidades de óxido de etileno; alcoholes grasos etoxilados en los que el alcohol contiene de 12 a 20 átomos de carbono y en los que hay de 15 a 80 unidades de óxido de etileno; alcoholes grasos; ácidos grasos; y mono- y di- y triglicéridos de ácidos grasos. Se proporcionan ejemplos de materiales de recubrimiento formadores de películas adecuados para aplicarse por técnicas de lecho fluidificado en GB 1483591. Las preparaciones enzimáticas líquidas pueden, por ejemplo, estabilizarse añadiendo un poliol tal como propilenglicol, un azúcar o alcohol de azúcar, ácido láctico o ácido bórico según métodos establecidos. Se pueden preparar enzimas protegidas según el método descrito en EP 238,216.

Otros materiales

30 [0285] También puede utilizarse cualquier componente detergente conocido en la técnica para uso en detergentes. Otros componentes detergentes opcionales incluyen agentes anticorrosivos, agentes antiengorramiento, agentes antirredeposición de suciedad, agentes antiarrugas, bactericidas, ligantes, inhibidores de corrosión, agentes desintegrantes/de desintegración, tintes, estabilizadores enzimáticos (incluyendo ácido bórico, boratos, CMC, y/o polioles tales como el propilenglicol), acondicionadores de tejidos incluyendo arcillas, productos de relleno/auxiliares de procesamiento, agentes blanqueadores fluorescentes/abrilantadores ópticos, potenciadores de espuma, reguladores de espuma (jabonadura), perfumes, agentes suspensores de suciedad, suavizantes, supresores de espuma, inhibidores de decoloración y agentes de mecha, bien solos o en combinación. Puede utilizarse cualquier ingrediente conocido en la técnica para uso en detergentes. La elección de tales ingredientes está bien incluida en la habilidad del experto.

40 Dispersantes

[0286] Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden contener dispersantes. En particular, pueden comprender dispersantes los detergentes en polvo. Los materiales orgánicos hidrosolubles adecuados incluyen los ácidos homo- o copoliméricos o sus sales, en los que el ácido policarboxílico comprende al menos dos radicales carboxilo separados entre sí por no más de dos átomos de carbono. Dispersantes adecuados se describen, por ejemplo, en Powdered Detergents, Surfactant science series volume 71, Marcel Dekker, Inc.

Agentes de inhibición de transferencia de tinte

50 [0287] Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir uno o más agentes de inhibición de transferencia de tinte. Los agentes inhibidores de transferencia de tinte poliméricos adecuados incluyen, pero de forma no limitativa, polímeros de polivinilpirrolidona, polímeros de N-óxido de poliamina, copolímeros de N-vinilpirrolidona y N-vinilimidazola, poliviniloxazolidonas y polivinilimidazolas o mezclas de los mismos. En caso de existir en una composición de la invención, los agentes de inhibición de transferencia de tinte

pueden estar presentes en niveles de aproximadamente el 0,0001 % a aproximadamente el 10%, de aproximadamente el 0,01% a aproximadamente el 5% o incluso de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 3% en peso de la composición.

Agente de blanqueamiento fluorescente

5 [0288] Las composiciones detergentes de la presente invención también contendrán, preferiblemente, componentes adicionales que pueden teñir los artículos que se están limpiando, tales como un agente de blanqueamiento fluorescente o abrillantadores ópticos. Cuando el abrillantador está presente, está preferiblemente en un nivel de aproximadamente el 0,01% a aproximadamente el 0,5%. Cualquier agente de blanqueamiento fluorescente adecuado para uso en una composición detergente para ropa se puede utilizar en la composición de la presente
10 invención. Los agentes blanqueadores fluorescentes usados más frecuentemente son aquellos pertenecientes a las clases de los derivados del ácido diaminoestilbeno-sulfónico, derivados de diarilpirazolina y derivados de bisfenil-diestirilo. Los ejemplos de agentes blanqueadores fluorescentes del tipo derivado de ácido diaminoestilbeno-sulfónico incluyen las sales de sodio de: 4,4'-bis-(2-dietanolamino-4-anilino-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato, 4,4'-bis-(2,4-dianilino-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato, 4,4'-bis-(2-anilino-4-(N-metil-N-2-hidroxiethylamino)-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato, 4,4'-bis-(4-fenil-1,2,3-triazol-2-il)estilbeno-2,2'-disulfonato y sodio 5-(2H-nafto[1,2-d][1,2,3]triazol-2-il)-2-[(E)-2-fenilvinil]benzenosulfonato. Los agentes blanqueadores fluorescentes preferidos son Tinopal DMS y Tinopal CBS disponibles de Ciba-Geigy AG, Basel, Suiza. Tinopal DMS es la sal disódica de 4,4'-bis-(2-morfolino-4-anilino-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato. Tinopal CBS es la sal disódica de 2,2'-bis-(fenil-estiril)-disulfonato. También se prefieren los agentes blanqueadores fluorescentes como el disponible comercialmente Parawhite KX, suministrado por Paramount Minerals and
20 Chemicals, Bombay, India. Otros fluorescentes adecuados para uso en la invención incluyen las 1-3-diaril pirazolinas y las 7-alquilaminocumarinas.

[0289] Los niveles adecuados de abrillantador fluorescente incluyen desde niveles inferiores a aproximadamente el 0,01, al 0,05, a aproximadamente el 0,1 o incluso a aproximadamente el 0,2 % en peso hasta niveles superiores al 0,5 o incluso el 0,75 % en peso.
25

Polímeros de liberación de suciedad

[0290] Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir uno o más polímeros de liberación de suciedad que ayudan a la eliminación de suciedad de tejidos tales como algodón y tejidos a base de poliéster, en particular la eliminación de suciedad hidrofóbica de tejidos a base de poliéster. Los polímeros de liberación de suciedad pueden, por ejemplo, ser polímeros no iónicos o a base de tereftalato aniónico, polivinilcaprolactama y copolímeros relacionados, copolímeros de injerto de vinilo, poliamidas de poliéster, véase por ejemplo el capítulo 7 de Powdered Detergents, Surfactant science series volume 71, Marcel Dekker, Inc. Otro tipo de polímeros de liberación de suciedad son los polímeros alcoxilados anfífilicos de limpieza de grasa que comprenden una estructura central y una pluralidad de grupos alcoxilato unidos a esa estructura central. La estructura central puede comprender una estructura de polialquilenimina o una estructura de polialcanolamina como se describe en detalle en WO 2009/087523. Además, los copolímeros de injerto aleatorios son polímeros de liberación de suciedad adecuados. Copolímeros de injerto adecuados se describen con más detalle en WO 2007/138054, WO 2006/108856 y WO 2006/113314. Otros polímeros de liberación de suciedad son las estructuras de polisacáridos sustituidas, especialmente estructuras celulósicas sustituidas tales como derivados de celulosa modificada tales como los descritos en EP 1867808 o WO 2003/040279. Los polímeros celulósicos adecuados incluyen celulosa, éteres de celulosa, ésteres de celulosa, amidas de celulosa y las mezclas de las mismas. Los polímeros celulósicos adecuados incluyen celulosa modificada aniónicamente, celulosa modificada no iónicamente, celulosa modificada catiónicamente, celulosa modificada zwitteriónicamente y las mezclas de las mismas. Los polímeros celulósicos adecuados incluyen metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxilpropilmetilcelulosa, éster de carboximetilcelulosa y las mezclas de los mismos.
30
35
40
45

Agentes de antirredeposición

[0291] Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir uno o más agentes de antirredeposición tales como carboximetilcelulosa (CMC), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), polioxietileno y/o polietilenglicol (PEG), homopolímeros de ácido acrílico, copolímeros de ácido acrílico y ácido maleico, y polietileniminas etoxiladas. Los polímeros a base de celulosa descritos anteriormente en polímeros de liberación de suciedad también pueden funcionar como agentes de antirredeposición.
50

Modificadores reológicos

[0292] Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir uno o más modificadores reológicos, estructurantes o espesantes, diferentes de los agentes de reducción de viscosidad. Los modificadores

reológicos son seleccionados del grupo constituido por materiales no poliméricos cristalinos hidroxifuncionales, modificadores reológicos poliméricos que imparten características de adelgazamiento por cizalladura a la matriz de líquido acuoso de una composición detergente líquida. La reología y viscosidad del detergente se pueden modificar y ajustar mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, como se muestra en EP 2169040.

- 5 [0293] Otros materiales complementarios adecuados incluyen, pero de forma no limitativa, agentes antiencogimiento, agentes antiarrugas, bactericidas, ligantes, portadores, tintes, estabilizadores enzimáticos, suavizantes, productos de relleno, reguladores de espuma, hidrótopos, perfumes, pigmentos, supresores de césped, solventes y estructurantes para detergentes líquidos y/o agentes elastizantes de la estructura.

Formulación de productos detergentes

- 10 [0294] La composición detergente de la invención puede estar en cualquier forma conveniente, por ejemplo, una pastilla, un comprimido homogéneo, un comprimido con dos o más capas, una bolsa con uno o más compartimentos, un polvo regular o compacto, un gránulo, una pasta, un gel, o un líquido regular compacto o concentrado.

- 15 [0295] Las bolsas se pueden configurar con compartimentos únicos o múltiples. Pueden tener cualquier forma, figura y material que sea adecuado para contener la composición, por ejemplo, sin permitir la liberación de la composición para liberar la composición de la bolsa antes del contacto con el agua. La bolsa está hecha de una película hidrosoluble que incluye un volumen interno. Dicho volumen interno se puede dividir en compartimentos de la bolsa. Las películas preferidas son materiales poliméricos, preferiblemente polímeros que se forman en una película u hoja. Los polímeros, copolímeros o derivados de los mismos preferidos son poliacrilatos seleccionados y copolímeros de acrilato hidrosolubles, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, dextrina de sodio, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, maltodextrina, polimetacrilatos, de la forma más preferible, copolímeros de alcohol polivinílico e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC). Preferiblemente, el nivel de polímero en la película, por ejemplo, PVA, es de al menos aproximadamente el 60%. El peso molecular medio preferido será típicamente de aproximadamente 20.000 a aproximadamente 150.000. Las películas pueden también ser composiciones mezcladas que comprenden mezclas de polímeros degradables hidrolíticamente e hidrosolubles tales como polilactida y alcohol polivinílico (conocidas bajo la referencia comercial M8630 vendida por MonoSol LLC, Indiana, EE.UU.) más plastificantes como glicerol, etilenglicerol, propilenglicol, sorbitol y las mezclas de los mismos. Las bolsas pueden comprender una composición de limpieza de ropa o parte de los componentes sólida y/o una composición de limpieza o parte de los componentes líquida separadas por la película hidrosoluble. El compartimento para los componentes líquidos puede tener una composición diferente a los compartimentos que contienen sólidos: US2009/0011970 A1.
- 20
- 25
- 30

- [0296] Los ingredientes del detergente se pueden separar físicamente entre sí por compartimentos en bolsas disolubles en agua o en diferentes capas de comprimidos. Así, puede evitarse la interacción negativa entre componentes durante el almacenamiento. Los perfiles de disolución diferentes de cada uno de los compartimentos también pueden dar lugar a la disolución retardada de componentes seleccionados en la solución de lavado.
- 35

- [0297] Un detergente líquido o en gel, que no está dosificado de forma unitaria, puede ser acuoso, típicamente con al menos el 20% en peso y hasta el 95% de agua, tal como hasta aproximadamente el 70% de agua, hasta aproximadamente el 65% de agua, hasta aproximadamente el 55% de agua, hasta aproximadamente el 45% de agua, hasta aproximadamente el 35% de agua. Otros tipos de líquidos, incluyendo sin limitación, alcoholes, aminas, dioles, éteres y polioles, se pueden incluir en un líquido acuoso o gel. Un detergente líquido acuoso o en gel puede contener 0-30% de solvente orgánico.
- 40

[0298] Un detergente líquido o en gel puede ser no acuoso.

Pastillas de jabón para ropa

- [0299] La DNasa usada en la invención se puede añadir a pastillas de jabón para ropa y usarse para lavar a mano ropa, telas y/o tejidos. El término pastilla de jabón para ropa incluye pastillas para ropa, pastillas de jabón, pastillas combo, pastillas de detergente sintético y pastillas detergentes. Los tipos de pastilla normalmente difieren en el tipo de surfactante que contienen, y el término pastilla de jabón para ropa incluye aquellas que contienen jabones de ácidos grasos y/o jabones sintéticos. La pastilla de jabón para ropa tiene una forma física que es sólida y no un líquido, gel o un polvo, a temperatura ambiente. El término sólido se define como una forma física que no cambia significativamente a lo largo del tiempo, es decir, si un objeto sólido (por ejemplo, una pastilla de jabón para ropa) se coloca dentro de un contenedor, el objeto sólido no cambia para llenar el contenedor en el que se coloca. La pastilla es un sólido típicamente en forma de barra, pero puede estar en otras formas sólidas tales como redonda u ovalada.
- 45
- 50

[0300] La pastilla de jabón para ropa puede contener una o más enzimas adicionales, inhibidores de proteasas tales como aldehídos peptídicos (o aducto de hidrosulfito o aducto hemiacetal), ácido bórico, borato, bórax y/o derivados de ácido fenilborónico tales como el ácido 4-formilfenilborónico, uno o más jabones o surfactantes sintéticos, polioles tales como la glicerina, compuestos de control de pH tales como ácidos grasos, ácido cítrico, ácido acético y/o ácido fórmico, y/o una sal de un catión monovalente y un anión orgánico donde el catión monovalente puede ser, por ejemplo, Na^+ , K^+ o NH_4^+ , y el anión orgánico puede ser, por ejemplo, formiato, acetato, citrato o lactato, de manera que la sal de un catión monovalente y un anión orgánico puede ser, por ejemplo, formiato sódico.

[0301] La pastilla de jabón para ropa también puede contener agentes complejantes como EDTA y HEDP, perfumes y/o diferentes tipos de productos de relleno, surfactantes, por ejemplo surfactantes sintéticos aniónicos, adyuvantes, agentes de liberación de suciedad poliméricos, queladores detergentes, agentes estabilizantes, productos de relleno, tintes, colorantes, inhibidores de transferencia de tinte, policarbonatos alcoxilados, supresores de espuma, estructurantes, ligantes, agentes de lixiviación, activadores de blanqueo, agentes de eliminación de suciedad arcillosa, agentes de antirredeposición, agentes de dispersión poliméricos, abrillantadores, suavizantes, perfumes y/o otros compuestos conocidos en la técnica.

[0302] La pastilla de jabón para ropa se puede procesar en equipos de fabricación de pastillas de jabón para ropa convencionales tales como, pero no limitados a: mezcladores, compresores, p. ej. un compresor de vacío de dos fases, extrusores, cortadores, estampadores de logos, túneles de enfriamiento y envolvedoras. La divulgación no está limitada a la preparación de las pastillas de jabón para ropa mediante un método único. La premezcla de la divulgación se puede añadir al jabón en diferentes etapas del proceso. Por ejemplo, se puede preparar la premezcla que contiene un jabón, DNasa, opcionalmente una o más enzimas adicionales, un inhibidor de proteasas y una sal de un catión monovalente y un anión orgánico y entonces se comprime la mezcla. La DNasa y las enzimas adicionales opcionales se pueden añadir a la vez que el inhibidor de proteasas, por ejemplo, en forma líquida. Aparte de la etapa de mezcla y la etapa de compresión, el proceso puede comprender además las etapas de fresado, extrusión, corte, estampado, enfriamiento y/o envoltura.

Formulación de enzima en cogránulo

[0303] La DNasa se puede formular como un gránulo, por ejemplo, como un cogránulo que combina una o más enzimas. Cada enzima estará entonces presente en más gránulos asegurando una distribución más uniforme de enzimas en el detergente. Esto reduce también la segregación física de diferentes enzimas debido a tamaños de partícula diferentes. Los métodos para producir cogranulados multienzimáticos para la industria de detergentes se describen en la divulgación IP.com IPCOM000200739D.

[0304] Otro ejemplo de formulación de enzimas mediante el uso de cogranulados se describe en WO 2013/188331, que se refiere a una composición detergente que comprende (a) un cogránulo multienzimático; (b) menos del 10 en peso de zeolita (base anhidra); y (c) menos del 10 en peso de sal de fosfato (base anhidra), donde dicho cogránulo enzimático comprende del 10 al 98 % en peso de componente de absorción de la humedad y la composición adicionalmente comprende del 20 al 80 % en peso del componente de absorción de la humedad del detergente. WO 2013/188331 también se refiere a un método de tratamiento y/o de limpieza de una superficie, preferiblemente una superficie de tejido que incluye las etapas de (i) contacto de dicha superficie con la composición detergente como se reivindica y se describe en la presente en una solución de lavado acuoso, (ii) enjuagado y/o secado de la superficie.

[0305] El cogránulo multienzimático puede comprender una DNasa y (a) una o más enzimas seleccionadas del grupo constituido por lipasas de primer lavado, celulasas de limpieza, xiloglucanasas, perhidrolasas, peroxidadas, lipoxigenasas, lacasas y las mezclas las mismas; y (b) una o más enzimas seleccionadas del grupo constituido por hemicelulasas, proteasas, celulasas para cuidado, celobiosa deshidrogenasas, xilanasas, fosfolipasas, esteradas, cutinasas, pectinasas, mananasas, pectato liasas, queratinasas, reductasas, oxidasas, fenoloxidasas, ligninasas, pululanadas, tanasas, pentosanasas, líquenasas glucanasas, arabinosidasas, hialuronidasa, condroitinasa, amilasas, y mezclas de las mismas.

Ensayos y composiciones detergentes

Composiciones detergentes para ropa

[0306] La composición detergente mencionada a continuación se puede usar en combinación con el polipéptido de la divulgación para prevenir o reducir la electricidad estática.

Composición de Ariel Sensitive White & Color, composición detergente líquida:

[0307] Agua, alcohol etoxi sulfato, alcohol etoxilato, óxido de amino, ácido cítrico, ácido graso C12-18 de semilla de palma descabezada, proteasa, glicosidasa, amilasa, etanol, 1,2 propanodiol, formiato sódico, cloruro de calcio, hidróxido sódico, emulsión de silicona, EHDQ trans-sulfatado (los constituyentes se enumeran en orden descendente).

5 **Composición del modelo de detergente WFK IEC-A (polvo)**

[0308] Ingredientes: sulfonato de alquilbenceno lineal de sodio 8,8%, alcohol graso etoxilado C12-18 (7 EO) 4,7%, jabón sódico 3,2%, antiespumante DC2-4248S 3,9%, zeolita de silicato de aluminio de sodio 4A 28,3 %, carbonato de sodio 11,6%, sal sódica de un copolímero de ácido maleico y acrílico (Sokalan CP5) 2,4%, silicato sódico 3,0%, carboximetilcelulosa 1,2%, Dequest 2066 2,8%, blanqueador óptico 0,2%, sulfato sódico 6,5%, proteasa 0,4 %.

10 **Composición del modelo de detergente A (líquido)**

[0309] Ingredientes: 12% LAS, 11% AEO Biosoft N25-7 (NI), 7% AEOS (SLES), 6% MPG (monopropilenglicol), 3% etanol, 3% TEA, 2,75% jabón de cacao, 2,75% jabón de soja, 2% glicerol, 2% hidróxido sódico, 2% citrato sódico, 1% formiato de sodio, 0,2% DTMPA y 0,2% PCA (todos los porcentajes son p/p)

Composición de Ariel Actilift (líquido)

15 [0310] Ingredientes: 5-15% surfactantes aniónicos; <5% surfactantes no iónicos, fosfonatos, jabón; enzimas, abrillantadores ópticos, benzisotiazolinona, metilisotiazolinona, perfumes, alfa-isometil ionona, citronelol, geraniol, linalool.

Composición de Ariel Actilift Colour & Style

20 [0311] Agua, dodecibencenosulfonato de sodio, Pareth-7 C14-C15, citrato sódico, propilenglicol, kernelato de palma de sodio, laureth sulfato de sodio, MEA dodecibencenosulfonato, hexametildiamina etoxilada sulfatada cuaternizada, cumenosulfonato de sodio, perfume, copolímero de PEG/acetato de vinilo, formiato sódico, aceite de ricino hidrogenado, dietilentriamina pentametilenfosfonato de sodio, PEG/PPG-10/2 propilheptil éter, butilfenil metilpropional, polivinilpiridina-N-óxido, sorbitol, glicerina, etanolamina, hidróxido sódico, alfa-isometil ionona, proteasa, cloruro de calcio, geraniol, linalool, citronelol, tripropilenglicol, glicosidasa, acetato sódico, celulosa, colorante, estearato de glicerilo, hidroxietilcelulosa, sílice.

Composición de Ariel Actilift Colour & Style, nuevo paquete

30 [0312] Ingredientes: agua, laureth sulfato de sodio, propilenglicol, Pareth-7 C14-C15, citrato sódico, kernelato de palma de sodio, alcohol, formiato sódico, hexametildiamina etoxilada sulfatada cuaternizada, hidróxido sódico, perfume, polivinilpiridina-N-óxido, sorbitol, cloruro de calcio, proteasa, glicerina, glucosidasa, glicosidasa, acetato sódico, colorante, celulosa.

Composición de Ariel Actilift Whites & Colours Coolclean, nuevo paquete

[0313] Ingredientes: Agua, laureth sulfato de sodio, propilenglicol, Pareth-7 C14-C15, citrato sódico, kernelato de palma de sodio, alcohol, formiato sódico, hexametildiamina etoxilada sulfatada cuaternizada, hidróxido sódico, perfume, sorbitol, cloruro de calcio, proteasa, glicerina, glucosidasa, glicosidasa, acetato sódico, colorante, celulosa.

35 **Composición de Ariel Sensitive White & Color**

[0314] Ingredientes: Agua, laureth sulfato de sodio, propilenglicol, Pareth-7 C14-C15, citrato sódico, kernelato de palma de sodio, alcohol, formiato sódico, hexametildiamina etoxilada sulfatada cuaternizada, hidróxido sódico, sorbitol, cloruro de calcio, proteasa, glicerina, glicosidasa, acetato sódico, celulosa, sílice.

Composición de Ariel Actilift, normal

40 [0315] Agua, dodecibencenosulfonato de sodio, Pareth-7 C14-C15, citrato sódico, propilenglicol, kernelato de palma de sodio, laureth sulfato de sodio, MEA dodecibencenosulfonato, hexametildiamina etoxilada sulfatada cuaternizada, cumenosulfonato de sodio, perfume, copolímero de PEG/acetato de vinilo, formiato sódico, Pareth-7 C12-C14, aceite de ricino hidrogenado, dietilentriamina pentametilenfosfonato de sodio, PEG/PPG-10/2 propilheptil éter, butilfenil metilpropional, abrillantador fluorescente 9, sorbitol, glicerina, etanolamina, hidróxido sódico, alfa-

isometil ionona, proteasa, cloruro de calcio, geraniol, linalool, citronelol, tripropilenglicol, cloruro sódico, glicosidasa, bencisotiazolinona, dimeticona, glicosidasa, acetato sódico, celulosa, colorante, estearato de glicerilo, hidroxietilcelulosa, sílice.

Composición de Persil Small & Mighty (líquido)

- 5 [0316] Ingredientes: 15-30% surfactantes aniónicos, surfactantes no iónicos, 5-15% jabón, < 5% policarboxilatos, perfume, fosfatos, abrillantadores ópticos.

Composición de Fairy Non Bio (líquido)

[0317] Ingredientes: 15-30% surfactantes aniónicos, 5-15% surfactantes no iónicos, jabón, bencisotiazolinona, metilisotiazolinona, perfumes.

10 **Composición del modelo de detergente T (polvo)**

[0318] Ingredientes: 11% LAS, 2% AS/AEOS, 2% jabón, 3% AEO, 15,15% carbonato de sodio, 3% sodio silicato, 18,75% zeolita, 0,15% quelante, 2% citrato sódico, 1,65% copolímero AA/MA, 2,5% CMC y 0,5% SRP (todos los porcentajes son p/p).

Composición del modelo de detergente X (polvo)

- 15 [0319] Ingredientes: 16,5% LAS, 15% zeolita, 12% disilicato de sodio, 20% carbonato de sodio, 1% sokalan, 35,5% sulfato de sodio (todos los porcentajes son p/p).

Composición de Ariel Actilift (polvo)

[0320] Ingredientes: 15-30% surfactantes aniónicos, <5% surfactantes no iónicos, fosfonatos, policarboxilatos, zeolitas; enzimas, perfumes, hexil cinamal.

20 **Composición de Persil Megaperls (polvo)**

[0321] Ingredientes: 15 - 30 % de lo siguiente: surfactantes aniónicos, blanqueantes a base de oxígeno y zeolitas, menos del 5 % de lo siguiente: surfactantes no iónicos, fosfonatos, policarboxilatos, jabón, otros ingredientes: perfumes, hexil cinamal, salicilato de bencilo, linalool, abrillantadores ópticos, enzimas y citronelol.

Gain líquido, original:

- 25 [0322] Ingredientes: agua, alcohol etoxisulfato, dietilenglicol, alcohol etoxilato, etanolamina, sulfonato de alquilbenceno lineal, ácidos grasos de sodio, polietilenimina etoxilato, ácido cítrico, bórax, cumeno sulfonato de sodio, propilenglicol, DTPA, disulfonato de diaminoestilbena disódico, dipropiletiltetramina, hidróxido sódico, formiato sódico, formiato de calcio, dimeticona, amilasa, proteasa, Liquitint™, aceite de ricino hidrogenado, fragancia

Tide líquido, original:

- 30 [0323] Ingredientes: sulfonato de alquilbenceno lineal, propilenglicol, ácido cítrico, hidróxido sódico, bórax, etanolamina, etanol, sulfato de alcohol, polietilenimina etoxilato, ácidos grasos de sodio, diquaturnium etoxisulfato, proteasa, dietilenglicol, laureth-9, óxido de alquildimetilamina, fragancia, amilasa, disulfonato de diaminoestilbena disódico, DTPA, formiato sódico, formiato de calcio, polietilenglicol 4000, mananasa, Liquitint™ Blue, dimeticona.

- 35 [0324] **Tide líquido, Free and Gentle:** agua, alcohol etoxi sulfato de sodio, propilenglicol, bórax, etanol, sulfonato de alquilbenceno lineal de sodio, sal, polietilenimina etoxilato, dietilenglicol, hexametildiamina trans sulfatada y etoxilada, alcohol etoxilato, sulfonato de alquilbenceno lineal, sal de MEA, formiato sódico, alquil sulfato de sodio, DTPA, óxido de amina, formiato de calcio, diaminoestilbena disódico, disulfonato, amilasa, proteasa, dimeticona, bencisotiazolinona.

- 40 [0325] **Tide Coldwater líquido, Fresh Scent:** agua, alcohol etoxi sulfato, sulfonato de alquilbenceno lineal, dietilenglicol, propilenglicol, etanolamina, ácido cítrico, bórax, sulfato de alcohol, hidróxido sódico, polietilenimina, etoxilato, ácidos grasos de sodio, etanol, proteasa, Laureth-9, diquaturnium etoxisulfato, óxido de lauramina, cumeno

de sodio, sulfonato, fragancia, DTPA, amilasa, disodio, diaminoestilbeno, disulfonato, formiato sódico, disulfonato de diestirilbifenilo disódico, formiato de calcio, polietilenglicol 4000, mananasa, pectinasa, Liqitint™ Blue, dimeticona.

5 [0326] **Tide TOTALCARE™ líquido, Cool Cotton:** agua, alcoholetoxi sulfato, propilenglicol, ácidos grasos de sodio, cloruro de laurtrimonio, etanol, hidróxido sódico, cumeno sulfonato de sodio, ácido cítrico, etanolamina, dietilenglicol, poliéter de silicona, bórax, fragancia, polietilenimina etoxilato, proteasa, Laureth-9, DTPA, cloruro de poliacrilamida de quaternium, diaminoestilbeno disulfonato disódico, formiato sódico, Liqitint™ Orange, dipropiletil tetraamina, dimeticona, celulasa,

Tide Plus Bleach Alternative™ líquido, Vivid White and Bright, Original y Clean Breeze:

10 [0327] Agua, alcoholetoxi sulfato de sodio, alquil sulfato de sodio, citrato de MEA, sulfonato de alquilbenceno lineal, sal de MEA, propilenglicol, dietilenglicol, polietilenimina etoxilato, etanol, ácidos grasos de sodio, etanolamina, óxido de lauramina, bórax, Laureth-9, DTPA, cumeno sulfonato de sodio, formiato sódico, formiato de calcio, sulfonato de alquilbenceno lineal, sal de sodio, sulfato de alcohol, hidróxido sódico, diquaternium etoxisulfato, fragancia, amilasa, proteasa, mananasa, pectinasa, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, bencisotiazolinona, Liqitint™ Blue, dimeticona, dipropiletil tetraamina.

15 [0328] **Tide HE líquido, Original Scent:** agua, alcoholetoxi sulfato de sodio, citrato de MEA, alquil sulfato de sodio, alcohol etoxilato, sulfonato de alquilbenceno lineal, sal de MEA, ácidos grasos de sodio, polietilenimina etoxilato, dietilenglicol, propilenglicol, diquaternium etoxisulfato, bórax, polietilenimina, propoxilato etoxilato, etanol, cumeno sulfonato de sodio, fragancia, DTPA, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, mananasa, celulasa, amilasa, formiato sódico, formiato de calcio, óxido de lauramina, Liqitint™ Blue, dimeticona/polidimetil silicona.

20 [0329] **Tide TOTALCARE HE líquido, renewing Rain:** agua, alcoholetoxi sulfato, sulfonato de alquilbenceno lineal, alcohol etoxilato, ácido cítrico, etanolamina, ácidos grasos de sodio, dietilenglicol, propilenglicol, hidróxido sódico, bórax, polietilenimina etoxilato, poliéter de silicona, etanol, proteasa, cumeno sulfonato de sodio, diquaternium etoxisulfato, Laureth-9, fragancia, amilasa, DTPA, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, disulfonato de diestirilbifenilo disódico, formiato sódico, formiato de calcio, mananasa, Liqitint™ Orange, dimeticona, cloruro de poliacrilamida de quaternium, celulasa, dipropiletil tetraamina.

25 [0330] **Tide HE Free líquido:** agua, alcoholetoxi sulfato, dietilenglicol, citrato de monoetanolamina, formiato sódico, propilenglicol, sulfonatos de alquilbenceno lineal, etanolamina, etanol, polietilenimina etoxilato, amilasa, bencisotiazolina, bórax, formiato de calcio, ácido cítrico, dietilentriamina pentaacetato de sodio, dimeticona, diquaternium etoxisulfato, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, Laureth-9, mananasa, proteasa, cumeno sulfonato de sodio, ácidos grasos de sodio.

30 [0331] **Tide Coldwater HE líquido, Fresh Scent:** agua, alcoholetoxi sulfato, citrato de MEA, sulfato alcohólico, alcohol etoxilato, sulfonato de alquilbenceno lineal de MEA, ácidos grasos de sodio, polietilenimina etoxilato, dietilenglicol, propilenglicol, diquaternium etoxisulfato, bórax, propoxilato etoxilato de polietilenimina, etanol, cumeno sulfonato de sodio, fragancia, DTPA, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, proteasa, mananasa, celulasa, amilasa, formiato sódico, formiato de calcio, óxido de lauramina, Liqitint™ Blue, dimeticona.

35 [0332] **Tide for Coldwater HE Free líquido:** agua, sodio alcoholetoxi sulfato, citrato de MEA, sulfonato de alquilbenceno lineal: sal de sodio, alcohol etoxilato, sulfonato de alquilbenceno lineal: sal de MEA, ácidos grasos de sodio, polietilenimina etoxilato, dietilenglicol, propilenglicol, diquaternium etoxisulfato, bórax, proteasa, propoxilato etoxilato de polietilenimina, etanol, cumeno sulfonato de sodio, amilasa, ácido cítrico, DTPA, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, formiato sódico, formiato de calcio, dimeticona.

40 [0333] **Tide Simply Clean & Fresh:** agua, sulfato de alcohol etoxilato, sulfonato de alquilbenceno lineal sales de sodio/MEA, propilenglicol, dietilenglicol, formiato sódico, etanol, bórax, ácidos grasos de sodio, fragancia, óxido de lauramina, DTPA, de polietilenamina etoxilato, formiato de calcio, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, dimeticona, tetramina, Liqitint™ Blue.

45 [0334] **Tide Pods, Ocean Mist, Mystic Forest, Spring Meadow:** sulfonatos de alquilbenceno lineal, Pareth-9 C12-16, propilenglicol, alcoholetoxi sulfato, agua, polietilenimina etoxilato, glicerina, sales de ácido graso, acetato de polivinilo PEG-136, sal disuccínica de etilendiamina, citrato de monoetanolamina, bisulfito sódico, dietilentriamina pentaacetato de sodio, disulfonato de diestirilbifenilo disódico, formiato de calcio, mananasa, exiloglucanasa, formiato sódico, aceite de ricino hidrogenado, Natalase, tintes, Termamyl, subtilisina, bencisotiazolina, perfume.

[0335] **Tide to Go:** agua desionizada, éter butílico de dipropilenglicol, alquil sulfato de sodio, peróxido de hidrógeno, etanol, sulfato de magnesio, óxido de alquil dimetil amina, ácido cítrico, hidróxido sódico, ácido trimetoxi benzoico, fragancia.

5 [0336] **Tide Stain Release líquido:** agua, alquil etoxilato, alquilbencenosulfonato lineal, peróxido de hidrógeno, diquaternium etoxisulfato, etanolamina, disulfonato de diestirilbifenilo disódico, tetrabutil etilidinbifenol, F&DC Yellow 3, fragancia.

[0337] **Tide Stain Release en polvo:** percarbonato de sodio, sulfato de sodio, carbonato de sodio, aluminosilicato de sodio, nonanoiloxi benceno sulfonato, poliacrilato de sodio, agua, alquilbencenosulfonato de sodio, DTPA, polietilenglicol, palmitato de sodio, amilasa, proteasa, almidón modificado, FD&C Blue 1, fragancia.

10 **Tide Stain Release, Pre Treater en espray:**

[0338] Agua, alquil etoxilato, borato de MEA, alquilbencenosulfonato lineal, propilenglicol, diquaternium etoxisulfato, enzima de cloruro de calcio, proteasa, etanolamina, benzoisotiazolinona, amilasa, citrato sódico, hidróxido sódico, fragancia.

15 [0339] **Tide to Go Stain Eraser:** agua, óxido de alquilamina, fenil éter de dipropilenglicol, peróxido de hidrógeno, ácido cítrico, sal sódica de ácido etilendiamino disuccínico, alquil sulfato de sodio, fragancia.

Tide boost with Oxi:

20 [0340] Bicarbonato sódico, carbonato de sodio, percarbonato de sodio, alcohol etoxilato, cloruro sódico, copolímero maleico/acrílico, nonanoiloxi benceno sulfonato, sulfato de sodio, colorante, sal de sodio de pentaacetato de dietilentriamina, aluminosilicato hidratado (zeolita), polietilenglicol, alquilbenceno sulfonato de sodio, palmitato de sodio, almidón, agua, fragancia.

Tide Stain Release boost Duo Pac:

25 [0341] Película de bolsa de alcohol polivinílico, donde se envasa una parte líquida y una parte en polvo:
Ingredientes líquidos: dipropilenglicol, diquaternium etoxisulfato, agua, glicerina, Liquitint™ Orange, **Ingredientes en polvo:** percarbonato de sodio, nonanoiloxi benceno sulfonato, carbonato de sodio, sulfato de sodio, aluminosilicato de sodio, poliacrilato de sodio, alquilbencenosulfonato de sodio, copolímero maleico/acrílico, agua, amilasa, polietilenglicol, palmitato de sodio, almidón modificado, proteasa, glicerina, DTPA, fragancia.

30 [0342] **Tide Ultra Stain Release:** agua, alcoholetoxi sulfato de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal, sales de sodio/MEA, citrato de MEA, propilenglicol, polietilenimina etoxilato, etanol, dietilenglicol, polietilenimina propoxietoxilato, ácidos grasos de sodio, proteasa, bórax, cumeno sulfonato de sodio, DTPA, fragancia, amilasa, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, formiato de calcio, formiato sódico, gluconasa, dimeticona, Liquitint™ Blue, mananasa.

35 [0343] **Detergente en polvo Ultra Tide con a Touch of Downy®, April Fresh/Clean Breeze/April Essence:** carbonato de sodio, aluminosilicato de sodio, sulfato de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal, bentonita, agua, percarbonato de sodio, poliacrilato de sodio, silicato, alquil sulfato, nonanoiloxibencenosulfonato, DTPA, polietilenglicol 4000, silicona, etoxilato, fragancia, óxido de polietileno, ácido palmítico, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, proteasa, Liquitint™ Red, FD&C Blue 1, celulasa.

40 [0344] **Ultra Tide con a Touch of Downy Clean Breeze:** agua, alcoholetoxi sulfato de sodio, citrato de MEA, sulfonato de alquilbenceno lineal: sales de sodio/MEA, propilenglicol, polietilenimina etoxilato, etanol, dietilenglicol, polietilenimina, propoxietoxilato, diquaternium etoxisulfato, sulfato de alcohol, dimeticona, fragancia, bórax, ácidos grasos de sodio, DTPA, proteasa, bisulfito sódico, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, amilasa, gluconasa, aceite de ricino, formiato de calcio, MEA, copolímero de acrilato de estireno, formiato sódico, Liquitint™ Blue.

45 [0345] **Ultra Tide con Downy Sun Blossom:** agua, alcoholetoxi sulfato de sodio, citrato de MEA, sulfonato de alquilbenceno lineal: sales de sodio/MEA, propilenglicol, etanol, dietilenglicol, polietilenimina propoxietoxilato, polietilenimina etoxilato, sulfato de alcohol, dimeticona, fragancia, bórax, ácidos grasos de sodio, DTPA, proteasa, bisulfito sódico, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, amilasa, aceite de ricino, formiato de calcio, MEA, copolímero de acrilato de estireno, propanaminio propanamida, gluconasa, formiato sódico, Liquitint™ Blue.

5 [0346] **Ultra Tide con Downy April Fresh/ Sweet Dreams:** agua, alcoholetoxi sulfato de sodio, citrato de MEA, sulfonato de alquilbenceno lineal: sales de sodio/MEA, propilenglicol, polietilenimina etoxilato, etanol, dietilenglicol, polietilenimina propoxietoxilato, diquaturnium etoxisulfato, sulfato de alcohol, dimeticona, fragancia, bórax, ácidos grasos de sodio, DTPA, proteasa, bisulfito sódico, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, amilasa, gluconasa, aceite de ricino, formiato de calcio, MEA, copolímero de acrilato de estireno, propanaminio propanamida, formiato sódico, Liquitint™ Blue.

[0347] **Detergente en polvo Ultra Tide Free:** carbonato de sodio, aluminosilicato de sodio, alquil sulfato, sulfato de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal, agua, poliacrilato de sodio, silicato, etoxilato, percarbonato de sodio, polietilenglicol 4000, proteasa, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, silicona, celulasa.

10 [0348] **Detergente en polvo Ultra Tide, Clean Breeze/Spring Lavender/mountain Spring:** carbonato de sodio, aluminosilicato de sodio, sulfato de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal, alquil sulfato, percarbonato de sodio, agua, poliacrilato de sodio, silicato, nonanoiloxibencenosulfonato, etoxilato, polietilenglicol 4000, fragancia, DTPA, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, ácido palmítico, proteasa, silicona, celulasa.

15 [0349] **Detergente en polvo Ultra Tide HE (high Efficiency), Clean Breeze:** carbonato de sodio, aluminosilicato de sodio, sulfato de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal, agua, nonanoiloxibencenosulfonato, alquil sulfato, poliacrilato de sodio, silicato, percarbonato de sodio, etoxilato, polietilenglicol 4000, fragancia, DTPA, ácido palmítico, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, proteasa, silicona, celulasa.

20 [0350] **Detergente en polvo Ultra Tide Coldwater, Fresh Scent:** carbonato de sodio, aluminosilicato de sodio, sulfato de sodio, percarbonato de sodio, alquil sulfato, sulfonato de alquilbenceno lineal, agua, nonanoiloxibencenosulfonato, poliacrilato de sodio, silicato, etoxilato, polietilenglicol 4000, DTPA, fragancia, Natalase, ácido palmítico, proteasa, disodio, disulfonato de diaminoestilbeno, FD&C Blue 1, silicona, celulasa, alquil éter sulfato.

25 [0351] **Detergente en polvo Ultra Tide con lejía, Clean Breeze:** carbonato de sodio, aluminosilicato de sodio, sulfato de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal, percarbonato de sodio, nonanoiloxibencenosulfonato, alquil sulfato, agua, silicato, poliacrilato de sodio, etoxilato, polietilenglicol 4000, fragancia, DTPA, ácido palmítico, proteasa, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, silicona, FD&C Blue 1, celulasa, alquil éter sulfato.

Detergente en polvo Ultra Tide con Febreze Freshness™, Spring Renewal:

30 [0352] Carbonato de sodio, aluminosilicato de sodio, sulfato de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal, percarbonato de sodio, alquil sulfato, agua, poliacrilato de sodio, silicato, nonanoiloxibencenosulfonato, etoxilato, polietilenglicol 4000, DTPA, fragancia, celulasa, proteasa, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, silicona, FD&C Blue 1.

Tide Plus líquido con Febreze Freshness - Sport HE Active Fresh:

35 [0353] Agua, alcoholetoxi sulfato de sodio, citrato de MEA, sulfonato de alquilbenceno lineal, sal de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal: sal de MEA, alcohol etoxilato, ácidos grasos de sodio, propilenglicol, dietilenglicol, propoxilato etoxilato de polietilenimina, diquaturnium etoxisulfato, etanol, cumeno sulfonato de sodio, bórax, fragancia, DTPA, bisulfato de sodio, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, mananasa, celulasa, amilasa, formiato sódico, formiato de calcio, óxido de lauramina, Liquitint™ Blue, dimeticona/polidimetil silicona.

Tide Plus Febreze Freshness Spring & Renewal:

40 [0354] Agua, sodio alcoholetoxi sulfato, sulfonato de alquilbenceno lineal: sales de sodio/MEA, citrato de MEA, propilenglicol, polietilenimina etoxilato, fragancia, etanol, dietilenglicol, polietilenimina propoxietoxilato, proteasa, sulfato de alcohol, bórax, ácidos grasos de sodio, DTPA, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, MEA, mananasa, gluconasa, formiato sódico, dimeticona, Liquitint™ Blue, tetramina.

45 [0355] **Tide Plus líquido con Febreze Freshness, Sport HE Victory Fresh:** agua, alcoholetoxi sulfato de sodio, citrato de MEA, sulfonato de alquilbenceno lineal, sal de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal: sal de MEA, alcohol etoxilato, ácidos grasos de sodio, propilenglicol, dietilenglicol, propoxilato etoxilato de polietilenimina, diquaturnium etoxisulfato, etanol, cumeno sulfonato de sodio, bórax, fragancia, DTPA, bisulfato de sodio, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, mananasa, celulasa, amilasa, formiato sódico, formiato de calcio, óxido de lauramina, Liquitint™ Blue, dimeticona/polidimetil silicona.

Tide Vivid White + Bright Powder, original:

[0356]

5 Carbonato de sodio, aluminosilicato de sodio, sulfato de sodio, sulfonato de alquilbenceno lineal, percarbonato de sodio, nonanoiloxibencenosulfonato, alquil sulfato, agua, silicato, poliacrilato de sodio etoxilado, polietilenglicol 4000, fragancia, DTPA, ácido palmítico, proteasa, disulfonato de diaminoestilbeno disódico, silicona, FD&C Blue 1, celulasa, alquil éter sulfato.

[0357] Los productos denominados Tide, Ariel, Gain y Fairy son productos disponibles comercialmente suministrados por Procter & Gamble. Los productos denominados Persil son productos disponibles comercialmente suministrados por Unilever y Henkel.

Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Surfactante detergente aniónico (tal como sulfonato de alquilbenceno, alquilsulfato etoxilado y mezclas)	de 8 % en peso a 15 % en peso de los mismos)
Surfactante detergente no iónico (tal como alquil alcohol etoxilado)	de 0,5 % en peso a 4 % en peso
Surfactante detergente catiónico (tal como compuestos de amonio cuaternario)	de 0 a 4 % en peso
Otro surfactante detergente (tal como surfactantes detergentes zwitteriónicos, surfactantes anfotéricos y mezclas de los mismos)	de 0 % en peso a 4 % en peso
Polímero de carboxilato (tal como copolímeros de ácido maleico y ácido acrílico)	de 1 % en peso a 4 % en peso
Polímero de polietilenglicol (tal como un polímero de polietilenglicol que comprende cadenas laterales acetato de polivinilo)	de 0,5 % en peso a 4 % en peso
Polímero de liberación de suciedad de poliéster (tal como los polímeros Repel-o-tex y/o Texcare)	0,1 a 2 % en peso
Polímero celulósico (tal como carboximetilcelulosa, metilcelulosa y combinaciones de los mismos)	de 0,5 % en peso a 2 % en peso
Otro polímero (tal como polímeros de amina, polímeros inhibidores de transferencia de tinte, polímeros derivados de hexametildiamina, y las mezclas de los mismos)	de 0 % en peso a 4 % en peso
Adyuvante de zeolita y adyuvante de fosfato (tal como zeolita 4A y/o tripolifosfato de sodio)	de 0 % en peso a 4 % en peso
Otro adyuvante (tal como citrato sódico y/o ácido cítrico)	de 0 % en peso a 3 % en peso
Sal de carbonato (tal como carbonato de sodio y/o bicarbonato sódico)	de 15 % en peso a 30 % en peso
Sal de silicato (tal como silicato sódico)	de 0 % en peso a 10 % en peso
Relleno (tal como sulfato de sodio y/o bioproductos de relleno)	de 10 % en peso a 40 % en peso
Fuente de oxígeno disponible (tal como percarbonato de sodio)	de 10 % en peso a 20 % en peso
Activador de blanqueo (tal como tetraacetilendiamina (TAED) y/o nonanoiloxibencenosulfonato (NOBS)	de 2 % en peso a 8 % en peso
Catalizador de blanqueo (tal como catalizador de blanqueo a base de oxaziridinio y/o catalizador de blanqueo de metal de transición)	de 0 % en peso a 0,1 % en peso
Otro blanqueador (tal como blanqueador reductor y/o perácido preformado)	de 0 % en peso a 10 % en peso
Quelante (tal como ácido etilenediamino-N'N'-disuccínico (EDDS) y/o ácido hidroxietano difosfónico (HEDP)	de 0,2 % en peso a 1 % en peso
Fotoblanqueador (tal como ftalocianina sulfonada de zinc y/o aluminio)	de 0 % en peso a 0,1

ES 2 699 838 T3

	% en peso
Agente de matizado (tal como direct violet 99, acid red 52, acid blue 80, direct violet 9, solvent violet 13 y cualquier combinación de los mismos)	de 0 % en peso a 1 % en peso
Abrillantador (tal como abrillantador 15 y/o abrillantador 49)	de 0,1 % en peso a 0,4 % en peso
Proteasa (tal como Savinase, Savinase Ultra, Purafect, FN3, FN4 y cualquier combinación de las mismas)	de 0,1 % en peso a 0,4 % en peso
Amilasa (tal como Termamyl, Termamyl ultra Natalase, Optisize, Stainzyme, Stainzyme Plus y cualquier combinación de las mismas)	de 0,05 % en peso a 0,2 % en peso
Celulasa (tal como Carezyme y/o Celluclean)	de 0,05 % en peso a 0,2 % en peso
Lipasa (tal como Lipex, Lipolex, Lipoclean y cualquier combinación de las mismas)	de 0,2 a 1 % en peso
Otra enzima (tal como xiloglucanasa, cutinasa, pectato liasa, mananasa, enzima de blanqueo)	de 0 % en peso a 2 % en peso
Suavizante (tal como arcilla de montmorillonita y/o polidimetilsiloxano (PDMS))	de 0 % en peso a 4 % en peso
Floculante (tal como óxido de polietileno)	de 0 % en peso a 1 % en peso
Supresor de espuma (tal como silicona y/o ácido graso)	de 0 % en peso a 0,1 % en peso
Perfume (tal como microcápsulas de perfume, perfume en espray, armonías de perfume encapsulado en almidón, zeolita cargada de perfume, y cualquier combinación de los mismos)	de 0,1 % en peso a 1 % en peso
Estética (tal como anillos de jabón coloreados y/o manchas/rayas coloreadas)	de 0 % en peso a 1 % en peso
Miscelánea	Equilibrio

Ingrediente	Cantidad
Polímero que contiene el grupo carboxilo (que comprende de aproximadamente 60% a aproximadamente 70% en masa de un monómero basado en ácido acrílico (A); y de aproximadamente 30% a aproximadamente 40%) en masa de un monómero que contiene el grupo ácido sulfónico (B); y donde el peso molecular medio es de aproximadamente 23.000 a aproximadamente 50.000, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 25.000 a aproximadamente 38.000 como se describe en WO2014032269.	de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 1,5 % en peso
Amilasa (Stainzyme Plus(R), con una actividad enzimática de 14 mg de enzima activa / g)	de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso
Surfactante detergente aniónico (tal como alquilbenceno sulfonato, alquilsulfato etoxilado y sus mezclas derivadas)	de aproximadamente 8 % en peso a aproximadamente 15 % en peso
Surfactante detergente no iónico (tal como alquil alcohol etoxilado)	de aproximadamente 0,5 % en peso a 4 % en peso
Surfactante detergente catiónico (tal como compuestos de amonio cuaternario)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 4 % en peso
Otro surfactante detergente (tal como surfactantes detergentes zwitteriónicos, surfactantes anfotéricos y mezclas de los mismos)	de aproximadamente 0 % en peso a 4 % en peso

ES 2 699 838 T3

Polímero de carboxilato (tal como copolímeros de ácido maleico y ácido acrílico)	de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 4 % en peso
Polímero de polietilenglicol (tal como un polímero de polietilenglicol que comprende cadenas laterales de acetato de polivinilo)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 4 % en peso
Polímero de liberación de suciedad de poliéster (tal como los polímeros Repel-O-Tex(R) y/o Texcare(R))	de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 2 % en peso
Polímero celulósico (tal como carboximetilcelulosa, metilcelulosa y combinaciones de los mismos)	de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 2 % en peso
Otro polímero (tal como polímeros de amina, polímeros inhibidores de transferencia de tinte, polímeros derivados de hexametildiamina y mezclas de los mismos)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 4 % en peso
Adyuvante de zeolita y adyuvante de fosfato (tal como zeolita 4A y/o tripolifosfato de sodio)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 4 % en peso
Otro adyuvante (tal como citrato sódico y/o ácido cítrico)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 3 % en peso
Sal de carbonato (tal como carbonato de sodio y/o bicarbonato sódico)	de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 30 % en peso
Sal de silicato (tal como silicato sódico)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 10 % en peso
Relleno (tal como sulfato de sodio y/o bioproductos de relleno)	de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 40 % en peso
Fuente de oxígeno disponible (tal como percarbonato de sodio)	de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 20 % en peso
Activador de blanqueo (tal como tetraacetilendiamina (TAED) y/o nonanoiloxibencenosulfonato (NOBS))	de aproximadamente 2 % en peso a aproximadamente 8 % en peso
Catalizador de blanqueo (tal como catalizador de blanqueo a base de oxaziridinio y/o catalizador de blanqueo de metal de transición)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 0,1 % en peso
Otro blanqueador (tal como blanqueador reductor y/o perácido preformado)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 10 % en peso
Quelante (tal como etilenediamino-N'N'-disuccínico (EDDS) y/o ácido difosfónico de hidroxietano (HEDP))	de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 1 % en peso

ES 2 699 838 T3

	% en peso
Fotoblanqueador (tal como ftalocianina sulfonada de zinc y/o aluminio)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 0,1 % en peso
Agente de matizado (tal como direct violet 99, acid red 52, acid blue 80, direct violet 9, solvent violet 13 y cualquier combinación de los mismos)	de aproximadamente 0 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso
Abrillantador (tal como abrillantador 15 y/o abrillantador 49)	de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 0,4 % en peso
Proteasa (tal como Savinase, Polarzyme, Purafect, FN3, FN4 y cualquier combinación de las mismas, típicamente con una actividad enzimática de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 100 mg de enzima activa/g)	de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 1,5 % en peso
Amilasa (tal como Termamyl(R), Termamyl Ultra(R), Natalase(R), Optimize HT Plus(R), Powerase(R), Stainzyme(R) y cualquier combinación de las mismas, típicamente con una actividad enzimática de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 50 mg de enzima activa / g)	de aproximadamente 0,05 % en peso a aproximadamente 0,2 % en peso
Celulasa (tal como Carezyme(R), Celluzyme(R) y/o Celluclean(R), típicamente con una actividad enzimática aproximadamente de 10 a 50 mg de enzima activa/g)	de aproximadamente 0,05 % en peso a 0,5 % en peso
Lipasa (tal como Lipex(R), Lipolex(R), Lipoclean(R) y cualquier combinación de las mismas, típicamente con una actividad enzimática de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 50 mg de enzima activa/g)	de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 1 % en peso
Otra enzima (tal como xiloglucanasa (por ejemplo, Whitezyme(R)), cutinasa, pectato liasa, mananasa, enzima de blanqueo, típicamente con una actividad enzimática de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 50 mg de enzima activa/g)	de 0 % en peso a 2 % en peso
Suavizante (tal como arcilla de montmorillonita y/o polidimetilsiloxano (PDMS))	de 0 % en peso a 15 % en peso
Floculante (tal como óxido de polietileno)	de 0 % en peso a 1 % en peso
Supresor de espuma (tal como silicona y/o ácido graso)	de 0 % en peso a 0,1 % en peso
Perfume (tal como microcápsula de perfume, perfume en espray, armonías de perfume encapsulado en almidón, zeolita cargada de perfume, y cualquier combinación de los mismos)	de 0,1 % en peso a 1 % en peso
Estética (tal como anillos de jabón coloreados y/o manchas/rayas coloreadas)	de 0 % en peso a 1 % en peso
Miscelánea	Equilibrio

5 [0358] Todos los niveles de enzima se expresan como mg de proteína enzimática activa por 100 g de composición detergente. Los ingredientes surfactantes se pueden obtener de BASF, Ludwigshafen, Alemania (Lutensol(R)); Shell Chemicals, Londres, Reino Unido; Stepan, Northfield, Ill, EE.UU.; Huntsman, Huntsman, Salt Lake City, Utah, EE.UU.; Clariant, Sulzbach, Alemania (Praepagen(R)). El tripolifosfato de sodio puede ser obtenido de Rhodia, París, Francia. Se puede obtener zeolita de Industrial Zeolite (UK) Ltd, Grays, Essex, Reino Unido. El ácido cítrico y el citrato sódico pueden obtenerse de Jungbunzlauer, Basel, Suiza. NOBS es nonanoiloxibencenosulfonato de sodio, suministrado por Eastman, Batesville, Ark., EE.UU.

[0359] TAED es tetraacetiletilendiamina, suministrada bajo la marca Peractive(R) por Clariant GmbH, Sulzbach, Alemania.

10 [0360] El carbonato de sodio y el bicarbonato sódico se pueden obtener de Solvay, Bruselas, Bélgica.

[0361] El poliacrilato y los copolímeros de poliacrilato/maleato se pueden obtener de BASF, Ludwigshafen, Alemania.

Repel-O-Tex(R) se puede obtener de Rhodia, París, Francia.

5 [0362] Texcare(R) se puede obtener de Clariant, Sulzbach, Alemania. El percarbonato de sodio y el carbonato de sodio pueden obtenerse de Solvay, Houston, Tex., EE.UU.

[0363] La sal de Na del ácido etilendiamino-N,N'-disuccínico, isómero (S,S) (EDDS) fue suministrado por Octel, Ellesmere Port, Reino Unido.

[0364] El hidroxietano difosfonato (HEDP) fue suministrado por Dow Chemical, Midland, Mich., EE.UU.

10 [0365] Las enzimas Savinase(R), Savinase(R) Ultra, Stainzyme(R) Plus, Lipex(R), Lipolex(R), Lipoclean(R), Celluclean(R), Carezyme(R), Natalase(R), Stainzyme(R), Stainzyme(R) Plus, Termamyl(R), Termamyl(R) ultra y Mannaway(R) se pueden obtener de Novozymes, Bagsvaerd, Dinamarca.

[0366] Las enzimas Purafect(R), FN3, FN4 y Optisize se pueden obtener de Genencor International Inc., Palo Alto, California, EE.UU.

15 [0367] Se pueden obtener Direct violet 9 y 99 de BASF DE, Ludwigshafen, Alemania. Se puede obtener Solvent Violet 13 de Ningbo Lixing Chemical Co., Ltd. Ningbo, Zhejiang, China. Los abrillantadores pueden obtenerse de Ciba Specialty Chemicals, Basel, Suiza. Todos los porcentajes y las proporciones se calculan en peso a menos que se indique lo contrario. Todos los porcentajes y las proporciones están calculadas en base a la composición total a menos que se indique lo contrario. Se debe entender que cada limitación numérica máxima dada en toda esta especificación incluye todas las limitaciones numéricas inferiores, como si tales limitaciones numéricas inferiores estuvieran escritas expresamente en la presente. Cada limitación numérica mínima dada en toda esta especificación incluirá cada limitación numérica superior, como si tales limitaciones numéricas superiores estuvieran escritas expresamente en la presente. Cada intervalo numérico dado en toda esta especificación incluirá cada intervalo numérico más estrecho que cae dentro de tal intervalo numérico más amplio, como si tales intervalos numéricos más estrechos estuvieran todos escritos expresamente en la presente.

20

25 **Composiciones detergentes para lavavajillas**

Cascade Platinum® Action Pacs® y Cascade Complete® Action Pacs®

30 [0368] Carbonato de sodio, percarbonato de sodio, silicato sódico, poliacrilato modificado, ácido metilglicina diacético (sal trisódica), sulfato de sodio, proteasa, amilasa, alcoxilato de alcohol, polietilenglicol, hidrocincita, sal de cobalto de amina, agua, perfumes, alcoxilato de alcohol, Trideceth-n, dipropilenglicol, agua, glicerina, Acid Red #33 y/o FD&C Yellow #5 y/o Acid Blue 182 y/o Dye Reactive Green 12.

Cascade® Action Pacs®

35 [0369] Percarbonato de sodio, silicato sódico, poliacrilato modificado, ácido metilglicina diacético (sal trisódica), sulfato de sodio, proteasa, amilasa, alcoxilato de alcohol, polietilenglicol, hidrocincita, sal de cobalto de amina, agua, perfumes, alcoxilato de alcohol, Trideceth-n, dipropilenglicol, agua, glicerina, Acid Red #33 y/o FD&C Yellow #5 y/o Acid Blue 182 y/o Dye Reactive Green 12.

Cascade en gel

[0370] Agua, silicato sódico, poliacrilato de sodio, hipoclorito sódico, carbonato de sodio, sulfato de sodio, benzoato sódico, hidróxido sódico, poliacrilato reticulado, carbonato de zinc, ácido nítrico, varios perfumes.

Cascade Complete® en gel

40 [0371] Agua, diacetato de glutamato de tetrasodio, bicarbonato sódico, ácido cítrico, silicato sódico, poliacrilato modificado, goma xantana, polietilenimina (sulfonatada), alcoxilatos de alcohol, sulfato de zinc, cloruro de calcio, proteasa, amilasa, benzoato sódico, Proxel GXL, Liquitint™ Bright Yellow y/o Liquitint™ Bright Brilliant Orange y/o Direct Blue 086, perfume.

Cascade® en polvo

[0372] Carbonato de sodio, sulfato de sodio, agua, silicato sódico, percarbonato de sodio, poliacrilato modificado, alcoxilato de alcohol, polietilenglicol, hidrocincita, sal de cobalto de amina, proteasa, amilasa, perfumes.

Cascade Dishwasher Detergent®

5 [0373] Ácido cítrico, alcoxilatos de alcohol, sílice, Acid Blue 182, perfumes, alcoxilatos de alcohol, dipropilenglicol, Trideceth-n, agua, glicerina, Acid Blue 182.

Fairy líquido

10 [0374] Agua, laureth sulfato de sodio, alcohol desnaturalizado, óxido de lauramina, pareth-8 C9-11, cloruro sódico, 1,3-ciclohexanodimetanamina, PPG (polipropilenglicoles), citrato de copolímero de dimetil aminoetil metacrilato/hidroxipropil acrilato, perfume, geraniol, limoneno, colorante.

Lavavajillas Fairy Professional Todo en uno limón

[0375] >30% fosfatos; 5-15% surfactantes no iónicos, agentes blanqueadores a base de oxígeno; <5% fosfonatos, policarboxilatos; enzimas, perfumes, citronelol, limoneno, linalool.

Pastillas lavavajillas Fairy Professional Todo en uno original

15 [0376] >30% fosfatos; 5-15% surfactantes no iónicos, agentes de blanqueo a base de oxígeno; <5% policarboxilatos; enzimas; perfumes, geraniol.

Lavavajillas Fairy Professional Todo en uno Platinum

[0377] >30% fosfatos; 5-15% surfactantes no iónicos, agentes blanqueantes a base de oxígeno, policarboxilatos; <5% fosfonatos; enzimas, perfumes, citronelol, limoneno, linalool.

20 **Pastillas Fairy Professional Powder Bursts**

[0378] >30% fosfatos; 5-15% agentes de blanqueo a base de oxígeno; <5% surfactantes no iónicos, policarboxilatos; enzimas, perfumes, y o bien (A) citrol, limoneno, linalool o bien (B) geraniol, limoneno.

Detergente líquido Fairy Professional original y detergente líquido Fairy Professional original limón y detergente líquido Fairy Professional Extra Clean

25 [0379] 15-30% surfactantes aniónicos; 5-15% surfactantes no iónicos; fenoxietanol, metilisotiazolinona, perfume.

Detergente líquido Fairy Professional Antibacterial

[0380] 15-30% surfactantes aniónicos; 5-15% surfactantes no iónicos; metilisotiazolinona, fenoxietanol; desinfectantes, perfumes, limoneno, citronelol.

Detergente para lavavajillas automático Cascade Professional

30 [0381] 15-40% carbonato de sodio; 1-5% peroxihidrato de carbonato de sodio; 1-5% silicato sódico.

Detergente lavavajillas Bistro 141

[0382] 1-5% hidróxido de sodio; 1-5% hidróxido de potasio; 5-15% tripolifosfato de potasio; 5-15% metasilicato disódico, pentahidratado; 1-5% EDTA de tetrasodio; < 5% policarboxilatos.

Detergente lavavajillas Bistro 741

35 [0383] 5-15% hidróxido sódico; 1-5% 2-fosfonobutan-1,2,4-ácido tricarbóxico; < 5% fosfatos; < 5% policarboxilatos.

Detergente lavavajillas Bistro 742

[0384] 5-15% hidróxido de potasio; 5-15% silicato de potasio; 1-5% metasilicato disódico, pentahidratado; 1-5% carbonato de sodio; 5-15% fosfatos; < 5% surfactantes aniónicos; < 5% fosfonatos; < 5% policarboxilatos.

Detergente lavavajillas Bistro 743

- 5 [0385] 30-60% carbonato de sodio; 5-15% metasilicato disódico, pentahidratado; 5-15% percarbonato de sodio; 5-15% silicato sódico; 1-5% alcoxilato de alcohol graso; 5-15% fosfatos; 5-15% blanqueadores a base de oxígeno; < 5% tensioactivos no iónicos; < 5% policarboxilatos; < 1% enzimas.

Detergente lavavajillas Bistro CL 341

- 10 [0386] 15-30% hipoclorito de sodio; 5-15% hidróxido de potasio; 5-15% tripolifosfato de potasio; 5-15% metasilicato disódico, pentahidratado; 1-5% hidróxido sódico; < 5% policarboxilatos.

Detergente lavavajillas Bistro Glas 345

[0387] 5-15% metasilicato disódico, pentahidratado; 1-5% hidróxido potásico; 1-5% tripolifosfato de potasio; 1-5% caprillil limino dipropionato de sodio; 1-5% alcoxilato de alcohol graso; < 1% sulfato de zinc monohidratado.

Detergente lavavajillas Suma Nova L6

- 15 [0388] 10-20% EDTA de tetrasodio; 10-20% hidróxido sódico.

Detergente lavavajillas Suma Revoflow Max P2

[0389] 50-75% hidróxido sódico.

Detergente lavavajillas Suma Alu Free L10

[0390] 10-20% metasilicato de dipotasio.

- 20 **Detergente lavavajillas Suma Blend L7**

[0391] 10- 20% metasilicato de disodio/dipotasio; 1-3% hipoclorito sódico; 1-3% hidróxido potásico.

Detergente lavavajillas y abrillantador Suma Combi+ LA6

[0392] 10-20% etilendiaminotetraacetato tetrasódico; 10-20% hidróxido sódico.

Detergente lavavajillas Topmatic Clean

- 25 [0393] 5-10% hidróxido sódico.

Detergente lavavajillas sin cloro Apex

[0394] >60% carbonato de sodio; <10% alcoholes, c13-15-ramificados y lineales, etoxilados butoxilados.

Detergente lavavajillas Apex Metal Protection

[0395] < 10% cloruro de zinc; < 10% hidróxido sódico.

- 30 **Detergente lavavajillas Apex Power Plus**

[0396] < 60% carbonato de sodio; < 10% metasilicato disódico; < 10% sodio de trocloseno, dihidratado; < 10% ácido fosfónico, (1-hidroxietiliden)bis-, sal de potasio.

Detergente lavavajillas Apex Ultra LW

[0397] 30-60% carbonato de sodio; < 10% trocloseno de sodio, dihidratado; < 10% metasilicato de disodio.

5 [0398] Los productos denominados Cascade y Fairy son productos disponibles comercialmente suministrados por Procter & Gamble. Los productos denominados Bistro son productos disponibles comercialmente suministrados por Novadan. Los productos denominados Suma son productos disponibles comercialmente suministrados por Diversey. Los productos denominados Topmatic y Apex son productos disponibles comercialmente suministrados por Ecolab.

Ensayos enzimáticos**Ensayo I**

Pueba de la actividad de DNasa

10 [0399] La actividad de DNasa se determinó en DNase Test Agar con verde de metilo (BD, Franklin Lakes, NJ, EE.UU.), que se preparó según el manual del proveedor. Brevemente, 21 g de agar se disolvieron en 500 ml de agua y luego se autoclavó durante 15 min a 121°C. El agar autoclavado se templó a 48°C en un baño de agua, y se vertieron 20 ml de agar en placas de Petri y se dejó solidificar mediante incubación toda la noche a temperatura ambiente. En las placas de agar solidificadas, se agregan 5 µl de soluciones de enzima, y se observa la actividad de
15 DNasa como zonas incolores alrededor de los puntos de las soluciones de enzima.

Ensayo II

Análisis de E-2-nonenal en tejidos utilizando una nariz electrónica

[0400] Una manera de examinar la presencia de mal olor en tejidos es mediante el uso de E-2-nonenal como un marcador del mal olor, ya que este compuesto contribuye al mal olor en la ropa.

20 [0401] Añadir una solución de E-2-nonenal a una muestra textil de 5 cm x 5 cm y colocar la muestra en un frasco de vidrio de 20 ml para un análisis de GC y tapar el frasco. Analizar un espacio de aire de 5 ml de los frascos tapados en una nariz electrónica Heracle II de Alpha M.O.S., Francia (cromatógrafo de gas de doble columna con 2 FIDs, columna 1: MXT5 y columna 2: MXT1701) después de 20 minutos de incubación a 40°C.

Ejemplos**25 Ejemplo 1****Prevención de la adhesión y la formación de biopelículas en superficies pertinentes para el lavado de ropa y el lavado de vajilla**

[0402] En el presente estudio, se usó una cepa de *Brevundimonas* sp. La *Brevundimonas* sp. se precultivó en agar de triptona de soja (TSA) (pH 7,3) (CM0131; Oxoid Ltd, Basingstoke, Reino Unido) durante 2-5 días a 30°C. A partir de una colonia individual, se transfirió un asa de siembra cargada a 10 ml de TSB (caldo de triptona de soja, Oxoid) y se incubó durante 1 día a 30°C con agitación (240 rpm). Después de la propagación, *Brevundimonas* sp. se sedimentó mediante centrifugación (centrifugadora de laboratorio Sigma 6K15) (3000 g a 21°C durante 7 min) y se resuspendió en 10 ml de TSB diluido dos veces con agua. La densidad óptica (OD) a 600 nm se midió utilizando un espectrofotómetro (POLARstar Omega, BMG Labtech, Ortenberg, Alemania). El TSB fresco diluido dos veces con
30 agua se inoculó hasta una OD_{600nm} de 0,03, y se añadieron 3 ml en cada pocillo de una microplaca de 12 pocillos de fondo plano de poliestireno (3512; Corning Incorporated, Corning, NY, EE.UU.), donde se colocaron muestras de acero (RD128-316), PVC (RD128-PVC), caucho (RD128-Si), porcelana (RD128-PL) y vidrio (RD128-GL) (todos obtenidos de Biosurface Technologies Corporation, Bozeman, MT, EE.UU.). Diez ppm de DNasa de *Aspergillus oryzae* (SEQ ID N.º: 2), *Trichoderma harizianum* (SEQ ID N.º: 5), y *Bacillus licheniformis* (SEQ ID N.º: 7),
35 respectivamente, se añadieron a los pocillos que contenían las muestras y *Brevundimonas* sp. Los pocillos que contenían las muestras y *Brevundimonas* sp. y que no contenían DNasa se incluyeron como controles. Tras la incubación (72 h a 37°C), las células no adherentes se eliminaron enjuagando las muestras dos veces con 0,9% de NaCl (p/v). Las células adherentes se visualizaron añadiendo 3 ml de de violeta cristal (C0775; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) al 0,1% (p/v) y se dejaron durante 15 min a temperatura ambiente. Las muestras se lavaron dos
40 veces con 0,9% (p/v) y se movieron a una nueva microplaca de 12 pocillos de fondo plano de poliestireno. El violeta cristal unido se eluyó mediante la adición de 3 ml de etanol al 96% (p/v) (201145; Kemetyl, Køge, Dinamarca) y se determinó midiendo la absorbancia a 595 nm.
45

Tabla 1. Prevención de la adhesión y la formación de biopelículas en acero, PVC, caucho, porcelana y vidrio.

	Biopelícula (%)				
	Acero	PVC	Caucho	Porcelana	Vidrio
Control (DNasa no añadida)	100	100	100	100	100
DNasa de <i>Aspergillus oryzae</i>	36	36	11	22	70
DNasa de <i>Trichoderma harzianum</i>	52	49	14	47	87
DNasa de <i>Bacillus licheniformis</i>	34	24	4	30	64

Ejemplo 2

Reducción mediada por DNasa de la pegajosidad de biopelículas en superficies de plástico

[0403] La *Brevundimonas* sp. usada en el ejemplo 1 también se usó en el presente estudio, en el que se precluyó según el procedimiento descrito en el ejemplo 1. Después de la propagación, el cultivo de *Brevundimonas* sp. se diluyó 100 veces en TSB. Se añadieron 125 µl del cultivo diluido 100 veces a cada pocillo de una placa de poliestireno de 96 pocillos con superficie Nunclon Delta (Thermo Scientific, #167008). La placa se incubó a 15 °C durante 3 días para permitir el crecimiento de biopelículas. El medio se eliminó de los pocillos y los pocillos se enjuagaron añadiendo 300 µl de agua milliQ. Después se aspiró el agua. Se añadieron a cada pocillo 150 µl de 0,1 ppm o 0,3 ppm de DNasa de *Aspergillus oryzae* (SEQ ID N.º: 2) diluida en el detergente del modelo A (modelo de detergente A) suplementado con 0,7 g/l de suciedad de pigmento (Pigmentschmutz 09V, wfk, Krefeld, Alemania). La solución de detergente del modelo A (la solución de lavado) se preparó con agua con una dureza de 15 °dH. Como control, se añadieron 150 µl de detergente del modelo A suplementado con 0,7 g/l de suciedad de pigmento sin DNasa. La placa se incubó durante 1 hora a 30 °C con agitación (800 rpm). Después se aspiró la solución de lavado de cada pocillo. La cantidad de suciedad adherida a la biopelícula en el fondo de los pocillos se cuantificó con un sistema de imágenes DigiEye (VeriVide) y los valores proporcionados son valores L en el espacio de color Lab.

Tabla 2. Pegajosidad reducida de biopelículas en una superficie de plástico con DNasa

Concentración de DNasa (ppm)	valor L	valor L (con DNasa) - valor L (sin DNasa)
0	77,78	
0,1	81,21	3,43
0,3	83,00	5,22

[0404] El presente estudio demuestra que la DNasa de *Aspergillus oryzae* descrita en la presente formulada en una composición detergente es capaz de reducir la pegajosidad de biopelículas en superficies de plástico y se deposita menos suciedad en la superficie.

Ejemplo 3

Eliminación de superficies de plástico mediada por DNasa

[0405] La *Brevundimonas* sp. usada en el ejemplo 1 también se usó en el presente estudio, en el que se precluyeron según el procedimiento descrito en el ejemplo 1. Después de la propagación, el

[0406] cultivo de *Brevundimonas* sp. se diluyó 1000 veces en TSB. Se añadieron 125 µl del cultivo diluido 1000 veces a cada pocillo de una placa de poliestireno de 96 pocillos con superficie Nunclon Delta (Thermo Scientific, #167008). La placa se incubó a 15 °C durante 2 días para permitir el crecimiento de biopelículas. El medio se eliminó de los pocillos y los pocillos se enjuagaron añadiendo 300 µl de agua milliQ. Después se aspiró el agua. Se añadieron a cada pocillo 150 µl de 0,03 ppm, 0,1 ppm, 0,3 ppm o 1 ppm de DNasa de *Aspergillus oryzae* (SEQ ID N.º: 2) diluida en agua. Como control, se añadieron 150 µl de agua milliQ pura sin DNasa. La placa se incubó a 30 °C durante 1 hora con agitación (1000 rpm). Las soluciones de enzima se aspiraron y se añadieron 300 µl de agua milliQ para enjuagar los pocillos. El agua se aspiró, se añadieron 150 µl de violeta cristal (C0775; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) al 0,1 % (p/v) a cada pocillo para manchar la biopelícula restante y la placa se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El violeta cristal se eliminó y se añadieron 300 µl de agua milliQ para enjuagar los pocillos. El agua se aspiró, se añadieron 150 µl de etanol al 96 % (201145; Kemetyl, Køge, Dinamarca) a cada pocillo para disolver el violeta cristal y la placa se incubó a 25 °C durante 30 minutos con agitación (800 rpm). La cantidad de violeta cristal se cuantificó midiendo la absorbancia a 595 nm (POLARstar Omega, BMG Labtech, Ortenberg, Germany).

Tabla 3. Eliminación de biopelículas de superficies de plástico con DNasa

Concentración de DNasa (ppm)	Abs _{590nm}	Abs _{590nm} (sin DNasa)-Abs _{590nm} (con DNasa)
0	1,263	
0,03	1,062	0,201
0,1	1,003	0,260
0,3	0,953	0,310
1	0,858	0,405

[0407] El presente estudio demuestra que la DNasa de *Aspergillus oryzae* descrita en la presente es capaz de eliminar biopelículas de una superficie de plástico.

Ejemplo 4

5 [0408] En el presente estudio, se usaron una cepa de *Brevundimonas* sp., una cepa de *Pseudomonas fluorescens* (*Pseudomonas* 1) y una cepa de *Pseudomonas alcaliphila* (*Pseudomonas* 2).

10 [0409] Las tres cepas bacterianas se precultivaron en agar de triptona de soja (TSA) (pH 7,3) (CM0131; Oxoid Ltd, Basingstoke, Reino Unido) durante 2-5 días a 30°C. A partir de una colonia individual, se transfirió un asa de siembra cargada a 10 ml de TSB (caldo de triptona de soja, Oxoid) y se incubó durante 1 día a 30°C con agitación (240 rpm). Tras la propagación, las tres cepas bacterianas se sedimentaron mediante centrifugación (centrifugadora de laboratorio Sigma 6K15) (3000 g a 21°C durante 7 min). *Brevundimonas* sp. se resuspendió en 10 ml de TSB diluido dos veces con agua, mientras que *P. fluorescens* y *P. alcaliphila* se diluyeron en TSB no diluido. Se midió la densidad óptica (OD) a 600 nm utilizando un espectrofotómetro (POLARstar Omega, BMG Labtech, Ortenberg, Alemania). El TSB fresco diluido dos veces con agua se inoculó hasta una OD_{600nm} de 0,03 con *Brevundimonas* sp., mientras que el TSB no diluido fresco se inoculó hasta una OD_{600nm} de 0,03 con *P. fluorescens* y *P. alcaliphila*, respectivamente. Se añadieron 100 µl en cada pocillo de una microplaca de 96 pocillos de fondo plano de poliestireno (161093; Nunc, Roskilde, Dinamarca). Las placas con *Brevundimonas* sp. se incubaron durante 24 h y 48 h a 15°C. Las placas con *P. fluorescens* y *P. alcaliphila* se incubaron durante 48 h a 30°C.

20 [0410] Tras la incubación, las células no adherentes se eliminaron lavando dos veces con 0,9% de NaCl (p/v) (Merck). Las células adherentes se trataron con 200 µl de tres modelos de detergente de lavavajillas automático (LVA) en polvo y un modelo de detergente líquido.

25 [0411] El modelo A de LVA (con percarbonato y con TAED) que contiene MGDA (29%), citrato sódico (17%), carbonato de sodio (17%), percarbonato de sodio (10%), silicato sódico (5%), sulfato de sodio (10%), Acusol 588G (5%), TAED (3%) y Surfacc 23-6.5 (4%) se preparó disolviendo 3,94 g en 1000 ml de agua con una dureza de 15 °dH.

[0412] El modelo A1 de LVA (con percarbonato y sin TAED) que contiene MGDA (30%), citrato sódico (18%), carbonato de sodio (18%), percarbonato de sodio (10%), silicato sódico (5%), sulfato de sodio (11%), Acusol 588G (5%) y Surfacc 23-6.5 (4%) se preparó disolviendo 3,83 g en 1000 ml de agua con una dureza de 15 °dH.

30 [0413] El modelo A2 de LVA (sin percarbonato y sin TAED) que contiene MGDA (33%), citrato sódico (20%), carbonato de sodio (20%), silicato sódico (6%), sulfato de sodio (12%), Acusol 588G (5%) y Surfacc 23-6.5 (5%) se preparó disolviendo 3,45 g en 1000 ml de agua con una dureza de 15 °dH.

[0414] El detergente líquido LVA que contiene Na-citrato (2,9%), Na-formiato (0,2%), GLDA (28,7%), HEDP (0,3%), polímero PCA (1,0%), agua (9,6%), HCl al 37 % p/p (5,2%), 10M HCl (3,7%) y NaOH (0,2%) se preparó disolviendo 3,70 g en 1000 ml de agua con una dureza de 15 °dH.

35 [0415] Todos los tratamientos se realizaron a 45°C durante 30 y 60 min. Los detergentes LVA se eliminaron y los pocillos se enjuagaron dos veces con 0,9% de NaCl (p/p). Para cuantificar las células adherentes, se añadieron 200 µl de violeta cristal (C0775; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) al 0,1% (p/v) y se dejaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Los pocillos se lavaron dos veces con NaCl al 0,9% (p/v), y el violeta cristal añadido se eluyó mediante adición de 200 µl de etanol al 96% (p/v) (201145; Kemetyl, Køge, Dinamarca) y se determinó midiendo a 595 nm.

40

ES 2 699 838 T3

Detergente	Cepa	Edad de la biopelícula (h)	Tiempo de lavado (h)	OD _{595nm} DNasa sin	OD _{595nm} DNasa con	Reducción de biopelícula (%)
Modelo de LVA A	Brevundimonas	24	0,5	0,704	0,576	18
	Brevundimonas	24	1	0,773	0,602	22
	Brevundimonas	48	0,5	0,647	0,394	39
	Brevundimonas	48	1	0,599	0,461	23
	Pseudomonas 1	48	0,5	0,243	0,226	7,3
	Pseudomonas 1	48	1	-	-	-
	Pseudomonas 2	48	0,5	-	-	-
	Pseudomonas 2	48	1	-	-	-
Modelo de LVA A1	Brevundimonas	24	0,5	0,654	0,454	31
	Brevundimonas	24	1	0,564	0,404	28
	Brevundimonas	48	0,5	0,534	0,404	24
	Brevundimonas	48	1	0,473	0,570	25
	Pseudomonas 1	48	0,5	-	-	-
	Pseudomonas 1	48	1	0,358	0,264	26
	Pseudomonas 2	48	0,5	0,205	0,168	18
	Pseudomonas 2	48	1	0,194	0,178	8,2
Modelo de LVA A2	Brevundimonas	24	0,5	0,546	0,428	22
	Brevundimonas	24	1	0,381	0,316	17
	Brevundimonas	48	0,5	0,616	0,418	32
	Brevundimonas	48	1	0,338	0,272	20
	Pseudomonas 1	48	0,5	0,311	0,224	28
	Pseudomonas 1	48	1	-	-	-
	Pseudomonas 2	48	0,5	0,173	0,158	8,5
	Pseudomonas 2	48	1	-	-	-
LVA líquido	Brevundimonas	24	0,5	0,652	0,547	16
	Brevundimonas	24	1	-	-	-
	Brevundimonas	48	0,5	0,522	0,501	4,0
	Brevundimonas	48	1	0,459	0,441	10
	Pseudomonas 1	48	0,5	-	-	-
	Pseudomonas 1	48	1	0,295	0,248	16
	Pseudomonas 2	48	0,5	0,213	0,196	7,9
	Pseudomonas 2	48	1	0,260	0,208	20

LISTADO DE SECUENCIAS

[0416]

<110> Novozymes A/S
<120> Uso de polipéptido
<130> 12950-WO-PCT
<140> -
5 <141> 2015-04-29
<160> 8
<170> versión de PatentIn 3.5
<210> 1
<211> 910
10 <212> ADN
<213> *Aspergillus oryzae*
<220>
<221> exón
<222> (1)..(242)
15 <220>
<221> Intrón
<222> (243)..(308)
<220>
<221> exón
20 <222> (309)..(494)
<220>
<221> Intrón
<222> (495)..(555)
25 <220>
<221> exón
<222> (556)..(714)
<220>
<221> Intrón
<222> (715)..(765)
30 <220>
<221> exón
<222> (766)..(907)
<220>
<221> Intrón
35 <222> (908)..(910)
<400> 1

ES 2 699 838 T3

atg	cag	ctt	act	aag	tcc	ctc	ctg	gta	ttc	gcg	ctt	tac	atg	ttt	ggc	48
Met	Gln	Leu	Thr	Lys	Ser	Leu	Leu	Val	Phe	Ala	Leu	Tyr	Met	Phe	Gly	
1				5					10					15		
act	cag	cac	gtt	cta	gct	gtg	cct	gtc	aat	ccc	gag	cct	gat	gct	acg	96
Thr	Gln	His	Val	Leu	Ala	Val	Pro	Val	Asn	Pro	Glu	Pro	Asp	Ala	Thr	
			20					25					30			
agc	gtc	gaa	aat	gtt	gcc	ctt	aaa	aca	ggc	agc	ggt	gat	agc	cag	agc	144

ES 2 699 838 T3

Ser Val Glu Asn Val Ala Leu Lys Thr Gly Ser Gly Asp Ser Gln Ser
35 40 45

gat ccc atc aag gcg gac ttg gag gtc aaa ggc caa agt gct ttg cct 192
Asp Pro Ile Lys Ala Asp Leu Glu Val Lys Gly Gln Ser Ala Leu Pro
50 55 60

ttc gac gtc gac tgc tgg gct atc ctg tgc aag ggc gcc ccg aat gtc 240
Phe Asp Val Asp Cys Trp Ala Ile Leu Cys Lys Gly Ala Pro Asn Val
65 70 75 80

ct gtatgtcttc ctttattgaa gctcttgatg tggcttgtat gtttgactaa 292
Leu

tatatcgcac ccttag g cag cgc gtg aat gaa aag acg aaa aat agt aat 342
Gln Arg Val Asn Glu Lys Thr Lys Asn Ser Asn
85 90

cgc gat cgg agc ggt gcg aac aaa ggg cct ttc aaa gat cct cag aaa 390
Arg Asp Arg Ser Gly Ala Asn Lys Gly Pro Phe Lys Asp Pro Gln Lys
95 100 105

tgg ggc atc aaa gcc ctt cca cct aag aat cca tcc tgg agc gca caa 438
Trp Gly Ile Lys Ala Leu Pro Pro Lys Asn Pro Ser Trp Ser Ala Gln
110 115 120

gac ttc aaa tca ccc gaa gaa tac gca ttt gcg tct tcc ctt caa ggc 486
Asp Phe Lys Ser Pro Glu Glu Tyr Ala Phe Ala Ser Ser Leu Gln Gly
125 130 135 140

gga acc aa gtatgctaag atcatcactg cttcaatcaa tgtgttgtaa 534
Gly Thr Asn

gctgactccg atgtgaccaa g t gcc atc cta gcg ccc gtc aac ctc gct tct 586
Ala Ile Leu Ala Pro Val Asn Leu Ala Ser
145 150

cag aac tcc caa ggc ggc gtc ttg aac ggt ttc tac tcg gcg aac aaa 634
Gln Asn Ser Gln Gly Gly Val Leu Asn Gly Phe Tyr Ser Ala Asn Lys
155 160 165

gta gca caa ttt gat cct agc aag ccc caa cag aca aag gga aca tgg 682
Val Ala Gln Phe Asp Pro Ser Lys Pro Gln Gln Thr Lys Gly Thr Trp
170 175 180 185

ttt cag atc act aag ttc aca ggt gca gct gg gtaagaactt ccagtacat 734
Phe Gln Ile Thr Lys Phe Thr Gly Ala Ala Gly
190 195

ggtcatatgc aatttactaa gaaaatacta g t cct tac tgc aag gct ctg ggc 787
Pro Tyr Cys Lys Ala Leu Gly
200

agt aat gat aag agt gtg tgc gat aag aac aag aat att gca ggc gac 835
Ser Asn Asp Lys Ser Val Cys Asp Lys Asn Lys Asn Ile Ala Gly Asp
205 210 215

tgg ggc ttc gac ccg gcg aaa tgg gca tat cag tat gat gag aag aat 883
Trp Gly Phe Asp Pro Ala Lys Trp Ala Tyr Gln Tyr Asp Glu Lys Asn
220 225 230 235

aac aag ttc aac tat gtt ggt aag taa 910
Asn Lys Phe Asn Tyr Val Gly Lys
240

<210> 2
<211> 243
<212> PRT
<213> *Aspergillus oryzae*

5 <220>
<221> SEÑAL
<222> (1)..(22)

10 <220>
<221> PROPÉP
<222> (23)..(37)

<220>
<221> PÉPTIDO
<222> (38)..(243)

<400> 2

ES 2 699 838 T3

Met Gln Leu Thr Lys Ser Leu Leu Val Phe Ala Leu Tyr Met Phe Gly
 1 5 10 15

Thr Gln His Val Leu Ala Val Pro Val Asn Pro Glu Pro Asp Ala Thr
 20 25 30

Ser Val Glu Asn Val Ala Leu Lys Thr Gly Ser Gly Asp Ser Gln Ser
 35 40 45

Asp Pro Ile Lys Ala Asp Leu Glu Val Lys Gly Gln Ser Ala Leu Pro
 50 55 60

Phe Asp Val Asp Cys Trp Ala Ile Leu Cys Lys Gly Ala Pro Asn Val
 65 70 75 80

Leu Gln Arg Val Asn Glu Lys Thr Lys Asn Ser Asn Arg Asp Arg Ser
 85 90 95

Gly Ala Asn Lys Gly Pro Phe Lys Asp Pro Gln Lys Trp Gly Ile Lys
 100 105 110

Ala Leu Pro Pro Lys Asn Pro Ser Trp Ser Ala Gln Asp Phe Lys Ser
 115 120 125

Pro Glu Glu Tyr Ala Phe Ala Ser Ser Leu Gln Gly Gly Thr Asn Ala
 130 135 140

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

Leu Asn Gly Phe Tyr Ser Ala Asn Lys Val Ala Gln Phe Asp Pro Ser
 165 170 175

Lys Pro Gln Gln Thr Lys Gly Thr Trp Phe Gln Ile Thr Lys Phe Thr
 180 185 190

Gly Ala Ala Gly Pro Tyr Cys Lys Ala Leu Gly Ser Asn Asp Lys Ser
 195 200 205

Val Cys Asp Lys Asn Lys Asn Ile Ala Gly Asp Trp Gly Phe Asp Pro
 210 215 220

Ala Lys Trp Ala Tyr Gln Tyr Asp Glu Lys Asn Asn Lys Phe Asn Tyr
 225 230 235 240

Val Gly Lys

- 5 <210> 3
- <211> 204
- <212> PRT
- <213> Aspergillus oryzae

ES 2 699 838 T3

<220>
 <221> PÉPTIDO
 <222> (1)..(204)

<400> 3

Lys Thr Gly Ser Gly Asp Ser Gln Ser Asp Pro Ile Lys Ala Asp Leu
 1 5 10 15

Glu Val Lys Gly Gln Ser Ala Leu Pro Phe Asp Val Asp Cys Trp Ala
 20 25 30

Ile Leu Cys Lys Gly Ala Pro Asn Val Leu Gln Arg Val Asn Glu Lys
 35 40 45

Thr Lys Asn Ser Asn Arg Asp Arg Ser Gly Ala Asn Lys Gly Pro Phe
 50 55 60

Lys Asp Pro Gln Lys Trp Gly Ile Lys Ala Leu Pro Pro Lys Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Trp Ser Ala Gln Asp Phe Lys Ser Pro Glu Glu Tyr Ala Phe Ala
 85 90 95

5 Ser Ser Leu Gln Gly Gly Thr Asn Ala Ile Leu Ala Pro Val Asn Leu

100 105 110

Ala Ser Gln Asn Ser Gln Gly Gly Val Leu Asn Gly Phe Tyr Ser Ala
 115 120 125

Asn Lys Val Ala Gln Phe Asp Pro Ser Lys Pro Gln Gln Thr Lys Gly
 130 135 140

Thr Trp Phe Gln Ile Thr Lys Phe Thr Gly Ala Ala Gly Pro Tyr Cys
 145 150 155 160

Lys Ala Leu Gly Ser Asn Asp Lys Ser Val Cys Asp Lys Asn Lys Asn
 165 170 175

Ile Ala Gly Asp Trp Gly Phe Asp Pro Ala Lys Trp Ala Tyr Gln Tyr
 180 185 190

Asp Glu Lys Asn Asn Lys Phe Asn Tyr Val Gly Lys
 195 200

10 <210> 4
 <211> 868
 <212> DNA
 <213> Trichoderma harzianum

ES 2 699 838 T3

<220>
<221> exón
<222> (1)..(75)

5 <220>
<221> Intrón
<222> (76)..(154)

<220>
<221> exón
<222> (155)..(288)

10 <220>
<221> Intrón
<222> (289)..(362)

15 <220>
<221> exón
<222> (363)..(519)

<220>
<221> Intrón
<222> (520)..(615)

20 <220>
<221> exón
<222> (616)..(867)

<400> 4

atg aag ctg tcc atc tct gtc gct ctt act tcg gcc atc gcg gtt ctc

48

ES 2 699 838 T3

Met Lys Leu Ser Ile Ser Val Ala Leu Thr Ser Ala Ile Ala Val Leu
 1 5 10 15

gcc gcc ccg gct cct atg cct aca ccg gtagtagca tcaatgcaac 95
 Ala Ala Pro Ala Pro Met Pro Thr Pro
 20 25

atgacataac ttgtatctcg actatatatc agactggcta atgcttcaac tcattacag 154

ccc ggt att ccc acg gaa agc agc gcc aga acc caa ctt gcc ggc ctg 202
 Pro Gly Ile Pro Thr Glu Ser Ser Ala Arg Thr Gln Leu Ala Gly Leu
 30 35 40

act gtt gcc gtt gct ggc tct gga act ggt tac tcc cgc gac ctg ttt 250
 Thr Val Ala Val Ala Gly Ser Gly Thr Gly Tyr Ser Arg Asp Leu Phe
 45 50 55

ccc act tgg gat gcc atc tct ggt aac tgc aac gct cg gtaggataac 298
 Pro Thr Trp Asp Ala Ile Ser Gly Asn Cys Asn Ala Arg
 60 65 70

atcctaggac ctttcaagct tcggaaatac aacacaaagg ctaacaaagt ggatgtgcaa 358

atag c gaa tat gtg ttg aag cga gat ggt gaa ggt gtc caa gtc aac 405
 Glu Tyr Val Leu Lys Arg Asp Gly Glu Gly Val Gln Val Asn
 75 80

aat gct tgt gaa tct cag tcc ggc acc tgg atc aga tcc tta tga caa 453
 Asn Ala Cys Glu Ser Gln Ser Gly Thr Trp Ile Arg Ser Leu Gln
 85 90 95

cgc cag ttt cac aaa tgc atc cag ctt gga tat tga cca cat ggt gcc 501
 Arg Gln Phe His Lys Cys Ile Gln Leu Gly Tyr Pro His Gly Ala
 100 105 110

tct aaa gaa tgc ctg gat cgtgagtttt ctctttttc actgcgtatc 549
 Ser Lys Glu Cys Leu Asp
 115 120

tccggtccct acctttttgc gatactatat catgccacat cactaatatg gacaaatttc 609

tcgcca gtc cgg tgc ctc aag ctg gac cac agc cca acg tga agc cct 657
 Val Arg Cys Leu Lys Leu Asp His Ser Pro Thr Ser Pro
 125 130

cgc caa cga cgt ctc ccg tcc cca act ctg ggc cgt ctc cgc aag cgc 705
 Arg Gln Arg Arg Leu Pro Ser Pro Thr Leu Gly Arg Leu Arg Lys Arg
 135 140 145

aaa ccg ctc caa ggg cga ccg cag ccc aga cca gtg gaa gcc tcc tct 753
 Lys Pro Leu Gln Gly Arg Pro Gln Pro Arg Pro Val Glu Ala Ser Ser
 150 155 160 165

gac cag ctt cta ctg cac cta cgc caa gtc gtg gat cga tgt caa gag 801
 Asp Gln Leu Leu Leu His Leu Arg Gln Val Val Asp Arg Cys Gln Glu
 170 175 180

ctt cta taa gct gac aat cac cag tgc cga gaa gac agc tct gag cag 849
 Leu Leu Ala Asp Asn His Gln Cys Arg Glu Asp Ser Ser Glu Gln
 185 190 195

cat gtt aga tac ttg cta g 868
 His Val Arg Tyr Leu Leu

200

<210> 5
 5 <211> 205

ES 2 699 838 T3

<212> PRT
 <213> Trichoderma harzianum

<220>
 <221> SEÑAL
 <222> (1)..(17)

5

<220>
 <221> PÉPTIDO
 <222> (18)..(205)

<400> 5

Met Lys Leu Ser Ile Ser Val Ala Leu Thr Ser Ala Ile Ala Val Leu
 1 5 10 15

Ala Ala Pro Ala Pro Met Pro Thr Pro Pro Gly Ile Pro Thr Glu Ser
 20 25 30

Ser Ala Arg Thr Gln Leu Ala Gly Leu Thr Val Ala Val Ala Gly Ser
 35 40 45

Gly Thr Gly Tyr Ser Arg Asp Leu Phe Pro Thr Trp Asp Ala Ile Ser
 50 55 60

Gly Asn Cys Asn Ala Arg Glu Tyr Val Leu Lys Arg Asp Gly Glu Gly
 65 70 75 80

Val Gln Val Asn Asn Ala Cys Glu Ser Gln Ser Gly Thr Trp Ile Ser
 85 90 95

Pro Tyr Asp Asn Ala Ser Phe Thr Asn Ala Ser Ser Leu Asp Ile Asp
 100 105 110

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

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

Leu Trp Ala Val Ser Ala Ser Ala Asn Arg Ser Lys Gly Asp Arg Ser
 145 150 155 160

Pro Asp Gln Trp Lys Pro Pro Leu Thr Ser Phe Tyr Cys Thr Tyr Ala
 165 170 175

Lys Ser Trp Ile Asp Val Lys Ser Phe Tyr Lys Leu Thr Ile Thr Ser
 180 185 190

Ala Glu Lys Thr Ala Leu Ser Ser Met Leu Asp Thr Cys
 195 200 205

10

ES 2 699 838 T3

<210> 6
 <211> 136
 <212> PRT
 <213> Bacillus subtilis

5 <220>
 <221> SEÑAL
 <222> (1)..(26)

<220>
 <221> PÉPTIDO
 10 <222> (27)..(136)

<400> 6

```

Met Lys Lys Trp Met Ala Gly Leu Phe Leu Ala Ala Ala Val Leu Leu
 1           5           10           15

Cys Leu Met Val Pro Gln Gln Ile Gln Gly Ala Ser Ser Tyr Asp Lys
          20           25           30

Val Leu Tyr Phe Pro Leu Ser Arg Tyr Pro Glu Thr Gly Ser His Ile
          35           40           45

Arg Asp Ala Ile Ala Glu Gly His Pro Asp Ile Cys Thr Ile Asp Arg
 50           55           60

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

Lys Pro Gly Tyr Asp Arg Asp Glu Trp Pro Met Ala Val Cys Glu Glu
          85           90           95

Gly Gly Ala Gly Ala Asp Val Arg Tyr Val Thr Pro Ser Asp Asn Arg
          100          105          110

Gly Ala Gly Ser Trp Val Gly Asn Gln Met Ser Ser Tyr Pro Asp Gly
          115          120          125

Thr Arg Val Leu Phe Ile Val Gln
          130          135
  
```

15 <210> 7
 <211> 142
 <212> PRT
 <213> Bacillus licheniformis

<220>
 <221> SEÑAL
 <222> (1)..(33)

20 <220>
 <221> PÉPTIDO
 <222> (34)..(136)

ES 2 699 838 T3

<400> 7

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

<210> 8

<211> 206

5 <212> PRT

<213> *Aspergillus oryzae*

<400> 8

Ala Leu Lys Thr Gly Ser Gly Asp Ser Gln Ser Asp Pro Ile Lys Ala
 1 5 10 15
 Asp Leu Glu Val Lys Gly Gln Ser Ala Leu Pro Phe Asp Val Asp Cys
 20 25 30

ES 2 699 838 T3

Trp Ala Ile Leu Cys Lys Gly Ala Pro Asn Val Leu Gln Arg Val Asn
 35 40 45
 Glu Lys Thr Lys Asn Ser Asn Arg Asp Arg Ser Gly Ala Asn Lys Gly
 50 55 60
 Pro Phe Lys Asp Pro Gln Lys Trp Gly Ile Lys Ala Leu Pro Pro Lys
 65 70 75 80
 Asn Pro Ser Trp Ser Ala Gln Asp Phe Lys Ser Pro Glu Glu Tyr Ala
 85 90 95
 Phe Ala Ser Ser Leu Gln Gly Gly Thr Asn Ala Ile Leu Ala Pro Val
 100 105 110
 Asn Leu Ala Ser Gln Asn Ser Gln Gly Gly Val Leu Asn Gly Phe Tyr
 115 120 125
 Ser Ala Asn Lys Val Ala Gln Phe Asp Pro Ser Lys Pro Gln Gln Thr
 130 135 140
 Lys Gly Thr Trp Phe Gln Ile Thr Lys Phe Thr Gly Ala Ala Gly Pro
 145 150 155 160
 Tyr Cys Lys Ala Leu Gly Ser Asn Asp Lys Ser Val Cys Asp Lys Asn
 165 170 175
 Lys Asn Ile Ala Gly Asp Trp Gly Phe Asp Pro Ala Lys Trp Ala Tyr
 180 185 190
 Gln Tyr Asp Glu Lys Asn Asn Lys Phe Asn Tyr Val Gly Lys
 195 200 205

REIVINDICACIONES

1. Uso de un polipéptido con actividad de DNasa para prevenir, reducir y/o eliminar una biopelícula de un artículo, donde el artículo es una superficie dura, cuya superficie dura es vajilla, la superficie interior de una máquina lavavajillas o una lavadora para tejidos.
- 5 2. Uso según la reivindicación 1 para prevenir, reducir y/o eliminar la adherencia de suciedad al artículo.
3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el polipéptido con actividad de DNasa es de origen microbiano.
4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la biopelícula comprende al menos una cepa de *Brevundimonas sp.* o al menos una cepa de *Pseudomonas sp.*
- 10 5. Composición detergente que comprende un polipéptido con actividad de desoxirribonucleasa (DNasa) y un agente de cuidado de metales, donde el agente de cuidado de metales se selecciona de:
 - a) benzotriazoles, incluyendo benzotriazol o bisbenzotriazol y derivados sustituidos de los mismos, derivados los cuales incluyen sustituyentes con grupos alquilo C1-C20 lineales o de cadena ramificada e hidroxilo, tio, fenilo o halógenos tales como flúor, cloro, bromo y yodo,
 - 15 b) sales y complejos metálicos elegidos del grupo constituido por sales y/o complejos de zinc, manganeso, titanio, zirconio, hafnio, vanadio, cobalto, galio y cerio, estando los metales en un estado de oxidación II, III, IV, V o VI, de manera tal que las sales metálicas y/o complejos metálicos se pueden elegir del grupo constituido por sulfato de Mn(II), citrato de Mn(II), estearato de Mn(II), acetilacetato de Mn(II), K₂TiF₆, K₂ZrF₆, CoSO₄, Co(NO₂)₂ y Ce(NO₃)₃, sales de zinc, por ejemplo sulfato de zinc, hidrocincita, acetato de zinc o carbonato de zinc; y
 - 20 c) silicatos, incluyendo sodio o silicato de potasio, disilicato de sodio, metasilicato de sodio, filosilicato cristalino y mezclas de los mismos.
- 25 6. Composición detergente según la reivindicación 5, donde la composición comprende además surfactantes, adyuvantes, un auxiliar de floculación, agentes quelantes, inhibidores de transferencia de tinte, enzimas, estabilizadores enzimáticos, inhibidores enzimáticos, materiales catalíticos, activadores de blanqueo, peróxido de hidrógeno, fuentes de peróxido de hidrógeno, perácidos preformados, agentes de dispersión poliméricos, agentes de eliminación/antirred deposición de suciedad arcillosa, abrillantadores, supresores de espuma, tintes, perfumes, agentes elastizantes de la estructura, suavizantes, portadores, hidrótrofos, adyuvantes y coadyuvantes, agentes de matizado de tejidos, agentes antiespumantes, dispersantes, auxiliares de procesamiento, bactericidas, fungicidas y/o pigmentos o una mezcla de los mismos.
- 30 7. Composición detergente según cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6, donde la composición comprende además una o más enzimas seleccionadas del grupo constituido por proteasas, lipasas, cutinasas, amilasas, carbohidrasas, celulasas, pectinasas, mananasas, arabinasas, galactanasas, xilanasas, peroxidasa y oxidasas.
- 35 8. Composición detergente según cualquiera de las reivindicaciones 5-7, donde el polipéptido con actividad de DNasa es de origen microbiano.
9. Composición detergente según cualquiera de las reivindicaciones 5-8, que además comprende un adyuvante seleccionado del grupo constituido por EDTA, EDTMP, NTMP, DTPMP, MGDA, NTA, HEDP, STPP, IDS, GLDA, pirofosfato y EDDS.
- 40 10. Método de limpieza para prevenir, reducir y/o eliminar una biopelícula a partir de un artículo que comprende las etapas de:
 - a) poner en contacto un artículo con una composición según cualquiera de las reivindicaciones 5-9 o una solución líquida que comprende un polipéptido con actividad de DNasa;
 - b) completar al menos un ciclo de limpieza; y
 - c) enjuagar opcionalmente el artículo;
- 45 donde el artículo es una superficie dura, superficie dura la cual es vajilla, la superficie interior de una máquina lavavajillas o una lavadora para tejido.

11. Método según la reivindicación 10, donde el artículo es una vajilla seleccionada del grupo constituido por platos, tazas, vasos, cuencos, ollas, cubiertos, cucharas, cuchillos, tenedores, utensilios para servir, cerámica, plásticos, tablas de cortar, porcelana y cristalería.

5 12. Método según cualquiera de las reivindicaciones 10-11, donde la vajilla se limpia simultáneamente con la limpieza de la superficie dura interior de la máquina lavavajillas.

13. Método según cualquiera de las reivindicaciones 11-12, donde el polipéptido con actividad de DNasa es de origen microbiano.