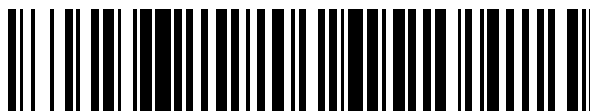


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 320**

51 Int. Cl.:

C11D 3/386 (2006.01)

C11D 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.12.2014** **PCT/EP2014/076874**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.06.2015** **WO15091053**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2014** **E 14809627 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.02.2019** **EP 3083923**

54 Título: **Producto para lavar o limpiar con contenido reducido de tensioactivo**

30 Prioridad:

20.12.2013 DE 102013226835

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

01.07.2019

73 Titular/es:

HENKEL AG & CO. KGAA (100.0%)

Henkelstrasse 67

40589 Düsseldorf, DE

72 Inventor/es:

STEHR, REGINA;

WERNER, HELGA y

WATTEBLED, CARINE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 718 320 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

Producto para lavar o limpiar con contenido reducido de tensioactivo

- 5 La presente invención se refiere a la limpieza y cuidado de superficies, principalmente de textiles, así como a la preparación de composiciones líquidas para este propósito.

10 Para garantizar un desempeño de limpieza satisfactorio, los productos convencionales para lavar y limpiar habitualmente contienen una fracción alta de tensioactivos. Con ayuda de los tensioactivos se desprende la suciedad de la superficie que va a limpiarse y se dispersa en el líquido de lavado. Por razones ecológicas, principalmente es deseable reducir el contenido de tensioactivos en los productos para lavar y limpiar. Sin embargo, el desempeño de lavado no debe empeorarse pese a la reducción de la cantidad de tensioactivo.

15 Durante la operación de lavado, la suciedad retirada de los textiles o los pigmentos de color eliminados de los textiles pueden depositarse nuevamente, desde el medio de limpieza del líquido, en los textiles que se encuentran en el líquido de lavado. Esta operación es conocida por el experto en la materia como re-deposición. Después de varios ciclos de lavado es posible establecer a simple vista una coloración grisácea de la ropa clara y principalmente de la ropa blanca. También puede observarse la decoloración y/o coloración grisácea de textiles de color.

20 Para impedir la re-deposición de suciedad y de pigmentos de color sobre el textil, durante la operación de limpieza o lavado se emplean, además de los tensioactivos, por una parte, los llamados polímeros que desprenden suciedad (SRP = Soil Release Polymers) en calidad de reforzadores de lavado y/o, por otra parte, inhibidores de transferencia de color en forma de captosres de color (DTI = Dye Transfer Inhibitor) en el líquido de limpieza.

25 Para refuerzo visual de la impresión de ropa blanca, en los productos para lavar o limpiar adicionalmente se adicionan frecuentemente los llamados abrillantadores ópticos. Principalmente en productos líquidos para lavar no pueden incorporarse fácilmente de manera conjunta y estable los captosres de color y los abrillantadores ópticos. Generalmente, después de un tiempo de almacenamiento, principalmente en composiciones con valor de pH muy básico, se forma un sedimento.

30 La solicitante se ha propuesto como objetivo proporcionar composiciones líquidas (principalmente productos para lavar o limpiar textiles) que posean un contenido reducido de tensioactivo y, no obstante, presenten una potencia excelente de limpieza. Principalmente, de manera adicional, deberá impedirse la coloración grisácea de textiles o restringirse de modo casi completo. La ropa blanca también debe obtener una blancura de apariencia perceptiblemente intensa y homogénea sobre la superficie lavada sin adición de un abrillantador óptico convencional.

35 Un primer objeto de la invención es una composición líquida, principalmente para el lavado o la limpieza de textiles que contiene

40 (a) agua,

(b) al menos un tensioactivo,

45 (c) al menos una lipasa

(d) al menos una mananasa,

(e) al menos una α -amilasa,

50 con la condición de que, con respecto al peso total de la composición, la cantidad total de tensioactivo se encuentre en 0,1 y 13 % en peso, preferiblemente de 3,0 a 10,0 % en peso y, con respecto al peso total de la composición, se encuentre contenida enzima con actividad de proteasa en una cantidad total de 0 a 0,0005 % en peso.

55 En el sentido de la invención, para la definición de un intervalo numérico, que debe estar "entre" dos límites de intervalo, siguiendo el uso general del idioma, es válido que los límites de intervalo no estén incluidos. Los intervalos numéricos que se definen por un límite de intervalo hasta otro límite de intervalo incluyen los límites de intervalo.

La composición según la invención es líquida a 20 °C.

60 Como primer ingrediente, la composición según la invención contiene agua. Composiciones preferidas según la invención contienen agua en una cantidad de 2 a 90 % en peso, principalmente de 5 a 80 % en peso, cada caso con respecto al peso total de la composición.

65 En tal caso se prefiere que el producto para lavar contenga más de 5% en peso, preferiblemente más de 15% en peso y de modo principalmente preferido más de 25% en peso de agua en cada caso con respecto a la cantidad total de productos para lavar. De modo alternativo, los productos para lavar pueden ser productos para lavar con poca agua,

en cuyo caso el contenido de agua en una forma preferida de realización asciende a menos de 10 % en peso y más preferiblemente a menos de 8 % en peso, cada caso con respecto a la totalidad del producto líquido para lavar. Las composiciones líquidas con poca agua son empaquetadas según la invención, de manera preferible, en películas hidrosolubles.

Además, al producto para lavar pueden agregarse disolventes no acuosos. Disolventes no acuosos adecuados comprenden alcoholes mono- o dihidricos, alcanolaminas o éteres de glicol, siempre que sean miscibles con agua en el intervalo indicado de concentración. De preferencia, los disolventes se seleccionan de etanol, n-propanol, i-propanol, butanoles, glicol, propanodiol, butanodiol, metilpropanodiol, glicerina, diglicol, propildiglicol, butildiglicol, hexilenglicol, éter metílico de etilenglicol, éter etílico de etilenglicol, éter propílico de etilenglicol, éter mono-n-butílico de etilenglicol, éter metílico de dietilenglicol, éter etílico de dietilenglicol, éter metílico de propilenglicol, éter etílico de propilenglicol, éter propílico de propilenglicol, éter monometílico de dipropilenglicol, éter monoetilico de dipropilenglicol, metoxitriglicol, etoxitriglicol, butoxitriglicol, 1-butoxi-2-propanol, 3-metil-3-metoxibutanol, éter t-butílico de propilenglicol, éter di-n-octílico, así como mezclas de los mismos. Sin embargo, se prefiere que la composición según la invención contenga un alcohol, principalmente etanol y/o glicerina, en cantidades de 0,5 y 5 % en peso, con respecto a toda la composición.

Para desplegar el desempeño de limpieza o de lavado, las composiciones según la invención contienen al menos un tensioactivo, de modo particularmente preferido una mezcla de varios tensioactivos de diferentes clases de sustancias.

Aquí es esencial para la invención que la cantidad total de tensioactivo se encuentre entre 0,1 y 13 % en peso, que sea preferiblemente de 2,5 a 13 % en peso, de modo particularmente preferido de 6,0 a 11,0 % en peso y de modo muy particularmente preferido de 3,0 a 10,0 % en peso.

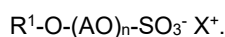
Como tensioactivo, según la invención se emplea preferiblemente al menos un tensioactivo aniónico.

Como tensioactivos aniónicos en las composiciones son adecuadas todas las sustancias tensioactivas aniónicas. Éstas se caracterizan por un grupo aniónico que las hace hidrosolubles tales como, por ejemplo, un grupo carboxilato, sulfato, sulfonato o fosfato y un grupo alquilo lipofílico con aproximadamente 8 a 30 átomos de C. Adicionalmente, en la molécula pueden estar contenidos grupos de glicol o de éter poliglicólico, de éster, de éter y de amida, así como grupos hidroxilo. Tensioactivos aniónicos adecuados se encuentran presentes preferentemente en forma de las sales de sodio, potasio y amonio, así como de las sales de mono-, di- y trialcanolamonio con 2 a 4 átomos de C en el grupo alcohol.

Composiciones preferidas contienen, con respecto al peso total de la composición, tensioactivo aniónico en una cantidad total de 0,1 a 10,0 % en peso, preferiblemente de 2,0 a 9,0 % en peso, de modo particularmente preferido de 4,0 a 7,0 % en peso. Si deben estar contenidos otros tensioactivos, la cantidad de los otros tensioactivos y la cantidad de los tensioactivos aniónicos deben seleccionarse de manera que se cumpla la cantidad total definida previamente de tensioactivo y la cantidad total de tensioactivos aniónicos preferiblemente se encuentre de modo opcional dentro de un intervalo de cantidades previamente definido como preferido.

Tensioactivos aniónicos preferidos en las composiciones son sulfatos de alquilo, étersulfatos de alquil-poliglicol y ácidos éter-carboxílicos, respectivamente con 10 a 18 átomos de C en el grupo alquilo y hasta 12 grupos de éter glicólico en la molécula.

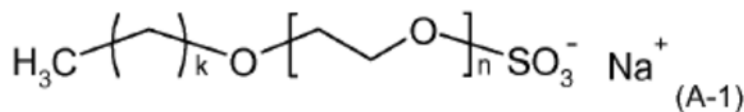
Composiciones preferidas, empleadas según la invención contienen al menos un tensioactivo de la fórmula



En esta fórmula, R^1 representa un residuo alquilo lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, arilo o alquilarilo, de preferencia un residuo alquilo lineal, no sustituido, de forma particularmente preferida un residuo de alcohol graso. Residuos R^1 preferidos se seleccionan de residuos de decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo y sus mezclas, en cuyo caso se prefieren los representantes con número par de átomos de C. Residuos R^1 particularmente preferidos se derivan de alcoholes grasos de C_{12} - C_{18} , por ejemplo, alcohol graso de coco, alcohol graso de sebo, alcohol laurílico, miristílico, cetílico o estearílico o oxoalcoholes de C_{10} - C_{20} .

AO representa una agrupación de óxido de etileno (EO) o de óxido de propileno (PO), preferentemente una agrupación de óxido de etileno. El índice n representa un número entero de 1 a 50, preferentemente de 1 a 20 y principalmente de 2 a 10. De modo muy particularmente preferido, n representa los números 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8. X representa un catión monovalente o la n-ava parte de un catión n-valente; en tal caso se prefieren los iones de metal alcalino y, entre ellos, Na^+ o K^+ , en cuyo caso Na^+ es extraordinariamente preferido. Otros cationes X^+ pueden seleccionarse de NH_4^+ , $\frac{1}{2} Zn^{2+}$, $\frac{1}{2} Mg^{2+}$, $\frac{1}{2} Ca^{2+}$, $\frac{1}{2} Mn^{2+}$, y sus mezclas.

En resumen, las composiciones particularmente preferidas contienen al menos un tensioactivo aniónico seleccionado de étersulfatos de alcohol graso de la fórmula A-1

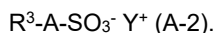


donde $k = 11$ a 19 , $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ o 8 . Representantes muy particularmente preferidos son étersulfatos de alcohol graso de $\text{C}_{12-14}\text{-Na}$ con 2 EO ($k = 11-13$, $n = 2$ en la fórmula A-1).

Composiciones preferidas contienen, con respecto a la cantidad total de la composición, 0,1 a 10 % en peso, preferentemente 1,0 a 7,5 % en peso, más preferiblemente 2,0 a 4,0 % en peso de étersulfato(s) de alcohol graso (respectivamente de modo principal de la fórmula A1). Si adicionalmente deben estar contenidos otros tensioactivos, la cantidad del (de los) étersulfato(s) de alcohol graso empleados se escoge dentro del intervalo de cantidad preferido para esto (véase arriba) de manera que en cada caso se cumpla la cantidad total previamente definida de tensioactivo y

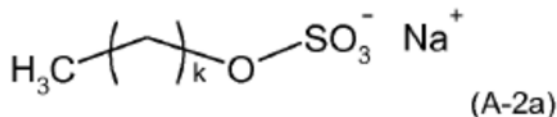
- se cumpla de modo opcional preferiblemente la cantidad total definida preferiblemente de tensioactivos aniónicos.

Otras composiciones preferidas contienen adicionalmente o alternativamente (principalmente de modo adicional) al menos un tensioactivo de la fórmula (A-2)



En esta fórmula, R^3 representa un residuo alquilo lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, arilo o alquilarilo y la agrupación -A- representa -O- o un enlace químico. En otras palabras, mediante la fórmula anterior pueden describirse tensioactivos de sulfato ($\text{A} = \text{O}$) o sulfonato ($\text{A} = \text{enlace químico}$). Dependiendo de la elección de la agrupación A, se prefieren determinados residuos R^3 . En los tensioactivos de sulfato ($\text{A} = \text{O}$) R^3 representa preferentemente un residuo alquilo lineal, no sustituido, de modo particularmente preferido representa un residuo de alcohol graso. Residuos R^1 preferidos se seleccionan de decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo y sus mezclas, en cuyo caso se prefieren los representantes con un número par de átomos de C. Residuos R^1 particularmente preferidos se derivan de alcoholes grasos de $\text{C}_{12}\text{-C}_{18}$, por ejemplo, de alcohol graso de coco, alcohol graso de sebo, alcohol laurílico, miristílico, cetílico o estearílico o de oxoalcoholes de $\text{C}_{10}\text{-C}_{20}$. Y representa un catión monovalente o la n-ava parte de un catión n-valente; en tal caso se prefieren los iones de metal alcalino y entre ellos Na^+ o K^+ , en cuyo caso Na^+ es extraordinariamente preferido. Otros cationes Y^+ pueden seleccionarse de NH_4^+ , $\frac{1}{2} \text{Zn}^{2+}$, $\frac{1}{2} \text{Mg}^{2+}$, $\frac{1}{2} \text{Ca}^{2+}$, $\frac{1}{2} \text{Mn}^{2+}$, y sus mezclas.

Tales tensioactivos particularmente preferidos se seleccionan de sulfatos de alcohol graso de la fórmula A-2a



donde $k = 11$ a 19 . Representantes muy particularmente preferidos son sulfatos de alcohol graso de $\text{C}_{12-14}\text{-Na}$ ($k = 11-13$ en la fórmula A-2a).

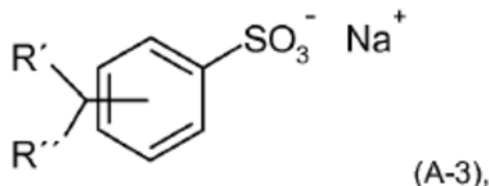
Las composiciones preferidas contienen, además, con respecto a la cantidad total de las composiciones, 0,1 a 10 % en peso, preferentemente 0,5 a 7,5 % en peso, más preferiblemente 1,0 a 3,0 % en peso de un tensioactivo del grupo que comprende sulfonatos de alquilbenceno de $\text{C}_9\text{-C}_{13}$, sulfonatos de olefina, sulfonatos de alcanos de C_{12-18} , éster-sulfonatos, sulfatos de alqu(en)ilo, y mezclas de estos (principalmente del grupo de los sulfonatos de alquilbenceno de $\text{C}_9\text{-C}_{13}$, preferiblemente del grupo según la fórmula (A2)). Si adicionalmente deben estar contenidos otros tensioactivos, la cantidad de los tensioactivos empleados del grupo que comprende sulfonatos de alquileno de $\text{C}_9\text{-C}_{13}$, sulfonatos de olefina, sulfonatos de alcanos de C_{12-18} , éster-sulfonatos, sulfatos de alqu(en)ilo, y mezclas de estos (principalmente del grupo de los sulfonatos de alquilbenceno de $\text{C}_9\text{-C}_{13}$, preferiblemente del grupo según la fórmula (A2)) debe seleccionarse dentro del intervalo de cantidades preferido para esto (véase arriba) de modo que

- se cumpla en cualquier caso la cantidad total definida previamente del tensioactivo y

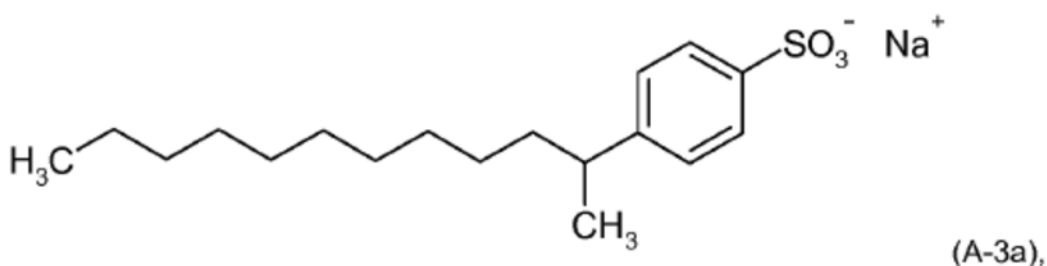
- se mantenga de manera opcional preferiblemente la cantidad total definida como preferida de tensioactivos aniónicos.

En los tensioactivos de sulfonato ($\text{A} = \text{enlace químico}$), que se prefieren frente a los tensioactivos de sulfato de la fórmula de arriba, R^3 representa preferentemente un residuo alquilarilo lineal o ramificado, no sustituido. También aquí X representa un catión monovalente o la n-ava parte de un catión n-valente; en tal caso se prefieren los iones de metal alcalino y entre ellos Na^+ o K^+ , en cuyo caso Na^+ es extraordinariamente preferido. Otros cationes X^+ pueden seleccionarse de NH_4^+ , $\frac{1}{2} \text{Zn}^{2+}$, $\frac{1}{2} \text{Mg}^{2+}$, $\frac{1}{2} \text{Ca}^{2+}$, $\frac{1}{2} \text{Mn}^{2+}$, y sus mezclas.

Tales tensioactivos extraordinariamente preferidos se seleccionan de sulfonatos de alquilbenceno lineales o ramificados de la fórmula A-3



en la cual R' y R'' contienen juntos 9 a 19, preferentemente 11 a 15 y principalmente 11 a 13 átomos de C. un representante muy particularmente preferido puede describirse por medio de la fórmula A-3a:



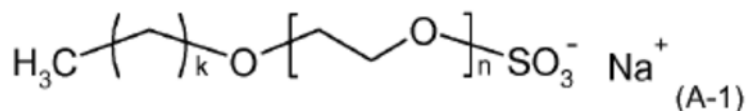
Para la potencia de limpieza en frío ha tenido buenos resultados si las composiciones contienen adicionalmente jabón (jabones) en calidad de tensioactivo aniónico. Los jabones son las sales hidrosolubles de sodio o de potasio de los ácidos grasos saturados e insaturados que tienen 10 a 20 átomos de carbono, de los ácidos de resina de la colofonia (jabones de resina amarillos) y los ácidos nafténicos que se usan en forma de mezclas sólidas o semisólidas principalmente para propósitos de lavado y limpieza. Las sales de sodio o de potasio de los ácidos grasos saturados e insaturados que tienen 10 a 20 átomos de carbono, principalmente 12 a 18 átomos de carbono, son jabones preferidos según la invención. Composiciones particularmente preferidas se caracterizan en tal caso porque contienen, con respecto a su peso, 0,1 a 1,5 % en peso, de modo particularmente preferido 0,2 a 1,0 % en peso, de modo muy particularmente preferido 0,3 a 0,8 % en peso de jabón (jabones). Si adicionalmente deben estar contenidos otros tensioactivos, la cantidad del jabón (de los jabones) empleado(s) are seleccionarse dentro del intervalo de cantidades preferido para esto (véase arriba) de modo que

- se cumpla en cada caso la cantidad total previamente definida de tensioactivo y

- de manera opcionalmente preferida se cumpla la cantidad total definida como preferida de tensioactivos aniónicos.

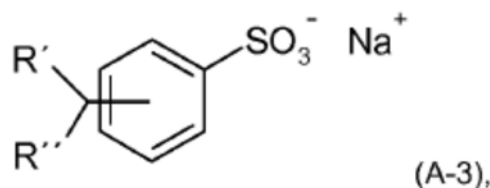
Para la solución mejorada del problema técnico, de acuerdo con la invención se usa de manera muy particularmente preferida una combinación de

- al menos un éter sulfato de alcohol graso de la fórmula A-1



donde k = 11 a 19, n = 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8 (representantes particularmente preferidos son étersulfatos de alcohol graso de C₁₂₋₁₄-Na con 2 EO (k = 11-13, n = 2 en la fórmula A-1), y

- al menos un sulfonato de alquilbenceno lineal o ramificado de la fórmula A-3



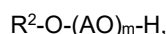
en la cual R' y R'' contienen juntos 9 a 19, de preferencia 11 a 15 y principalmente 11 a 13 átomos de C (principalmente de la fórmula anterior (A-3a)),

en las composiciones según la invención. Las composiciones preferidas de esta forma de realización se caracterizan opcionalmente de manera preferida porque contienen uno o varios jabones (preferiblemente, con respecto a su peso, 0,1 a 1,5 % en peso, de modo particularmente preferido 0,2 a 1,0 % en peso, muy particularmente preferido 0,3 a 0,8 % en peso de jabón (jabones)).

De modo adicional al tensioactivo o tensioactivos aniónicos, o en lugar de estos, las composiciones empleadas según la invención pueden contener tensioactivo(s) no iónico(s).

Con preferencia particular, las composiciones contienen al menos un tensioactivo no iónico del grupo de los etoxilatos de alcohol graso, puesto que estos tensioactivos también dan lugar a composiciones de alto rendimiento a temperaturas bajas de lavado y en el caso de preparaciones líquidas presentan una excelente estabilidad en frío.

Por lo tanto, las composiciones preferidas contienen adicionalmente al menos un tensioactivo no iónico de la fórmula



en la cual

R² representa un residuo de alquilo lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, de arilo o de alquilarilo,

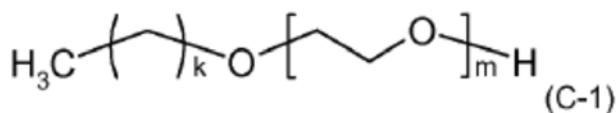
AO representa una agrupación de óxido de etileno (EO) o de óxido de propileno- (PO),

m representa números enteros de 1 a 50.

En la fórmula anteriormente mencionada, R² representa un residuo alquilo lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, de alilo o alquilarilo; de preferencia representa un residuo alquilo lineal, no sustituido; de modo particularmente preferido representa un residuo de alcohol graso. Residuos R² preferidos se seleccionan de decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo y sus mezclas, en cuyo caso se prefieren los representantes con cantidad par de átomos de C. Los residuos R² particularmente preferidos se derivan de alcoholes grasos de C₁₂-C₁₈, por ejemplo, de alcohol graso de coco, alcohol graso de sebo, alcohol laurílico, miristílico, cetílico o estearílico o de oxoalcoholes de C₁₀-C₂₀.

AO representa una agrupación de óxido de etileno (EO) o de óxido de propileno (PO), preferentemente una agrupación de óxido de etileno. El índice m representa un número entero de 1 a 50, de preferencia de 1 a 20 y principalmente de 2 a 10. De modo muy particularmente preferido, m representa los números 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8.

Resumiendo, los tensioactivos particularmente preferidos se seleccionan de etoxilatos de alcohol graso de la fórmula C-1



donde k = 11 a 19, m = 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8. Representantes muy particularmente preferidos son alcoholes grasos de C₁₂₋₁₈ con 7 EO (k = 11-17, m = 7 en la fórmula C-1).

Composiciones principalmente preferidas contienen tensioactivos no iónicos en determinadas cantidades. Composiciones extraordinariamente preferidas según la invención se caracterizan porque la cantidad total de tensioactivos no iónicos con respecto al peso de las composiciones asciende a 0,1 a 10 % en peso, de preferencia 0,5 a 7,5 % en peso, más preferiblemente a 2,0 a 4,0 % en peso. Si adicionalmente deben estar contenidos otros tensioactivos, la cantidad de los otros tensioactivos y la cantidad de los tensioactivos no iónicos deben seleccionarse de modo que se cumpla la cantidad previamente definida de tensioactivo y opcionalmente de modo preferido la

cantidad total de tensioactivos no iónicos se encuentre dentro de uno de los intervalos preferiblemente definidos de cantidades.

Composiciones preferidas contienen, además, con respecto a la cantidad total de las composiciones, 0,1 a 10 % en peso, de preferencia 1,0 a 7,5 % en peso, más preferiblemente 2,0 a 4,0 % en peso de etoxilato(s) de alcohol graso (principalmente de la fórmula (C-1)). Se adicionalmente deben estar contenidos otros tensioactivos, la cantidad total de éteres de alcohol graso empleados según la invención se selecciona dentro del intervalo de cantidades preferido para esto (véase arriba) de modo que

-en cada caso se cumpla la cantidad total previamente definida de tensioactivo, y

- de modo opcional preferiblemente se cumple la cantidad total preferiblemente definida de tensioactivos no iónicos.

Composiciones preferidas contienen, con respecto al peso total de la composición

-tensioactivo iónico en una cantidad total de 0,1 a 10,0 % en peso, preferiblemente de 2,0 a 9,0 % en peso, de modo particularmente preferido de 4,0 a 7,0 % en peso, y

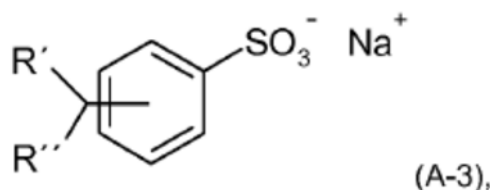
- tensioactivo no iónico en una cantidad total de 0,1 a 10 % en peso, de preferencia 0,5 a 7,5 % en peso, más preferiblemente 2,0 a 4,0 % en peso,

con la condición de que la cantidad total de tensioactivo se encuentre entre 0 y 16 % en peso, principalmente ascienda a 2,5 a 13 % en peso, de modo muy particularmente preferido de 6,0 a 11,0 % en peso.

Según una forma de realización particularmente preferida, se prefieren tales composiciones que contienen

i) al menos un tensioactivo aniónico de la fórmula $R^1-O-(AO)_n-SO_3^- X^+$, y

ii) al menos un tensioactivo aniónico de la fórmula A-3



y

iii) al menos un tensioactivo no iónico de la fórmula $R^2-O-(AO)_m-H$, en las cuales

R^1 representa un residuo alquilo lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, arilo, alquilarilo,

R' y R'' contienen juntos 9 a 19, de preferencia 11 a 15 y principalmente 11 a 13 átomos de C,

AO, independientemente uno de otro, representa una agrupación de óxido de etileno (EO) o de óxido de propileno (PO),

n, m representan, independientemente uno de otro, números enteros de 1 a 50,

X representa un catión monovalente o la n-ava parte de un catión n-valente.

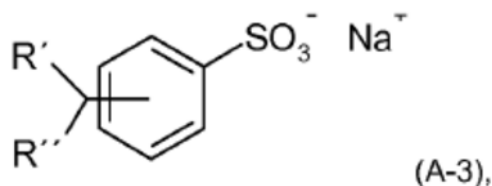
Los tensioactivos i) y ii) fueron descritos antes como tensioactivos a) preferidos con las fórmulas (A-1) y (A-3a), el tensioactivo iii) como tensioactivo preferido con la fórmula (C-1).

Composiciones preferidas de esta forma de realización se caracterizan en este caso a su vez porque contienen adicionalmente al menos un jabón.

Según una forma muy particularmente preferida de realización, se prefieren aquellas composiciones que contienen, con respecto al peso de la composición,

i) en una cantidad total de 0,1 a 10 % en peso, de preferencia de 1,0 a 7,5 % en peso, más preferiblemente de 2,0 a 4,0 % en peso de al menos un tensioactivo aniónico de la fórmula $R^1-O-(AO)_n-SO_3^- X^+$, y

ii) en una cantidad total de 0,1 a 10 % en peso, preferentemente 0,5 a 7,5 % en peso, más preferiblemente 1,0 a 3,0 % en peso de al menos un tensioactivo aniónico de la fórmula A-3



y

iii) en una cantidad total de 0,1 a 10 % en peso, de preferencia de 1,0 a 7,5 % en peso, más preferiblemente de 2,0 a 4,0 % en peso de al menos un tensioactivo no iónico de la fórmula $R^2-O-(AO)_m-H$,

en las cuales

R^1 representa un residuo alquilo lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, arilo o alquilarilo,

R' y R'' contienen juntos 9 a 19, de preferencia 11 a 15 y principalmente 11 a 13 átomos de C,

AO independientemente entre sí representa una agrupación de óxido de etileno (EO) o de óxido de propileno (PO),

n, m independientemente entre sí representa números enteros de 1 a 50,

X representa un catión monovalente o la n-ava parte de un catión n-valente,

con la condición de que la cantidad total de tensioactivo se encuentre entre 0,1 y 13 % en peso, que ascienda de modo muy particularmente preferido a 3,0 hasta 10,0 % en peso.

Los tensioactivos i) y ii) fueron descritos antes como tensioactivos a) preferidos con las fórmulas (A-1) y (A-3a), el tensioactivo iii) como tensioactivo preferido con la fórmula (C-1). Composiciones preferidas de esta forma de realización se caracterizan aquí a su vez porque, con respecto a su peso, contienen 0,1 a 1,5 % en peso, de modo particularmente preferido 0,2 a 1,0 % en peso, de modo muy particularmente preferido 0,3 a 0,8 % en peso de jabón (jabones).

La composición según la invención contiene, además, de manera obligatoria, una combinación especial de las tres enzimas lipasa, amilasa y mananasa. Los siguientes términos y definiciones son válidos adicionalmente en el marco de la presente solicitud de cara a la definición de enzimas.

"Variante" se encuentra al nivel de las proteínas; el término correspondiente a "mutante" se encuentra al nivel de los ácidos nucleicos. Las moléculas antecesoras o de partida pueden ser enzimas de tipo silvestre; es decir, aquellas que pueden obtenerse a partir de fuentes naturales. También pueden ser enzimas que representan ya variantes; es decir, que ya han sido modificadas en comparación con las moléculas de tipo silvestre. Por estas se entienden, por ejemplo, mutantes puntuales, aquellas con modificaciones en la secuencia de aminoácidos por varias posiciones o zonas largas relacionadas, o también moléculas híbridas que se componen de segmentos que se complementan entre sí de diferentes enzimas de tipo silvestre.

Por intercambios de aminoácidos se entienden sustituciones de un aminoácido por otro aminoácido. Según la definición, tales sustituciones se indican en el código de una letra internacional habitual, designando las posiciones en las cuales se efectúa el intercambio, opcionalmente combinadas con los aminoácidos en cuestión. "Intercambio en posición 320" significa, por ejemplo, que una variante en la posición que en la secuencia de una proteína de referencia tiene la posición 320, presenta otro aminoácido. Habitualmente, tales intercambios se realizan al nivel del ADN mediante mutaciones de pares de bases individuales (véase arriba). "R320K" significa, por ejemplo, que la enzima de referencia en la posición 320 tiene el aminoácido arginina, mientras que la variante considerada en la posición homologable con esta dispone del aminoácido lisina. "320K" significa que cada aminoácido cualquiera, es decir por regla general uno predefinido naturalmente en una posición que corresponde a la posición 320, se reemplaza por una lisina que se encuentra en la presente molécula precisamente en este sitio. "R320K, L" significa que el aminoácido arginina en posición 320 se reemplaza por lisina o leucina y "R320X" significa que el aminoácido arginina en posición 320 es reemplazado por otro aminoácido en principio cualquiera.

Básicamente, los intercambios de aminoácidos según la invención designados con la presente declaración no se limitan a que sean los únicos intercambios en los cuales la variante en cuestión se diferencia de la molécula del tipo silvestre. En el estado de la técnica es conocido que las propiedades ventajosas de mutaciones puntuales individuales

pueden complementarse entre sí. Por lo tanto, las formas de realización de la presente invención comprenden todas las variantes que también presentan, además de otros intercambios en comparación con la molécula de tipo silvestre, los intercambios según la invención.

Además, no es relevante en qué secuencia se llevan a cabo los intercambios de aminoácidos en cuestión; es decir, si un mutante puntual correspondiente evoluciona según la invención o si a partir de una molécula de tipo silvestre se genera primero, por ejemplo, una variante según la invención, la cual evoluciona en correspondencia a otras enseñanzas encontradas en el estado de la técnica. También pueden efectuarse simultáneamente, juntos, varios intercambios en un principio de mutagénesis, por ejemplo, según la invención y otros.

La determinación de la entidad de la secuencia de ácido nucleico o aminoácidos se determina según la invención mediante comparación de secuencias. Una comparación así se efectúa asignando mutuamente las secuencias similares en las secuencias de nucleótidos o las secuencias de aminoácidos. Esta comparación de secuencias se efectúa de preferencia con base en el algoritmo BLAST establecido en el estado de la técnica y utilizado habitualmente (cf., por ejemplo, Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. & Lipman, D. J. (1990) "Basic local alignment search tool." J. Mol. Biol. 215:403-410, y Altschul, Stephan F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Heng Zhang, Webb Miller y David J. Lipman (1997): "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of Protein database search programs"; Nucleic Acids Res., 25, páginas 3389-3402) y ocurre en principio asignando mutuamente secuencias similares de nucleótidos o aminoácidos en las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos. Una asignación tabulada de las posiciones en cuestión se designa como alineación. Otro algoritmo disponible en el estado de la técnica es el algoritmo FASTA. Las comparaciones de secuencia (alineaciones), principalmente las comparaciones múltiples de secuencias, se elaboran habitualmente con programas de ordenador. Frecuentemente se utilizan, por ejemplo, las series Clustal (cf., por ejemplo, Chenna et al. (2003): Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. Nucleic Acid Research 31, 3497-3500), T-Coffee (cf., por ejemplo, Notredame et al. (2000): T-Coffee: A novel method for multiple sequence alignments. J. Mol. Biol. 302, 205-217) o programas que se basan en estos programas o algoritmos. Con frecuencia se utilizan, por ejemplo, Clustal (cf., por ejemplo, Chenna et al. (2003): Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. Nucleic Acid Research 31, 3497-3500) o T-Coffee (cf., por ejemplo, Notredame et al. (2000): T-Coffee: A novel method for multiple sequence alignments. J. Mol. Biol. 302, 205-217) así como BLAST o FASTA para la búsqueda de base de datos, o bien programas que se basan en estos programas o algoritmos. En el marco de la presente invención se elaboran comparaciones de secuencias y alineaciones preferiblemente con el programa de ordenador Vector NTI® Suite 10.3 (Invitrogen Corporation, 1600 Faraday Avenue, Carlsbad, California, Estados Unidos de América) con los parámetros predefinidos por defecto.

Tal comparación permite una declaración sobre la similitud entre sí de las secuencias comparadas. Habitualmente se indica en porcentaje de identidad, es decir la fracción de los nucleótidos o residuos de aminoácidos idénticos en las mismas posiciones o en posiciones correspondientes mutuamente a una alineación. En el caso de secuencias de aminoácidos, el concepto más amplio de la homología incluye en consideración las secuencias de aminoácidos conservadas, es decir aminoácidos que tienen una actividad química, ya que estos ejercen actividades químicas generalmente similares dentro de la proteína. Por lo tanto, la similitud de las secuencias comparadas también puede indicarse en porcentaje de homología o porcentaje de similitud. Los datos de identidad y/u homología pueden encontrarse por todos los polipéptidos o genes o solamente por zonas individuales. Las zonas de homología o idénticas de las diferentes secuencias de ácido nucleico o aminoácidos se definen, por lo tanto, mediante coincidencias en las secuencias. Tales zonas presentan frecuentemente funciones idénticas. Pueden ser pequeñas y comprender solamente pocos nucleótidos o aminoácidos. Tales zonas pequeñas frecuentemente ejercen funciones esenciales para la actividad total de la proteína. Por lo tanto, puede ser práctico referir coincidencias de secuencias solamente a zonas individuales, opcionalmente pequeñas. Siempre que no se indique algo diferente, los datos de identidad y de homología en la presente solicitud se refieren, no obstante, a la longitud total de la secuencia de ácido nucleico o aminoácido respectivamente indicada.

Por fragmentos se entienden todos los polipéptidos, proteínas o péptidos que son más pequeños que las correspondientes proteínas de comparación o aquellas que corresponden completamente a genes traducidos y, por ejemplo, también pueden obtenerse sintéticamente. Debido a sus secuencias de aminoácidos, pueden asignarse a las proteínas de comparación completas en cuestión. Pueden, por ejemplo, adoptar estructuras espaciales iguales o ejercer actividades proteolíticas o actividades parciales como, por ejemplo, la formación de complejos a partir de un sustrato. Los fragmentos y variantes de supresión de las proteínas de partida son, en principio, similares; mientras que los fragmentos representan más bien fracciones más pequeñas, a los mutantes de supresión les faltan solamente zonas cortas (eventualmente sólo uno o varios aminoácidos). De esta manera es posible, por ejemplo, suprimir en los extremos o en los bucles de la enzima otros aminoácidos individuales sin que por esto se pierda o se reduzca la actividad enzimática.

Todas las indicaciones de cantidad de enzimas se refieren a una proteína activa. La concentración de proteína puede determinarse con ayuda de procedimientos conocidos, por ejemplo, el procedimiento BCA o el procedimiento de biuret.

Las composiciones según la invención contienen obligatoriamente al menos una lipasa. Una lipasa contenida en la composición según la invención (principalmente en un producto para lavar o limpiar preferido según la invención para textiles) presenta una actividad lipolítica, es decir que es capaz de producir hidrólisis (lipólisis) de lípidos tales como

glicéridos o ésteres de colesterol. Esta actividad de lipasa se determina de manera habitual en la técnica y más precisamente, de preferencia, tal como se describe en Bruno Stellmach, "Bestimmungsmethoden Enzyme für Pharmazie, Lebensmittelchemie, Technik, Biochemie, Biologie, Medizin" (Procedimientos de determinación, Enzimas para farmacia, química de alimentos, tecnología, bioquímica, biología, medicina) (editorial Steinkopff Verlag Darmstadt, 1988, página 172 y siguientes). En este caso se ponen muestras que contienen lipasa en una emulsión de aceite de oliva en agua que contiene emulsionante y se incuban a 30 °C y pH 9,0. En este caso se liberan ácidos grasos. Estos son titulados con un autotitulado durante 20 minutos continuamente con hidróxido de sodio de 0,01 N de modo que el valor de pH permanezca constante ("titulación de pH estático"). La determinación de la actividad de lipasa se efectúa mediante el consumo de hidróxido de sodio por medio de la referencia a una muestra de lipasa de referencia. Otro procedimiento adecuado para la medición de la actividad de lipasa es la liberación de un colorante de un sustrato adecuado, etiquetado pNP.

Composiciones preferidas se caracterizan porque, con respecto al peso total de la composición, la lipasa se encuentra contenida en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.

Las enzimas lipasas preferidas según la invención se seleccionan de al menos una enzima del grupo que se forma a partir de triacilglicerol-lipasa (E.C. 3.1.1.3) y lipoproteína-lipasa (E.C. 3.1.1.34) y monoglicérido-lipasa (E.C. 3.1.1.23).

El campo de empleo preferido según la invención de las composiciones según la invención es el lavado de textiles. Debido a que los productos para lavar y limpiar textiles presentan de manera preponderante valores de pH alcalinos, principalmente se emplean para esto lipasas, las cuales son activas en el medio alcalino.

Además, las lipasas contenidas preferiblemente en una composición según la invención se encuentran presentes de manera natural en un microorganismo de la especie *Thermomices lanuginosus* o *Rhizopus oryzae* o *Mucor javanicus* o se derivan de lipasas, antes mencionadas, presentes de manera natural por mutagénesis. Las composiciones según la invención contienen de modo particularmente preferido al menos una lipasa que se encuentra presente de manera natural en un microorganismo de la especie *Thermomices lanuginosus* o se deriva por mutagénesis de las lipasas antes mencionadas, presentes de manera natural en *Thermomices lanuginosus*. Presentes de manera natural significa en este contexto que la lipasa es una enzima propia del microorganismo. Por consiguiente, la lipasa puede expresarse en el microorganismo por una secuencia de ácido nucleico que es parte del ADN cromosómico del microorganismo en su forma de tipo silvestre. Por consiguiente, esta o la secuencia de ácido nucleico que la codifica se encuentra en la forma de tipo silvestre del microorganismo y/o puede aislarse de la forma de tipo silvestre del microorganismo a partir de este. A diferencia de esto, una lipasa, o la secuencia que la codifica, que no esté presente de manera natural en el microorganismo, no se habría incorporado de manera dirigida al microorganismo con ayuda de procedimientos de ingeniería genética, de modo que el microorganismo se habría enriquecido con la lipasa o con la secuencia de ácido nucleico que la codifica. Sin embargo, puede ser una lipasa que se encuentra naturalmente en un microorganismo de la especie *Thermomices lanuginosus* o *Rhizopus oryzae* o *Mucor javanicus*, pero que ha sido preparada por completo de modo recombinante por otro organismo.

El hongo *Thermomices lanuginosus* (también conocido como *Humicola lanuginosa*) pertenece a la clase de los Eurotiomycetes (subclase Eurotyomicetidae), al orden de los Eurotiales y a la familia de las trichocomaceae y al género *Thermomices*. El hongo *Rhizopus oryzae* pertenece a la clase de las Zygomycotas (subclase Incertae sedis), al orden Mucorales y aquí, a su vez a la familia Mucoraceae y al género *Rhizopus*. El hongo *Mucor javanicus* pertenece igualmente a la clase de las Zygomycotas (subclase Incertae sedis), al orden Mucorales y, a su vez, a la familia Mucoraceae, luego al género *Mucor*. Las denominaciones *Thermomices lanuginosus*, *Rhizopus oryzae* y *Mucor javanicus* son las denominaciones genéricas biológicas dentro del género respectivo.

Lipasas preferidas según la invención son las enzimas de lipasa que pueden obtenerse en la compañía Amano Pharmaceuticals bajo las denominaciones Lipase M-AP10®, Lipase LE® y Lipase F® (también Lipase JV®). La lipasa F® se encuentra presente, por ejemplo, de manera natural en *Rhizopus oryzae*. La lipasa M-AP10® se encuentra presente, por ejemplo, de manera natural en *Mucor javanicus*.

Las composiciones de una forma muy particularmente preferida de realización de la invención contienen al menos una lipasa que se selecciona de al menos uno o varios polipéptidos con una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 90% (y cada vez más preferiblemente en al menos 81 %, 82 %, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) a la lipasa de tipo silvestre de la cepa DSM 4109 de *Thermomices lanuginosus*. En tal caso se prefiere nuevamente si a partir de la dicha lipasa de tipo silvestre de la cepa DSM 4109 se encuentra presente al menos la modificación de aminoácido N233R.

En el marco de otra forma de realización, pueden usarse preferiblemente según la invención tales lipasas derivadas principalmente de la lipasa de tipo silvestre de la cepa DSM 4109 que se seleccionan de al menos una enzima lipasa según al menos una de las reivindicaciones 1 a 13 de la publicación WO 00/60063 A1. Se hace referencia expresamente en todo alcance a la divulgación de la publicación WO 00/60063 A1.

En las composiciones de la invención se emplea de modo particularmente preferido al menos una lipasa que se deriva de la lipasa de tipo silvestre de la cepa DSM 4109 y en la lipasa a partir de dicho tipo silvestre se ha efectuado al menos una sustitución de un aminoácido eléctricamente neutro o cargado negativamente por un aminoácido positivamente cargado. La carga en agua se determina a pH 10. Aminoácidos negativos en el sentido de la invención son E, D, Y y C. aminoácidos cargados positivamente en el sentido de la invención son R, K y H, principalmente R y K. Aminoácidos neutros en el sentido de la invención son G, A, V, L, I, P, F, W, S, T, M, N, Q y C, si C forma un puente de disulfuro.

En el marco de esta forma de realización de la invención nuevamente se prefiere si a partir de la lipasa de tipo silvestre de la cepa DSM 4109 se encuentra presente al menos uno de los siguientes intercambios de aminoácidos en las posiciones D96L, T213R y/o N233R, de modo particularmente preferido T213R y N233R.

Se ha encontrado que como lipasa muy particularmente preferida en las composiciones según la invención se encuentra contenida al menos una lipasa que presenta a partir de la dicha lipasa de tipo silvestre de la cepa DSM 4109 *Thermomices lanuginosus* una de las siguientes modificaciones de aminoácido de los números (L1) a (L41) como única modificación (modificaciones en paréntesis opcionalmente):

(L1)	T231R+ N233R
(L2)	N94K+ D96L+ T231R+ N233R+ Q249R+ 270P+ 271G+ 272L
(L3)	D96L+ T231R+ N233R
(L4)	G91A+ E99K+ T231R+ N233R+ Q249R
(L5)	(N33Q) +D96L + T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L6)	R209P +T231R +N233R
(L7)	(N33Q) +E99N +N101S +T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L8)	K24C +(N33Q) +D96S +T231R +N233R +Q249R +270 PCL
(L9)	(N33Q) +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L10)	E1A +(N33Q) +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L11)	(N33Q) +G91A +E99K +G255R +T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L12)	(N33Q) +G91A +E99K +T231R +N233R +T244R +Q249R +270 PGL
(L13)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R
(L14)	E87K +G91D +D96L +G225P +T231R +N233R +Q249R +N251D
(L15)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270AGVF
(L16)	G91A +E99K +T189G +T231R +N233R +Q249R
(L17)	D102G +T231R +N233R +Q249R
(L18)	T231R +N233R +Q249R +270AGVF
(L19)	R209P +T231R +N233R
(L20)	N33Q +N94K +D96L +T231R +N233R +Q249R +270PGLPFKRV
(L21)	N33Q +N94K +D96L +T231R +N233R +Q249R
(L22)	N33Q +D96S +T231R +N233R +Q249R
(L23)	N33Q +D96S +V228I +T231R +N233R +Q249R
(L24)	E1A +N33Q +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270PGLPFKRV
(L25)	N33Q +S83T +E87K +G91A +E99K +T231R + N233R +Q249R +270PGLPFKRV
(L26)	N33Q +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270PGLPFKRV
(L27)	T231R +N233R +270CP
(L28)	T231R +N233R +270RE
(L29)	N33Q +E99N +N101S +T231R +N233R +Q249R +270PGLPFKRV
(L30)	D62A +S83T +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R
(L31)	E99N +N101S +T231R +N233R + Q249R
(L32)	R84W +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R
(L33)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270SPG
(L34)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270WVP
(L35)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270LLA88GRGGHR
(L36)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270VTT
(L37)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270VLQ
(L38)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270T8T
(L39)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270LRI
(L40)	V60G +D62E +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R
(L41)	G91A +D96W +E99K +T231R +N233R +G263Q+L264A +1265T +G2668 +T267A +L269N +270AGGF8

Composiciones preferidas de esta forma de realización se caracterizan porque, con respecto al peso total de la composición, dicho polipéptido se encuentra contenido en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.

Una lipasa sumamente preferida puede adquirirse comercialmente bajo el nombre comercial Lipex® de la compañía Novozymes (Dinamarca) y puede emplearse ventajosamente en las composiciones de limpieza según la invención. En este caso particularmente se prefiere la lipasa Lipex® 100 L (ex Novozymes A/S, Dinamarca). Las composiciones preferidas se caracterizan porque, con respecto al peso total de la composición dicha lipasa-enzima de Lipex® 100 L se encuentra contenida en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.

Las composiciones según la invención contienen obligatoriamente al menos una mananasa. Una mananasa contenida en la composición según la invención (principalmente en un producto de lavado y limpieza preferido según la invención para textiles) cataliza en el marco de su actividad de mananasa la hidrólisis de enlaces 1,4-beta-D-manosídicos en mananos, galactomananos, glucomananos y galactoglucomananos. Dichas enzimas mananasas según la invención se clasifican según la nomenclatura de enzimas como E.C. 3.2.1.78.

La actividad de mananasa de un polipéptido o de una enzima puede determinarse según procedimientos de ensayo conocidos en la bibliografía. En tal caso, por ejemplo, una solución de ensayo se introduce en agujeros con diámetros de 4 mm de una placa de agar que contiene 0,2 % en peso de AZGL galactomanano (algarrobo), es decir un sustrato para el ensayo de endo-1,4-beta-D-mananasa, puede obtenerse bajo el número de catálogo I-AZGMA de la compañía Megazyme (<http://www.megazyme.com>).

Composiciones adecuadas según la invención contienen, por ejemplo, la mananasa que es comercializada bajo el nombre Mannaway® por la compañía Novozymes.

Las enzimas mananasas fueron identificadas en numerosos organismos de bacilos:

la publicación WO 99/64619 divulga ejemplos de composiciones líquidas de productos para lavado que contienen proteasa con alto contenido total de tensioactivo de al menos 20 % en peso, que comprenden adicionalmente enzima mananasa.

Las composiciones según la invención contienen preferentemente, con respecto al peso total de la composición, mananasa en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.

Los polipéptidos de mananasa de cepas del grupo *Thermoanaerobacter*, tal como *Caldicellulosiruptor*, son particularmente adecuados según la invención. Igualmente, en el marco de la invención pueden emplearse polipéptidos de mananasa de los hongos *Humicola* o *Scytalidium*, principalmente de las especies *Humicola insolens* o *Scytalidium thermophilum*.

De acuerdo con la invención particularmente se prefiere si las composiciones según la invención, en calidad de enzima mananasa, contienen al menos un polipéptido de mananasa proveniente de cepas gram-positivas alcalofílicas de *Bacillus*, principalmente seleccionadas de al menos un representante del grupo de *Bacillus subtilis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus clausii*, *Bacillus agaradhaerens*, *Bacillus brevis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus lautus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cheniformis*, y *Bacillus sp.*, De modo particularmente preferido seleccionadas de al menos un representante del grupo de *Bacillus sp.* 1633, *Bacillus sp.* AA/12, *Bacillus clausii*, *Bacillus agaradhaerens* y *Bacillus licheniformis*.

Una mananasa preferida según la invención se selecciona de al menos un representante del grupo que se forma a partir de

i) polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos que tienen al menos 90% (cada vez más preferible al menos 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7% o 99,8%) identidad de secuencia con el polipéptidos según SEQ ID No.1 (cf. Protocolo de secuencias), y

ii) polipéptidos que son un fragmento de (i).

En este caso se prefiere a su vez que dicha mananasa preferida se encuentre contenida en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso, respectivamente con respecto al peso total de la composición, en la composición según la invención.

Por el fragmento definido respectivamente antes bajo (ii) se entienden, en caso de la mananasa preferiblemente empleable y de manera análoga a la definición mencionada al principio, todos los polipéptidos, proteínas o péptidos que son más pequeños que los péptidos que caen bajo (i) o aquellos que corresponden completamente a los genes traducidos y, por ejemplo, también pueden obtenerse sintéticamente. Debido a su secuencia de aminoácidos, estos pueden asignarse a las proteínas completas en cuestión. Pueden adoptar, por ejemplo, estructuras iguales o ejercer actividades proteolíticas o actividades parciales como, por ejemplo, la formación de complejos de un sustrato. Los fragmentos y variantes de supresión de las proteínas de partida son teóricamente similares; mientras que los fragmentos representan fracciones más bien más pequeñas, a los mutantes de supresión les falta solamente zonas cortas (opcionalmente sólo uno o varios aminoácidos). De esta manera es posible, por ejemplo, suprimir otros

aminoácidos individuales en los extremos o en los bucles de la enzima sin que por esto se pierda o se reduzca la actividad enzimática. Particularmente se prefieren supresiones principalmente de 1, hasta 2, hasta 3, hasta 4, hasta 5, principalmente hasta 10, preferiblemente hasta 20, de modo principalmente preferido hasta 30 aminoácidos en el lado N-terminal del polipéptido de la SEQ. ID No.1. En tal caso la actividad enzimática de la mananasa preferiblemente no se reduce o se reduce sólo en una pequeña medida, principalmente sólo hasta una reducción del 15% de la actividad de la enzima original (de modo particularmente preferido para mananasa según SeqID No. 1).

De modo particularmente preferido, la mananasa se selecciona de al menos un representante del grupo que se forma por polipéptidos que comprende una secuencia de aminoácidos que tienen al menos 90% (cada vez más preferiblemente al menos 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7% o 99,8%) de identidad de secuencia con el polipéptido de las posiciones 31 a 490 según SEQ ID No.1 (cf. Protocolo de secuencias).

De modo muy particularmente preferible, los polipéptidos tienen una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90% (cada vez más preferiblemente al menos 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7% o 99,8%) de identidad de secuencia con el polipéptido de las posiciones 31 a 490 según SEQ ID No.1 (cf. Protocolo de secuencias).

Principalmente se prefieren los polipéptidos cuya secuencia de aminoácidos sea idéntica en más de 99,0% a la secuencia según SEQ ID No.1.

Una enzima mananasa preferida se divulga de acuerdo con la reivindicación 1 de la publicación WO 99/64619; en la descripción de esta publicación WO se describe más detalladamente y, por lo tanto, se selecciona de al menos una enzima mananasa que se elige de al menos un representante del grupo que se forma por

i) polipéptidos que pueden codificarse por la parte codificante de la enzima mananasa de la secuencia de ADN, la cual es clonada en el plásmido presente en *Escherichia coli* DSM 12197,

ii) polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos tal como se muestra en las posiciones 33-340 de SEQ ID No: 1 en la publicación WO 99/64619,

iii) polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos como se muestra en las posiciones 31-990 o las posiciones 91-1470, respectivamente de SEQ ID No: 1 en la publicación WO 99/64619, o

iv) análogos de los polipéptidos definidos en (i) o (ii) que tienen al menos 90% (y cada vez más preferiblemente en al menos 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) de identidad de secuencia con el polipéptido, o son un fragmento de (i), (ii) o (iii).

La secuencia descrita en el marco de la presente invención bajo SEQ ID No.1 corresponde a la secuencia divulgada en la publicación WO 99/64619 bajo SEQ ID No.2.

Para interpretar las características de la enzima mananasa previamente definida, preferida según la invención (véase arriba), se recurre expresamente también a la divulgación completa de la publicación WO 99/64619 en todo su alcance. Igualmente, las enzimas mananasas mencionadas como preferidas en la publicación WO 99/64619 son consideradas preferidas en el sentido de la composición según la invención.

Las composiciones según la invención contienen obligatoriamente al menos una α -amilasa. Las α -amilasas (E.C. 3.2.1.1), en calidad de enzima, hidrolizan los enlaces internos α -1,4-glicosídicos de almidones y polímeros similares almidones. Esta actividad de α -amilasa es medida, por ejemplo, de acuerdo con las solicitudes de patentes WO 97/03160 A1 y GB 1296839 en KNU (kilo novo unidades). En esto, 1 KNU representa la cantidad de enzima que hidroliza 5,25 g de almidón (disponible en la compañía Merck, Darmstadt, Alemania) por una a 37°C, pH 5,6 y en presencia de 0,0043 M de iones de calcio. Un procedimiento de determinación de actividad alternativo es el llamado procedimiento DNS que se describe, por ejemplo, en la solicitud de patente WO 02/10356 A2. Después se detectan los oligosacáridos, di sacáridos y unidades de glucosa liberados por la enzima durante la hidrólisis mediante oxidación de los extremos reductores con ácido dinitrosalicílico (DNS). La actividad se obtiene en mmol de azúcar reductor (con respecto a maltosa) por minuto y mililitro; de esta manera resultan valores de actividad en TAU. La misma enzima puede determinarse mediante diferentes procedimientos, en cuyo caso los respectivos factores de conversión pueden variar según la enzima y, por lo tanto, tienen que establecerse promedio de un estándar. Aproximadamente puede calcularse que 1 KNU corresponde a alrededor de 50 TAU. Otro procedimiento de determinación de actividad es la medición con ayuda del kit de ensayo Quick-Start® de la compañía Abbott, Abott Park, Illinois, Estados Unidos de América.

El campo de empleo preferido según la invención de las composiciones según la invención es el lavado de textiles. Puesto que los productos para lavar y limpiar textiles presentan de manera preponderante valores alcalinos de pH,

para esto se emplean principalmente α -amilasas que son activas en medio alcalino. Estas son producidas y secretadas por microorganismos, es decir hongos o bacterias, ante todo aquellos de los géneros *Aspergillus* y *Bacillus*. A partir de estas enzimas naturales, se encuentra disponible, además, un montón casi inabarcable de variantes que han sido derivadas mediante mutagénesis y presentan ventajas específicas según el campo de aplicación.

Ejemplos de esto son las α -amilasas de *Bacillus licheniformis*, de *B. amiloliquefaciens* y de *B. Stearothermophilus*, así como sus desarrollos mejorados para el empleo en productos de lavado y de limpieza. La enzima de *B. licheniformis* se encuentra disponible en la compañía Novozymes bajo el nombre Termamyl® y en la compañía Genencor bajo el nombre Purastar®ST. Productos de perfeccionamiento de estas α -amilasas se encuentran disponibles en la compañía Novozymes bajo el nombre comercial Duramyl® y Termamyl®ultra, en la compañía Genencor bajo el nombre Purastar®OxAm y en la compañía Daiwa Seiko Inc., Tokio, Japón, como Keistase®. La α -amilasa de *B. Amiloliquefaciens* es comercializada por la compañía Novozymes bajo el nombre BAN®, y las variantes derivadas de la α -amilasa de *B. stearothermophilus* se encuentra disponible bajo los nombres BSG® y Novamyl®, igualmente de la compañía Novozymes.

Ejemplos de α -amilasas de otros organismos son los perfeccionamientos disponibles bajo los nombres comerciales Fungamyl® de la compañía Novozymes de la α -amilasa de *Aspergillus niger* y *A. oryzae*. Otro producto comercial es, por ejemplo, la Amylase-LT®.

Al estado de la técnica pertenecen, entre otras, las tres solicitudes de patente WO 96/23873 A1, WO 00/60060 A2 y WO 01/66712 A2, que han sido presentadas por parte de la compañía Novozymes. La publicación WO 96/23873 A1 describe en parte varias mutaciones puntuales diferentes en, en total, más de 30 posiciones diferentes en cuatro amilasas distintas de tipo silvestre y reivindica aquellas para todas las amilasas con al menos 80% de identidad con una de estas cuatro; estas deben presentar propiedades enzimáticas cambiadas con respecto a la termoestabilidad, la estabilidad a la oxidación y la dependencia de calcio. La publicación de la solicitud de patente WO 00/60060 A2 nombra igualmente una gran cantidad de intercambios posibles de aminoácidos en 10 posiciones diferentes sobre las α -amilasas de dos microorganismos diferentes y reivindica aquellos para todas las amilasas con una homología de al menos 96 % de identidad con estas. La publicación WO 01/66712 A2, finalmente, designa 31 posiciones de aminoácidos diferentes, parcialmente idénticas con las anteriormente mencionadas, que han sido mutadas en una de las dos α -amilasas mencionadas en la solicitud WO 00/60060 A2.

De la publicación WO 96/23873 A1 se desprende, por ejemplo, concretamente la posibilidad de reemplazar en las α -amilasas mencionadas un M en posición 9 según el recuento de AA560 por un L, en posición 202 M por L y suprimir los aminoácidos que se encuentran en las posiciones 182 y 183 (o bien, 183 y 184). La publicación WO 00/60060 A2 divulga, entre otras, concretamente la variación de aminoácidos N195X (es decir, en principio por cualquier otro aminoácido). La publicación WO 01/66712 A2 divulga, entre otras, las variaciones de aminoácidos R118K, G186X (entre ellas principalmente el intercambio G186R no relevante aquí), N299X (entre éstos, principalmente, el intercambio N299A no relevante aquí), R320K, E345R y R458K.

Las composiciones preferidas según la invención contienen α -amilasa en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.

De esta manera, una forma de realización de la presente solicitud representa si el producto según la invención contiene en calidad de α -amilasa contiene al menos un polipéptido con una identidad de al menos 92% (y cada vez más preferiblemente de al menos 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) con la secuencia de la SEQ ID No. 2 (cf. Protocolo de secuencias). La SEQ ID No. 2 es idéntica con la SEQ ID No. 2 divulgada en la publicación WO 2005/108537.

La α -amilasa preferida con la secuencia de la SEQ ID No. 2 es una variante de la α -amilasa AA349 que puede derivarse de esta enzima mediante mutaciones puntuales o de supresión R118K, G182-, D183-, N195F, R320K y R458K.

La α -amilasa AA349 se desprende como secuencia bajo la SEQ ID No. 3 de la previamente mencionada solicitud WO 2005/108537. Ésta es idéntica a la α -amilasa AA560 a nivel de aminoácido, tal como se menciona en la misma solicitud. Ambas enzimas de tipo silvestre se forman de acuerdo con esta solicitud de manera natural a partir de cepas de especies de *Bacillus*, que han sido depositadas bajo los números DSM 12648 y DSM 12649 en la Deutschen Sammlung de Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, [Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares] Mascheroder Weg 1b, 38124 Brunswick (<http://www.dsmz.de>) por parte de la compañía Novozymes.

Las composiciones preferidas según la invención contienen en calidad de α -amilasa al menos un polipéptido con una identidad de al menos 92%, (principalmente al menos 93%, preferiblemente al menos 95%, de modo particularmente preferible al menos 96%, de modo muy particularmente preferible al menos 98%) con la secuencia con la SEQ ID No. 2 en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.

Igualmente se prefiere si los productos según la invención contienen en calidad de enzima amilasa al menos una enzima α -amilasa la cual puede obtenerse a partir de una α -amilasa de partida homologable con la α -amilasa AA560

mediante modificaciones de aminoácidos en las siguientes posiciones: 9, 149, 182, 186, 202, 257, 295, 299, 323, 339, 345 y opcionalmente otras (en el recuento según la α -amilasa AA560). En este caso se prefiere si a partir de una α -amilasa de partida, homologable con la AA560, se presenta la modificación de aminoácido M202L. Como enzima de referencia, con respecto a la numeración de las posiciones, según la invención ha de considerarse la α -amilasa AA560 del microorganismo depositado bajo el número DSM 12649 según la publicación WO 00/60060 A2, cuya secuencia de aminoácidos se representa en el protocolo de secuencias de allí. Como homologable con la α -amilasa AA560 (AA560), en el sentido de la presente solicitud, se considera cada enzima amilolítica, es decir la α -amilasa mostrada en la SEQ ID No. 4 de la publicación WO 00/60060 A2, que posee un valor mínimo de homología de 20% de identidad, tal como puede determinarse, por ejemplo, según el procedimiento indicado por D. J. Lipman y W. R. Pearson en Science 227 (1985), páginas 1435-1441. La molécula presenta, de manera cada vez más preferida, una identidad de 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90% con una de estas dos α -amilasas. Composiciones preferidas según la invención contienen dicha α -amilasa en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.

Principalmente, la enzima amilasa se selecciona de al menos una α -amilasa que puede obtenerse a partir de la α -amilasa AA560 mediante las siguientes modificaciones de aminoácidos:

(A1) M9L / M202I,

(A2) M9L / M202I / M323T,

(A3) M9L / M202I / M323T / M382Y,

(A4) M9L / M202I / Y295F / A339S,

(A5) M9L / M202I / Y295F,

(A6) M9L / M202I / A339S,

(A7) M9L / M202I / Y295F / A339S,

(A8) M9L / M202I / Y295F / A339S / E345R,

(A9) M9L / G149A / M202I / Y295F / A339S / E345R,

(A10) M9L / M202L,

(A11) M9L / M202L / M323T,

(A12) M9L / M202L / M323T / M382Y,

(A13) M9L / M202L / Y295F / A339S,

(A14) M9L / M202L / Y295F,

(A15) M9L / M202L / A339S,

(A16) M9L / M202L / Y295F / A339S,

(A17) M9L / M202L / Y295F / A339S, E345R,

(A18) M9L / G149A / M202L / Y295F / A339S / E345R,

(A19) M9L / M202T,

(A20) M9L / M202T / M323T,

(A21) M9L / M202T / M323T / M382Y,

(A22) M9L / M202T / Y295F / A339S,

(A23) M9L / M202T / Y295F,

(A24) M9L / M202T / A339S,

(A25) M9L / M202T / Y295F / A339S,

ES 2 718 320 T3

- (A26) M9L / M202T / Y295F / A339S / E345R,
(A27) M9L / G149A / M202T / Y295F / A339S / E345R,
- 5 (A28) M9L / G149A / M202I / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
(A29) M9L / G149A / M202L / V214I / Y295F / M323T / A339S / E345R / M382Y,
- 10 (A30) M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / V214I / Y295F / N299Y / M323T / A339S,
(A31) M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / T257I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
- (A32) M9L / G149A / M202L / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
- 15 (A33) M9L / G149A / M202I / V214I / Y295F / M323T / A339S / E345R / M382Y,
(A34) M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / V214I / Y295F / N299Y / M323T / A339S,
- 20 (A35) M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / T257I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
(A36) M9L / G149A / M202I / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R / N471E,
- (A37) M9L / G149A / M202L / V214I / Y295F / M323T / A339S / E345R / M382Y / N471E,
- 25 (A38) M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / V214I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / N471E,
(A39) M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / T257I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R / N471E,
- (A40) M202L / M105F / M208F,
- 30 (A41) G133E / M202L / Q361E,
(A42) G133E / M202L / R444E,
- 35 (A43) M202L / Y295F,
(A44) M202L / A339S,
- (A45) M202L / M323T,
- 40 (A46) M202L / M323T / M309L,
(A47) M202L / M323T / M430I,
- 45 (A48) M202L / V214T / R444Y,
(A49) M202L / N283D / Q361E,
- (A50) M202L / M382Y / K383R,
- 50 (A51) M202L / K446R / N484Q,
(A52) M202I / Y295F,
- 55 (A53) M202I / A339S,
(A54) M202I / M105F / M208F,
- (A55) G133E / M202I / Q361E,
- 60 (A56) G133E / M202I / R444E,
(A57) M202I / M323T,
- 65 (A58) M202I / M323T / M309L,

- (A59) M202I / M323T / M430I,
 (A60) M202I / V214T / R444Y,
 5 (A61) M202I / N283D / Q361E,
 (A62) M202I / M382Y / K383R,
 (A63) M202I / K446R / N484Q,
 10 (A64) M202V / M105F / M208F,
 (A65) G133E / M202V / Q361E,
 15 (A66) G133E / M202V / R444E,
 (A67) M202V / M323T,
 (A68) M202V / M323T / M309L,
 20 (A69) M202V / M323T / M430I,
 (A70) M202V / M323T / M9L,
 25 (A71) M202V / V214T / R444Y,
 (A72) M202V / N283D / Q361E,
 (A73) M202V / M382Y / K383R,
 30 (A74) M202V / K446R / N484Q,
 (A75) M202T / M105F / M208F,
 35 (A76) G133E / M202T / Q361E,
 (A77) G133E / M202T / R444E,
 (A78) M202T / Y295F,
 40 (A79) M202T / A339S,
 (A80) M202T / M323T,
 45 (A81) M202T / M323T / M309L,
 (A82) M202T / M323T / M430I,
 (A83) M202T / M323T / M9L,
 50 (A84) M202T / V214T / R444Y,
 (A85) M202T / N283D / Q361E,
 55 (A86) M202T / A339S,
 (A87) M202T / Y295F
 (A88) M202T / N299F,Y,
 60 (A89) M202T / M382Y / K383R o
 (A90) M202T / K446R / N484Q
 65 De cara a las amilasas anteriores (A1) a (A90), entre las amilasas se selecciona preferiblemente a su vez con la modificación de aminoácido M202L.

Las α -amilasas empleadas en las composiciones según la invención pueden producirse según procedimientos biotecnológicos conocidos per se mediante microorganismos adecuados, por ejemplo, por hongos filamentosos en calidad de anfitriones transgénicos de expresión o preferentemente aquellos de los géneros *Bacillus*, porque las enzimas de partida AA349 y AA560 son ellas mismas enzimas de *Bacillus*. Para la preparación de los constructos correspondientes de expresión pueden usarse, por ejemplo, la secuencia de nucleótidos indicadas en las SEQ ID No. 1 o 3 de la publicación WO 00/60060 A2 y se realizan intercambios destacados en la figura 1 mediante mutagénesis puntual, por ejemplo, mediante cebadores de error de coincidencia. Las etapas de trabajo requeridas para esto se desprenden, por ejemplo, del manual de Fritsch, Sambrook y Maniatis "Molecular cloning: a laboratory manual", Cold Spring Harbour Laboratory Press, Nueva York, 1989. Además, para esto se encuentran disponibles numerosos kits comerciales, por ejemplo, el kit QuickChange® de la compañía Stratagene, La Jolla, Estados Unidos de América. El principio consiste en que los oligonucleótidos se sintetizan con intercambios individuales (cebadores de error de coincidencia) y se hibridan con el gen presentado de modo monocatenario; la polimerización de ADN subsiguiente da lugar luego a los respectivos mutantes puntuales. Estos genes se integran por medio de los procedimientos conocidos en vectores y esto se usan para la preparación de los anfitriones deseados de expresión.

Para la preparación biotecnológica de proteínas por medio de anfitriones de expresión de este tipo se encuentra disponible un variado estado de la técnica. La purificación se efectúa de manera ventajosa mediante procedimientos establecidos, por ejemplo, mediante precipitación, sedimentación, concentración, filtración de las fases líquidas, micro filtración, ultrafiltración, acción de productos químicos, por ejemplo, para precipitar, etapas cromatográficas, desodorización o combinaciones adecuadas de estas etapas

La solución del problema técnico de la presente invención se perfecciona de manera particularmente pronunciada si se emplean composiciones según la invención que contienen a lo sumo cantidades muy bajas de proteasa o no contienen proteasa. Por esta razón, de acuerdo con la invención se prefiere si la composición según la invención contiene, con respecto a su peso total, proteasa en una cantidad total de 0 a 0,0005 % en peso, preferiblemente de 0 a 0,0001 % en peso, muy preferiblemente de 0 a 0,00005 % en peso. De la manera más preferida, las composiciones según la invención son libres de proteasa.

Una proteasa es una enzima que disocia los enlaces peptídicos mediante hidrólisis. Cada una de las enzimas de la clase E.C. 3.4 cae según la invención en esa clasificación (la cual comprende cada una de las 13 subclases que caen en esa clasificación). El número EC corresponde a la nomenclatura de enzimas de 1992 de NC-IUBMB, Academic Press, San Diego, California, incluidos los complementos 1 a 5, publicada en Eur. J. Biochem. 1994, 223, 1-5; Eur. J. Biochem. 1995, 232, 1-6; Eur. J. Biochem. 1996, 237, 1-5; Eur. J. Biochem. 1997, 250, 1-6; and Eur. J. Biochem. 1999, 264, 610-650.

La subtilasa nombra un subgrupo de las serina-proteasas. Las serina-proteasas o serina-peptidasas son un subgrupo de las proteasas que poseen serina en el centro activo de la enzima, que forma un producto de adición covalente con el sustrato. Además, las subtilasas (y las serina-proteasas) se caracterizan porque presentan, además de la dicha serina con histidina y aspartato, dos otros residuos de aminoácidos en el centro activo. Las subtilasas pueden [dividirse] en 6 subclases, más precisamente la familia subtilisina, la familia termitasa, la familia proteinasa K, la familia de las peptidasas lantibióticas, la familia kexina y la familia pirolizina. Las proteasas preferiblemente excluidas como componente de las composiciones según la invención, o contenidas preferiblemente en cantidades reducidas son endopeptidasas (EC 3.4.21).

Según la invención se presenta "actividad de proteasa" si la enzima posee actividad proteolítica (EC 3.4). Se conocen diversos tipos de actividad de proteasa: los tres tipos principales son: similares a tripsina, en cuyo caso se efectúa una disociación del sustrato de amida después de los aminoácidos Arg o Lys en P1; de tipo quimotripsina, en cuyo caso se efectúa una disociación según uno de los aminoácidos hidrófugos en P1; y de tipo elastasa en cuyo caso se efectúa una disociación de un sustrato de amida después de Ala en P1.

La actividad de proteasa puede determinarse según el procedimiento descrito en Tensioactivos, volumen 7 (1970), páginas 125-132. Consecuentemente se indica en PE (unidades de proteasa). La actividad de proteasa de una enzima puede [determinarse] según procedimientos estándar corrientes como, principalmente, empleando BSA en calidad de sustrato (albúmina bovina) y/o con el procedimiento AAPF.

Según la invención se prefiere si las composiciones líquidas contienen adicionalmente al menos una celulasa. Una celulasa es una enzima. Para celulasas pueden usarse términos sinónimos, principalmente endoglucanasa, endo-1,4-beta-glucanasa, carboximetilcelulosa, endo-1,4-beta-D-glucanasa, beta-1,4-glucanasa, beta-1,4-Endoglucanhidrolasa, celudextrinasa o avicelasa. Si una enzima es una celulasa en el sentido de la invención, es decisiva su capacidad para la hidrólisis de enlaces 1,4- β -D-glucosídicos en la celulosa.

Las celulasas que pueden confeccionarse según la invención (endoglucanasas, EG) comprende, por ejemplo, la preparación fúngica de celulosa rica en endoglucanasa (EG), o bien sus desarrollos perfeccionados que se ofrecen por parte de la compañía Novozymes bajo el nombre comercial Celluzyme®. Los productos igualmente disponibles por la compañía Novozymes Endolase® y Carezyme® se basan en la 50 kD-EG, o en la 43 kDEG de *Humicola*

insolens DSM 1800. Otros productos comerciales que pueden emplearse de esta compañía son Cellusoft®, Renozyme® y Celluclean®. Además, también pueden emplearse, por ejemplo, celulasas que se encuentran disponibles en la compañía AB Enzymes, Finlandia, bajo los nombres comerciales Ecostone® y Biotouch®, y que se basan, al menos parcialmente, en la 20 kD-EG de *Melanocarpus*. Otras celulasas de la compañía AB Enzymes son Econase® y Ecopulp®. Otras celulasas adecuadas son de *Bacillus sp.* CBS 670,93 y CBS 669.93, en cuyo caso aquellas de *Bacillus sp.* CBS 670,93 pueden obtenerse en la compañía Danisco/Genencor bajo el nombre comercial Puradax®. Otros productos comerciales de la compañía Danisco/Genencor que pueden usarse son "Genencor detergent cellulase L" e Indi-Age®Neutra. Variantes de estas enzimas que pueden obtenerse mediante mutaciones puntuales pueden emplearse según la invención. Celulasas particularmente preferidas son las variantes de celulasa *Thielavia terrestris*, que se divulgan en la publicación de la solicitud internacional de patente WO 98/12307, celulasas de *Melanocarpus*, principalmente *Melanocarpus albomices*, las cuales se divulgan en la ubicación de la solicitud internacional de patente WO 97/14804, celulasas del tipo EGIII-Typ de *Trichoma reesei*, que se divulgan en la solicitud de patente europea EP 1 305 432, o bien las variantes que pueden obtenerse a partir de estas; principalmente aquellas que se divulgan en las solicitudes de patentes europeas EP 1240525 y EP 1305432, así como celulasas que se divulgan en las solicitudes internacionales de patente WO 1992006165, WO 96/29397 y WO 02/099091. Por lo tanto, se hace referencia a su respectiva divulgación o se incluye expresamente su correspondiente contenido de divulgación en la presente solicitud de patente.

Composiciones particularmente preferidas según la invención se caracterizan porque en calidad de celulasa adicional contienen al menos una celulasa de 20K que puede obtenerse de celulasa de *Melanocarpus sp.* o *Myriococcum sp.* O aquella que presenta una homología de más de 80% (de modo cada vez más preferido de más de 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) a esta.

La celulasa de 20K que puede obtenerse de *Melanocarpus sp.* o *Myriococcum sp.* Es conocida por la solicitud internacional de patente WO 97/14804. Tal como se describe allí, posee un peso molecular de aproximadamente 20 kDa y a 50 °C en el intervalo de pH de 4 a 9 presenta al menos 80% de su máxima actividad, en cuyo caso todavía casi 50% de la actividad máxima se mantiene en pH 10. Tal como se describe también allí, puede aislarse de *Melanocarpus albomices* y producirse en transformantes de *Trichoma reesei* producidos mediante ingeniería genética. En el sentido de la presente invención, también son útiles celulasas que presentan una homología de más de 80% (cada vez más preferiblemente de más de 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) con la celulasa 20K.

La celulasa K20 se usa de preferencia en tales cantidades que una composición según la invención presenta una actividad celulítica de 1 NCU/g a 500 NCU/g (determinable mediante la hidrólisis de carboximetilcelulosa al 1% en peso a 50 °C y pH neutro y determinación de los azúcares reductores liberados en este caso por medio de ácido dinitrosalicílico, tal como se describe por parte de M.J.Bailey et al. en Enzyme Microb. Technol. 3: 153 (1981); 1 NCU define la cantidad de enzima que genera los azúcares reductores en una cantidad que corresponde a 1 nmol de glucosa por segundo), principalmente de 2 NCU/g a 400 NCU/g y de modo particularmente preferido de 6 NCU/g a 200 NCU/g. Además, la composición según la invención puede contener opcionalmente además otras celulasas.

Una composición según la invención contiene de preferencia 0,001 mg a 0,5 mg, principalmente 0,02 mg a 0,3 mg de proteína celulítica por gramo de toda la composición. La concentración de proteína puede determinarse con ayuda de procedimientos conocidos, por ejemplo, el procedimiento de ácido bicinonínico (procedimiento BCA, Pierce Chemical Co., Rockford, IL) o el procedimiento de biuret (A.G. Gornall, C.S. Bardawill y M.M. David, J. Biol. Chem. 177, 751-766, 1948).

A su vez, de acuerdo con la invención particularmente se prefiere, de manera adicional a al menos una primera celulasa que puede obtenerse de una celulasa de 20K de *Melanocarpus sp.* o *Myriococcum sp.* o de aquella que presenta una homología de más de 80% (cada vez más preferiblemente de más de 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) con esta, emplear al menos una segunda celulasa diferente de la primera celulasa.

En general, las enzimas contenidas en una composición según la invención pueden adsorberse sobre materiales portadores (sustratos) y/o incrustarse en sustancias de envoltura para protegerlas contra una desactivación prematura.

A las composiciones según la invención pueden agregarse las enzimas obtenidas en cada una de las formas establecidas según el estado de la técnica. Estas incluyen, principalmente, las preparaciones sólidas obtenidas mediante granulación, extrusión o liofilización, de manera ventajosa en forma tan concentrada como sea posible, con poca agua y/o mezcladas con estabilizantes. En una forma de administración alternativa, las enzimas también pueden encapsularse, por ejemplo, mediante secado por aspersión o extrusión de la solución enzimática conjuntamente con un polímero, de preferencia natural, o en forma de cápsulas, por ejemplo, aquellas en las cuales las enzimas están incluidas como en un gel solidificado o en aquellas de tipo núcleo-envoltura, en el cual un núcleo que contiene la

enzima es revestido con una capa protectora impermeable al agua, el aire y/o los productos químicos. En las capas colocadas pueden aplicarse adicionalmente otras sustancias activas, por ejemplo, estabilizantes, emulsionantes, pigmentos, blanqueadores o colorantes. Cápsulas de este tipo se aplican según procedimientos conocidos per se, por ejemplo, mediante granulación en tolva o con rodillo o en procedimientos de lecho fluido. De manera ventajosa, los granulados de este tipo son estables, por ejemplo, aplicando formadores poliméricos de película con poco polvo y estables durante el almacenamiento debido al recubrimiento.

Adicionalmente, las composiciones según la invención pueden contener otros ingredientes que mejoran las propiedades técnicas de aplicación y/o estéticas del producto de lavado. En el marco de la presente invención, la composición según la invención contiene preferentemente, de manera adicional, una o varias sustancias del grupo de los blanqueadores, formadores de complejo, mejoradores de detergente (materiales de armazón), electrolitos, ajustadores de pH, perfumes, portadores de perfume, agentes fluorescentes, colorantes, hidrotropos, inhibidores de espuma, aceite de silicona, agentes de anti-redeposición, inhibidores de corrido de color, agentes anti-arrugas, inhibidores de transferencia de color, sustancias activas antimicrobianas, germicidas, fungicidas, antioxidantes, preservantes, inhibidores de corrosión, antiestáticos, agentes amargos, adyuvantes de planchado, materiales hidrófugos y de impregnación, materiales de anti-hinchamiento y anti-deslizamiento, componente suavizantes, así como absorbentes de UV.

Como blanqueadores pueden servir todas las sustancias que destruyen o absorben colorantes mediante oxidación, reducción o adsorción y decoloran de esta manera los materiales. A estos pertenecen, entre otros, blanqueadores que contienen hipohalogenitos, peróxido de hidrógeno, perborato, percarbonato, ácido peroxo-acético, ácido diperoxoazelaico, ácido diperoxododecandioico y sistemas enzimáticos oxidantes.

Como mejoradores de detergentes (materiales de armazón) que pueden estar contenidos en las composiciones según la invención pueden mencionarse principalmente silicatos, aluminosilicatos (principalmente zeolitas), carbonatos, sales de ácidos di- y policarboxílicos orgánicos, así como mezclas de estas sustancias.

Mejoradores orgánicos de detergente que pueden estar presentes en la composición según la invención son, por ejemplo, los ácidos carboxílicos que pueden emplearse en forma de sus sales de sodio, en cuyo caso por ácidos policarboxílicos se entienden aquellos ácidos carboxílicos que tienen más de una función ácida. Por ejemplo, estos son ácido cítrico, ácido adípico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido fumárico, ácidos de azúcar, ácidos aminocarboxílicos y mezclas de estos. Sales preferidas son las sales de los ácidos policarboxílicos como ácido cítrico, ácido adípico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido tartárico, ácidos de azúcar y mezclas de estos.

Como mejoradores de detergentes son adecuados, además, policarboxilatos poliméricos. Estos son, por ejemplo, las sales de metal alcalino del poliácido acrílico o del poliácido metacrílico, por ejemplo, aquellas que tienen una masa molecular relativa de 600 a 750,000 g/mol.

Polímeros adecuados son principalmente poliácridatos que presentan preferiblemente una masa molecular de 1.000 a 15.000 g/mol. Debido a su solubilidad superior, de este grupo pueden preferirse a su vez los poliácridatos de cadena corta que presentan masas moleculares de 1.000 a 10,000 g/mol, y de modo particularmente preferido de 1.000 a 5.000 g/mol.

Además, son adecuados policarboxilatos copoliméricos, principalmente aquellos del ácido acrílico con ácido metacrílico y del ácido acrílico o ácido metacrílico con ácido maleico. Para mejorar la hidrosolubilidad, en calidad de monómero los polímeros también pueden contener ácidos alilosulfónicos, tales como ácido alilobencenosulfónico y ácido metalilosulfónico.

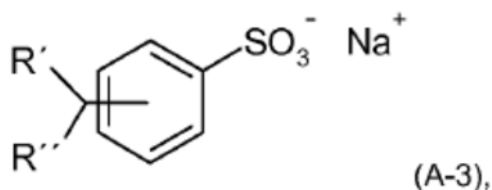
En las composiciones líquidas según la invención se emplean preferiblemente mejoradores de detergente solubles como, por ejemplo, ácido cítrico o polímeros acrílicos que tienen una masa molecular de 1.000 a 5.000 g/mol.

Una composición líquida muy particularmente preferida según la invención, principalmente para el lavado de textiles, contiene

(a) agua,

(b1) al menos un tensioactivo aniónico de la fórmula $R^1-O-(AO)_n-SO_3^- X^+$, y

(b2) al menos un tensioactivo aniónico de la fórmula A-3



y

5 (b3) al menos un tensioactivo no iónico de la fórmula $R^2-O-(AO)_m-H$, en la cual en las fórmulas de las letras (b1), (b2), (b3)

R^1 R' y R'' representan un residuo alquilo lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, arilo o alquilarilo, contienen juntos 9 a 19, de preferencia 11 a 15 y principalmente 11 a 13 átomos de C,

10 AO independientemente entre sí representa una agrupación de óxido de etileno (EO) o de óxido de propileno (PO),

n, m independientemente entre sí representa números enteros de 1 a 50,

15 X representa un catión monovalente o la n-ava parte de un catión n-valente,

(c) al menos una lipasa

(d) al menos una mananasa,

20 (e) al menos una α -amilasa,

(f) preferiblemente al menos una celulasa,

25 (g) con respecto al peso total de la composición enzima con actividad de proteasa en una cantidad total de 0 a 0,0005 % en peso con la condición de que con respecto al peso total de la composición la cantidad total de tensioactivo se encuentre entre 0,1 y 13 % en peso, preferiblemente hacienda a 3,0 hasta 10,0 % en peso. En tal caso, en el marco de esta forma de realización se prefieren, *mutatis mutandis*, a su vez los representantes caracterizados previamente como preferidos (véase arriba) de las características anteriores (a) a (g), principalmente las cantidades preferidas de los ingredientes.

Un segundo objeto de la invención es el uso de una composición líquida del primer objeto de la invención contra la coloración grisácea de textiles.

35 Un tercer objeto de la invención es el uso de una composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 20 para limpiar textiles.

Un cuarto objeto de la invención es un procedimiento para limpiar textiles, el cual comprende proporcionar un líquido de lavado empleando al menos los siguientes componentes

40 (i) al menos una composición del primer objeto de la invención,

(ii) preferiblemente al menos un disolvente, principalmente agua, y

45 (iii) al menos un textil.

Un líquido de lavado es según la invención al menos la cantidad total de los componentes enumerados bajo los números (i) y (iii).

50 Los procedimientos para la limpieza de textiles se caracterizan en general porque en varias etapas procedimentales se aplican diferentes sustancias activas para limpieza sobre el objeto a limpiar y después de un tiempo de acción se lavan, o porque el objeto a limpiar es tratado de otra manera con una composición del primer objeto de la invención o una solución de esta composición.

55 Si al líquido de lavado se introduce adicionalmente un componente (ii) del procedimiento según la invención, entonces según la invención se prefiere combinar una parte de volumen del componente (i) con 5 a 3000 partes de volumen del componente (ii).

En los procedimientos descritos, en diferentes formas de realización de la invención se emplean temperaturas de 60 °C o menos, 40 °C o menos, 30 °C o menos o 20 °C o menos. Estos datos de temperatura se refieren a las temperaturas empleadas en las etapas de lavado.

5 Ejemplos

Fueron preparadas las siguientes composiciones:

Ingrediente	V1 Cantidad en % en peso	E1 Cantidad en % en peso
Ácido bórico	0,5	0,5
Ácido	ad pH 8,5	ad pH 8,5
Éter sulfato de alcohol graso con 2 moles de EO	4,6	3,0
Éter de alcohol graso con 7 EO	3,7	3,3
Ácido alquilobencenosulfónico	3,0	2,7
NaOH	0,6	0,6
Jabón de ácido graso de coco	1,3	0,5
Acusol OP 301	0,1	0,1
Amilasa según SEQ ID NO.2	-	0,04
Mananasa según SEQ ID NO.1	-	0,04
Lipasa	-	0,05
Celulasa según el punto 18 (véase arriba)	0,07	0,07
Celulasa	0,02	0,02
Agua	Ad 100	Ad 100

- 10 Además, como otras composiciones comparativas, se prepararon composiciones según la invención, E1, sin la adición de lipasa, sin la adición de mananasa y sin la adición de lipasa y sin mananasa y se reemplazó de manera correspondiente el contenido de enzimas por agua.

Determinación del desempeño de anti-coloración grisácea en el ensayo de lavado

- 15 En una máquina de lavar de tipo Miele Softtronic W 1734 en el programa de lavado "easy care" fue lavada 5 veces ropa de ensayo blanca estandarizada (2,5 kg) en presencia respectivamente de ropa recién ensuciada estandarizada durante un lapso de 70 minutos y un nivel de agua de 17 litros (dureza 16 d).

- 20 Mediante mediciones colorimétricas fue medido el valor Y del producto blanco de lavado de prueba antes y después de lavar y fue calculada la diferencia dY antes y después de lavar. Cuanto más grande sea el valor de dY, más cercano se encuentra el valor blanco del producto a lavar después del lavado al valor de partida y tanto mejor es el desempeño de anti-coloración grisácea.

Producto blanco de lavado de ensayo	V1	V2 (E1 sin lipasa)	V3 E1 sin mananasa	V4 E1 sin lipasa, mananasa	E1
Algodón	-5,3	-4,6	-4,2	-5,4	-3,4
Sintético	-5,9	-6,1	-4,2	-6,3	-3,9
Textiles estándar	-5,9	-4,5	-4,5	-6,4	-3,7
Valor medio	-5,7	-5,1	-4,3	-6,0	-3,7

- 25 La composición según la invención E1 presenta el mejor desempeño de anti-coloración grisácea a pesar de la cantidad reducida de tensioactivo.

Listado de secuencias

- 30 <110> Henkel AG & Co. KGaA
- <120> Producto de lavado o de limpieza con contenido reducido de tensioactivo
- 35 <130> PT032362 EP
- <140> EP 14809627.4
- <141> 2014-12-08
- 40 <150> DE 10 2013 226 835.1
- <151> 2013-12-20

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 490

<212> PRT

<213> cepa Bacillus l633 precursor de mananasa

<400> 1

```

Leu Asn Asn Gly Phe Lys Lys Ile Phe Ser Ile Thr Leu Ser Leu Leu
1          5          10          15

Leu Ala Ser Ser Ile Leu Phe Val Ser Gly Thr Ser Thr Ala Asn Ala
          20          25          30

Asn Ser Gly Phe Tyr Val Ser Gly Thr Thr Leu Tyr Asp Ala Asn Gly
          35          40          45

Asn Pro Phe Val Met Arg Gly Ile Asn His Gly His Ala Trp Tyr Lys
          50          55          60

Asp Gln Ala Thr Thr Ala Ile Glu Gly Ile Ala Asn Thr Gly Ala Asn
65          70          75          80

Thr Val Arg Ile Val Leu Ser Asp Gly Gly Gln Trp Thr Lys Asp Asp
          85          90          95

Ile His Thr Val Arg Asn Leu Ile Ser Leu Ala Glu Asp Asn His Leu
          100          105          110

Val Ala Val Pro Glu Val His Asp Ala Thr Gly Tyr Asp Ser Ile Ala
          115          120          125

Ser Leu Asn Arg Ala Val Asp Tyr Trp Ile Glu Met Arg Ser Ala Leu
          130          135          140

```

Ile Gly Lys Glu Asp Thr Val Ile Ile Asn Ile Ala Asn Glu Trp Phe
 145 150 155 160
 Gly Ser Trp Glu Gly Asp Ala Trp Ala Asp Gly Tyr Lys Gln Ala Ile
 165 170 175
 Pro Arg Leu Arg Asn Ala Gly Leu Asn His Thr Leu Met Val Asp Ala
 180 185 190
 Ala Gly Trp Gly Gln Phe Pro Gln Ser Ile His Asp Tyr Gly Arg Glu
 195 200 205
 Val Phe Asn Ala Asp Pro Gln Arg Asn Thr Met Phe Ser Ile His Met
 210 215 220
 Tyr Glu Tyr Ala Gly Gly Asn Ala Ser Gln Val Arg Thr Asn Ile Asp
 225 230 235 240
 Arg Val Leu Asn Gln Asp Leu Ala Leu Val Ile Gly Glu Phe Gly His
 245 250 255
 Arg His Thr Asn Gly Asp Val Asp Glu Ala Thr Ile Met Ser Tyr Ser
 260 265 270
 Glu Gln Arg Gly Val Gly Trp Leu Ala Trp Ser Trp Lys Gly Asn Gly
 275 280 285
 Pro Glu Trp Glu Tyr Leu Asp Leu Ser Asn Asp Trp Ala Gly Asn Asn
 290 295 300
 Leu Thr Ala Trp Gly Asn Thr Ile Val Asn Gly Pro Tyr Gly Leu Arg
 305 310 315 320
 Glu Thr Ser Arg Leu Ser Thr Val Phe Thr Gly Gly Gly Ser Asp Gly
 325 330 335
 Gly Thr Ser Pro Thr Thr Leu Tyr Asp Phe Glu Gly Ser Met Gln Gly
 340 345 350
 Trp Thr Gly Ser Ser Leu Ser Gly Gly Pro Trp Ala Val Thr Glu Trp
 355 360 365
 Ser Ser Lys Gly Ser His Ser Leu Lys Ala Asp Ile Gln Leu Ser Ser
 370 375 380
 Asn Ser Gln His Tyr Leu His Val Ile Gln Asn Thr Ser Leu Gln Gln
 385 390 395 400

ES 2 718 320 T3

Asn Ser Arg Ile Gln Ala Thr Val Lys His Ala Asn Trp Gly Ser Val
405 410 415

Gly Asn Gly Met Thr Ala Arg Leu Tyr Val Lys Thr Gly His Gly Tyr
420 425 430

Thr Trp Tyr Ser Gly Ser Phe Val Pro Ile Asn Gly Ser Ser Gly Thr
435 440 445

Thr Leu Ser Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln Asn Leu Ser Gln Val Arg
450 455 460

Glu Ile Gly Val Gln Phe Gln Ser Ala Ser Asp Ser Ser Gly Gln Thr
465 470 475 480

Ser Ile Tyr Ile Asp Asn Val Ile Val Glu
485 490

<210> 2

5

<211> 483

<212> PRT

10

<213> alfa amilasa de Bacillus variante AA349

<400> 2

ES 2 718 320 T3

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

ES 2 718 320 T3

Gln Glu Val Ser Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp
 130 135 140
 Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Asn Phe Lys Trp Arg Trp Tyr
 145 150 155 160
 His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Lys Leu Asn Asn Arg
 165 170 175
 Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Lys Gly Trp Asp Trp Glu Val Asp Thr Glu
 180 185 190
 Phe Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met Asp His
 195 200 205
 Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr Thr Asn
 210 215 220
 Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His Ile Lys
 225 230 235 240
 Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala Thr Gly
 245 250 255
 Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu Gly Ala
 260 265 270
 Ile Glu Asn Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val Phe Asp
 275 280 285
 Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly Gly Asn
 290 295 300
 Tyr Asp Met Arg Gln Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Lys His Pro
 305 310 315 320
 Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro Glu Glu
 325 330 335
 Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala
 340 345 350
 Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr Gly Asp
 355 360 365
 Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Lys Ser Lys Ile
 370 375 380

ES 2 718 320 T3

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

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

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

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

Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Lys Ala Gly Thr Val Thr Ile Asn Ala
450 455 460

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

Val Asn Lys

REIVINDICACIONES

1. Composición líquida, principalmente para la limpieza de textiles, que contiene

(a) agua,

(b) al menos un tensioactivo,

(c) al menos una lipasa

(d) al menos una mananasa,

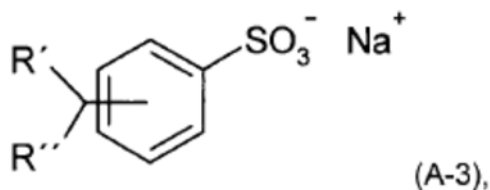
(e) al menos una α -amilasa,

con la condición de que con respecto al peso total de la composición la cantidad total de tensioactivo se encuentra 0,1 y 13 % en peso y con respecto al peso total de la composición está contenida enzima con actividad de proteasa en una cantidad total de 0 a 0,0005 % en peso.

2. Composición líquida según la reivindicación 1, caracterizada porque como tensioactivo se encuentra contenido al menos un tensioactivo aniónico.

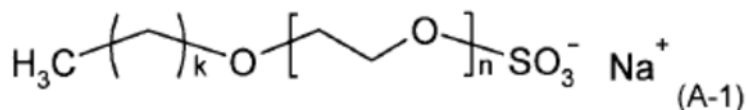
3. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizada porque se encuentra contenido tensioactivo aniónico con respecto al peso total de la composición en una cantidad total de 0,1 a 10,0 % en peso, preferiblemente de 2,0 a 9,0 % en peso, de modo particularmente preferido de 4,0 a 7,0 % en peso.

4. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque en calidad de tensioactivo aniónico se encuentra contenido al menos un tensioactivo de la fórmula (A-3),



en la cual R' y R'' contienen juntos 9 a 19, de preferencia 11 a 15 y principalmente 11 a 13 átomos de C.

5. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque en calidad de tensioactivo aniónico se encuentra contenido al menos un éter sulfato de alcohol graso de la fórmula A-1

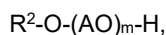


con k = 11 a 19, n = 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8.

6. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada porque como tensioactivo se encuentra contenido al menos un tensioactivo no iónico.

7. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada porque se encuentra contenido tensioactivo no iónico con respecto al peso total de la composición en una cantidad total de 0,1 a 10,0 % en peso, preferiblemente de 1,0 a 5,0 % en peso, de modo particularmente preferido de 2,0 a 4,0 % en peso.

8. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada porque en calidad de tensioactivo no iónico se encuentra contenido al menos un tensioactivo no iónico de la fórmula



en la cual

R² representa un residuo alquilo lineal o ramificado, sustituido o no sustituido, arilo o alquilarilo,

AO representa una agrupación de óxido de etileno (EO) o de óxido de propileno (PO),

m representa números enteros de 1 a 50.

- 5 9. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada porque se encuentra contenida al menos una lipasa seleccionada de uno o de varios polipéptidos con una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 90% a la lipasa de tipo silvestre de la cepa DSM 4109 *Thermomices lanuginosus*.
- 10 10. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizada porque se encuentra contenida al menos una lipasa que se selecciona de uno o de varios polipéptidos con una secuencia de aminoácidos derivada de la lipasa del tipo silvestre de la cepa DSM 4109, en la cual se presenta al menos uno de los siguientes intercambios de aminoácidos en las posiciones D96L y/o T213R y/o N233R, preferiblemente al menos T213R y N233R.
- 15 11. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizada porque con respecto al peso total de la composición la enzima lipasa se encuentra contenida en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.
- 20 12. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizada porque se encuentra contenida al menos una mananasa que se selecciona de al menos un representante del grupo que se forma por
 - (i) polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90% (cada vez más preferiblemente 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7% o 99,8%) de identidad de secuencia con el polipéptidos según SEQ ID No.1, y
 - 25 (ii) polipéptidos que son un fragmento de (i).
- 30 13. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizada porque la mananasa se selecciona de al menos un representante del grupo que se forma por
 - (i) polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90% (cada vez más preferiblemente al menos 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7% o 99,8%) de identidad de secuencia con el polipéptidos de las posiciones 31 a 490 de acuerdo con SEQ ID No.1, y
 - 35 (ii) polipéptidos que son un fragmento de (i).
- 40 14. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada porque, con respecto al peso total de la composición, la mananasa se encuentra contenida en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.
- 45 15. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 14, caracterizada porque se encuentra contenida al menos una enzima α -amilasa que es idéntica en al menos 92% con el polipéptido de la secuencia con la SEQ ID NO. 2.
- 50 16. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 15, caracterizada porque, con respecto al peso total de la composición, la enzima α -amilasa se encuentra contenida en una cantidad total de 0,01 a 1,0 % en peso, principalmente de 0,02 a 0,1 % en peso.
- 50 17. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 16, caracterizada porque adicionalmente se encuentra contenida al menos una celulasa.
- 55 18. Composición líquida según la reivindicación 17, caracterizada porque en calidad de enzima celulasa se encuentra contenida al menos una celulasa de 20K que puede obtenerse a partir de una celulasa de *Melanocarpus* sp. o *Myriococcum* sp. o aquella que presenta una homología de más de 80% (cada vez más preferiblemente de más de 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) a esta.
- 60 19. Composición líquida según la reivindicación 18, caracterizada porque al menos se encuentra contenida una segunda celulasa adicional diferente de la celulasa definidas según la reivindicación 18.
- 65 20. Composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 19, caracterizada porque, con respecto al peso total de la composición, se encuentra contenida una enzima con actividad de proteasa en una cantidad total de 0 a 0,0001 % en peso, preferiblemente de 0 a 0,00005 % en peso.

21. Uso de una composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 20 contra la coloración grisácea de textiles.

22. Uso de una composición líquida según una de las reivindicaciones 1 a 20 para limpiar textiles.

5 23. Procedimiento para la limpieza de textiles que comprende la preparación de un líquido de lavado empleando al menos los siguientes componentes

(i) al menos una composición según una de las reivindicaciones 1 a 20,

10 (ii) preferiblemente al menos un disolvente, principalmente agua, y

(iii) al menos un textil.