

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 738 639**

51 Int. Cl.:

C11D 3/386 (2006.01)

C11D 3/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.12.2013 PCT/EP2013/075922**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.06.2014 WO14087011**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.12.2013 E 13801595 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2019 EP 2929004**

54 Título: **Prevención de la adhesión de bacterias**

30 Prioridad:

07.12.2012 EP 12196059

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

24.01.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**GORI, KLAUS;
BALTSSEN, LILIAN EVA TANG y
ALLESEN-HOLM, MARIE**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 738 639 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

Prevención de la adhesión de bacterias

5 Referencia a un listado de secuencias

[0001] Esta solicitud contiene un listado de secuencias en formato legible por ordenador.

Campo de la invención

10

[0002] La invención se refiere a un método de lavado para textiles que comprende una ADNsa para reducir los malos olores de la ropa y/o textiles, contra la redeposición y para mantener o mejorar la blancura de un textil.

Antecedentes

15

[0003] Cuando se usan prendas como camisetas o ropa deportiva, estas se exponen a las bacterias del cuerpo del usuario y del resto del entorno en el que se usan. Estas bacterias son una fuente de mal olor, que se desarrolla después del uso, pero que puede permanecer incluso después del lavado. La razón de este mal olor es la adhesión de bacterias a la superficie del textil. Debido a la adhesión al textil, las bacterias pueden permanecer incluso después del lavado y seguir siendo una fuente de mal olor. La solicitud de patente internacional WO 2011/098579 A1 (Univ. Newcastle) se refiere a compuestos de desoxirribonucleasas bacterianas y a métodos para la disolución y la prevención de la formación de biopelículas. La patente DE10304331 A1 (Henkel KGAA) describe la limpieza de superficies duras utilizando combinaciones de nucleasas con otras enzimas. La patente EP0511456 A1 (Procter & Gamble) describe composiciones detergentes que comprenden tensioactivos no iónicos y aniónicos.

20

[0004] La presente invención se basa en los datos de un estudio (véase el ejemplo 1) de la diversidad bacteriana en prendas para lavar de uso cotidiano. Se aislaron veinticuatro colonias de bacterias y hongos de las prendas para lavar, muchas de las cuales dieron lugar a olores/malos olores muy desagradables.

25

[0005] La presente invención proporciona una solución al problema del olor al reducir la adhesión de determinadas bacterias específicas a la superficie del textil durante el lavado. Las bacterias seleccionadas son fuentes de mal olor y se aislaron de las prendas de uso cotidiano para lavar.

30

RESUMEN

35

[0006] Se proporciona una composición detergente que comprende uno o más tensioactivos aniónicos; una enzima seleccionada del grupo que consiste en: una proteasa, una lipasa, una cutinasa, una amilasa, una carbohidrasa, una celulasa, una pectinasa, una mananasa, una arabinasa, una galactanasa, una xilanasas y una oxidasa; y una desoxirribonucleasa (DNasa).

40

La invención se refiere a un método de lavado para textiles que comprende:

- a. exponer un textil a un líquido de lavado que comprende una DNasa,
- b. completar al menos un ciclo de lavado; y
- c. opcionalmente enjuagar el textil.

45

Definiciones

50

[0007] Beneficio de la detergencia enzimática: El término "beneficio de la detergencia enzimática" se define en este caso como el efecto ventajoso que una enzima puede aportar a un detergente en comparación con el mismo detergente sin la enzima. Los beneficios importantes de detergencia de la enzima. Algunos ejemplos de tales beneficios para la eliminación de manchas sin o con muy poca suciedad visible después del lavado y/o la limpieza, la prevención o reducción de la redeposición de las suciedades liberadas en el proceso de lavado (un efecto que también se denomina antirredeposición), la restauración total o parcial de la blancura de los textiles que originalmente eran blancos, pero que después de un uso y lavado repetidos han obtenido un aspecto grisáceo o amarillento (un efecto que también se denomina blanqueamiento). Los beneficios de tal cuidado de los textiles, que no están directamente relacionados con la eliminación de manchas catalíticas o la prevención de la redeposición de la suciedad, también son importantes para los beneficios de detergencia de la enzima. Algunos ejemplos de tales beneficios para el cuidado de los textiles son la prevención o la reducción de la transferencia de tinte de una tela a otra tela o a otra parte de la misma tela (un efecto que también se denomina inhibición de la transferencia de tinte o antirretroteñido), la eliminación de fibras salientes o rotas de una superficie del textil para disminuir la tendencia a la formación de bolas o para eliminar bolas de pelusa ya existentes (un efecto que también se denomina antifrisado), la mejora de la suavidad del textil, la clarificación del color del textil y la eliminación de las partículas que quedan atrapadas en las fibras del textil o prenda de vestir. El blanqueo enzimático es un beneficio adicional de la detergencia enzimática en el que la actividad catalítica generalmente se usa para catalizar la formación de componentes blanqueantes como el peróxido de hidrógeno u otros peróxidos.

65

[0008] Textil: El término "textil" se refiere a cualquier material textil, incluidos los hilados, productos intermedios hilados, fibras, materiales no tejidos, materiales naturales, materiales sintéticos y cualquier otro material textil, telas hechas de estos materiales y productos hechos de telas (por ejemplo, prendas de vestir y otros artículos). La tela o tejido puede ser en forma de tejidos de urdimbre, tejidos hilados, denims, no tejidos, fieltros, hilados y tejidos rizados. El textil puede tener una base de celulosa, como fibras de celulosa naturales, incluyendo algodón, lino, yute, ramio, sisal o bonote o celulósicos artificiales (por ejemplo, procedentes de pulpa de madera), incluyendo viscosa/rayón, fibras de acetato de celulosa (tricel), lyocell o mezclas de estos. El textil o tela también puede tener una base no celulósica, tal como poliamidas naturales que incluyen lana, camello, cachemira, mohair, conejo y seda o polímeros sintéticos tales como nailon, aramida, poliéster, acrílico, polipropileno y spandex/elastano, o mezclas de los mismos, así como mezclas de fibras basadas en celulosa y no basadas en celulosa. Algunos ejemplos de mezclas son mezclas de algodón y/o rayón/viscosa con uno o más materiales complementarios, como lana, fibra sintética (por ejemplo, fibra de poliamida, fibra acrílica, fibra de poliéster, fibra de cloruro de polivinilo, fibra de poliuretano, fibra de poliurea, fibra de aramida), y/o fibras que contienen celulosa (por ejemplo, rayón/viscosa, ramio, lino, yute, fibra de acetato de celulosa, lyocell). La tela puede ser una tela de una prenda lavable convencional, por ejemplo, una ropa del hogar manchada. Cuando se utiliza el término tela o prenda de vestir, se pretende incluir también el término más amplio "textiles".

[0009] Rendimiento de lavado mejorado: El término "rendimiento de lavado mejorado" se define en este caso como una composición detergente que comprende DNasa que muestra un rendimiento de lavado incrementado en relación con el rendimiento de lavado de una composición detergente de referencia sin DNasa, por ejemplo por el aumento de la eliminación de malos olores o la eliminación de manchas.

[0010] Blancura: El término "blancura" se define en este caso como un término amplio con diferentes significados en diferentes regiones y para diferentes consumidores. La pérdida de blancura puede deberse, por ejemplo, al envejecimiento, al amarilleo o a la eliminación de abrillantadores ópticos/agentes de coloración. El aspecto grisáceo y amarillento pueden deberse a la redeposición de suciedad, a la suciedad del cuerpo, a la coloración, por ejemplo por iones de hierro y de cobre o por transferencia de tinte. La blancura puede incluir uno o varios problemas de la siguiente lista: efectos de colorantes o tintes; eliminación incompleta de manchas (por ejemplo, manchas corporales, sebo, etc.); redeposición (coloración grisácea, coloración amarillenta u otras decoloraciones del objeto) (las suciedades eliminadas se vuelven a asociar con otras partes del textil, sucias o sin ensuciar); cambios químicos en el textil durante la aplicación; y clarificación o definición de los colores.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0011] Se describe una composición detergente que comprende uno o más tensioactivos aniónicos; una enzima seleccionada del grupo que consiste en: una proteasa, una lipasa, una cutinasa, una amilasa, una carbohidrasa, una celulasa, una pectinasa, una mananasa, una arabinasa, una galactanasa, una xilanasas y una oxidasa; y una desoxirribonucleasa (DNasa).

La composición detergente se puede usar en un método de lavado para textiles que comprende:

- a. exponer un material textil a un líquido de lavado que comprende una DNasa o una composición detergente,
- b. completar al menos un ciclo de lavado; y
- c. opcionalmente, enjuagar el textil.

Además, se describe el uso de una desoxirribonucleasa (DNasa) para reducir el mal olor de la ropa y/o textil para reducir el mal olor de la ropa y/o textil.

Como se ha descrito anteriormente, cuando se usan prendas como camisetas o ropa deportiva, estas están expuestas a las bacterias del cuerpo del usuario y del resto del entorno en el que se usan. Estas bacterias son una fuente de mal olor, que se desarrolla después del uso, pero que puede permanecer incluso después del lavado.

Cuando dichos textiles se lavan, puede aparecer un olor desagradable cuando se abre la lavadora y se retiran las prendas húmedas. Este olor o mal olor da la impresión de que el tejido no está limpio y debe ser lavado de nuevo. Incluso en los métodos de lavado a mano, se puede percibir un mal olor procedente de la ropa húmeda.

Una ventaja de la presente invención es que este mal olor no aparece en las prendas lavadas húmedas, es decir, cuando se abre la lavadora. Esto hace que el proceso de lavado sea una tarea más atractiva tanto en aplicaciones domésticas como industriales.

Otra ventaja de la presente invención es que, cuando se recibe la ropa húmeda directamente de la lavadora o el líquido de lavado, las prendas de ropa no tienen mal olor y se perciben como limpias. De este modo, se ahorra tiempo, dinero y energía en un segundo o incluso un tercer lavado. Esto representa una gran ventaja para el medio ambiente.

En los métodos de lavado convencionales, el mal olor puede incluso sobrevivir al proceso de lavado y al proceso de secado. Esto tiene el efecto de que se puede detectar el mal olor cuando se utiliza el textil. Esto no es muy agradable para el usuario del textil, es decir, cuando se usa ropa deportiva que huele incluso antes de que comience la actividad deportiva. Esto puede avergonzar al usuario del textil e incluso puede provocar que se desechen el textil antes de que se desgaste y se sustituya por ropa deportiva nueva. Esto se evita mediante el uso de la presente invención y, por lo tanto, se contribuye a preservar el medio ambiente mediante el ahorro del uso de recursos limitados, tales como materias primas para nuevos textiles, agua, energía y contaminación del medio ambiente.

5 En una forma de realización, el agente tensioactivo aniónico de la composición detergente se selecciona del grupo que consiste en: alquilbencenosulfonatos lineales (LAS), isómeros de LAS, alquilbencenosulfonatos ramificados (BABS), fenilalcanosulfonatos, sulfonatos de alfa olefina (AOS), sulfonatos de olefina, sulfonatos de alqueno, alcano-2,3-diilbis(sulfatos), hidroxialcanosulfonatos y disulfonatos, alquilsulfatos (AS) como el dodecil sulfato de sodio (SDS), sulfatos de alcoholes grasos (FAS), sulfatos de alcoholes primarios (PAS), etersulfatos de alcohol (AES o AEOS o FES), alcanosulfonatos secundarios (SAS), sulfonatos de parafina (PS), sulfonatos de éster, ésteres de glicerol de ácidos grasos sulfonados, ésteres metílicos alfa-sulfo de ácidos grasos (alfa-SFMe o SES), sulfonato de éster metílico (MES), ácido alquil o alqueniilsuccínico, dodecenil/tetradecenil ácido succínico (DTSA), derivados de ácidos grasos de aminoácidos, diésteres y monoésteres de ácido sulfo-succínico o jabón.

10 En una forma de realización, la cantidad de tensioactivo aniónico está en el rango de 1 a 40%, en el rango de 5 a 30%, en el rango de 5 a 15% o en el rango de 20 a 25%. En una forma de realización, la cantidad de coadyuvante o coadyuvante de detergente está en el rango de 0 a 65%, en el rango de 40-65% o en el rango de 40 a 65%. En una forma de realización de la invención, la composición comprende 10-40% p/p de un tensioactivo, 4-50% p/p de un coadyuvante y 0-5% p/p de un polímero y opcionalmente una carga, disolventes y un estabilizador enzimático.

15

[0012] En una forma de realización, la composición detergente comprende

20 a. Uno o más surfactantes aniónicos;
 b. Una enzima seleccionada del grupo que consiste en: una proteasa, una lipasa, una cutinasa, una amilasa, una carbohidrasa, una celulasa, una pectinasa, una mananasa, una arabinasa, una galactanasa, una xilanasas y una oxidasa; y
 c. una desoxirribonucleasa (DNasa), en donde la DNasa se puede obtener de una bacteria.

25 En una forma de realización, la DNasa se puede obtener de *Bacillus*.
 En una forma de realización de la invención, la composición detergente comprende

30 a. Uno o más surfactantes aniónicos;
 b. Una enzima seleccionada del grupo que consiste en: una proteasa, una lipasa, una cutinasa, una amilasa, una carbohidrasa, una celulasa, una pectinasa, una mananasa, una arabinasa, una galactanasa, una xilanasas y una oxidasa; y
 c. una desoxirribonucleasa (DNasa), en donde la DNasa tiene al menos un 80% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

35

En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 85% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
 En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 90% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

40 En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 95% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
 En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 97% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
 En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 98% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

45 En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 99% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
 En una forma de realización, la DNasa tiene una identidad del 100% con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

50

En una forma de realización, la composición detergente es capaz de reducir la adhesión de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter* sp., *Aeromicrobium* sp., *Brevundimonas* sp., *Microbacterium* sp., *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus epidermidis* y *Stenotrophomonas* sp. a una superficie, o de liberar las bacterias de una superficie a la que se adhieren. En una forma de realización, la superficie es una superficie textil.

55 En una forma de realización, la composición es capaz de reducir el mal olor de la ropa húmeda.

En una forma de realización, la composición es capaz de reducir el mal olor de la ropa seca.

En una forma de realización, la composición detergente comprende

60 a. Uno o más surfactantes aniónicos;
 b. Una enzima seleccionada del grupo que consiste en: una proteasa, una lipasa, una cutinasa, una amilasa, una carbohidrasa, una celulasa, una pectinasa, una mananasa, una arabinasa, una galactanasa, una xilanasas y una oxidasa; y
 c. una desoxirribonucleasa (DNasa), en donde la DNasa se puede obtener de una bacteria, y la composición es capaz de reducir el mal olor de la ropa húmeda y/o seca.

65

En una forma de realización, la DNasa se puede obtener de *Bacillus*.

En una forma de realización, la composición detergente comprende

- a. Uno o más surfactantes aniónicos;
- b. Una enzima seleccionada del grupo que consiste en: una proteasa, una lipasa, una cutinasa, una amilasa, una carbohidrasa, una celulasa, una pectinasa, una mananasa, una arabinasa, una galactanasa, una xilanasas y una oxidasa; y
- c. una desoxirribonucleasa (DNasa), en donde la DNasa tiene al menos un 80% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2, y la composición es capaz de reducir el mal olor de la ropa húmeda y/o seca.

En una forma de realización, la composición detergente comprende

- a. Uno o más surfactantes aniónicos;
- b. Una enzima seleccionada del grupo que consiste en: una proteasa, una lipasa, una cutinasa, una amilasa, una carbohidrasa, una celulasa, una pectinasa, una mananasa, una arabinasa, una galactanasa, una xilanasas y una oxidasa; y
- c. una desoxirribonucleasa (DNasa), en donde la DNasa se puede obtener de una bacteria, y la composición es capaz de reducir la cantidad de E-2-nonenal de la ropa húmeda y/o seca.

En una forma de realización, la composición detergente es capaz de reducir la cantidad de E-2-nonenal presente en un textil hasta por debajo del 80% de la cantidad de E-2-nonenal presente en el textil antes del lavado.

En una forma de realización, la composición detergente es capaz de reducir la cantidad de E-2-nonenal presente en un textil hasta por debajo del 70%, por debajo del 60%, por debajo del 50%, por debajo del 40%, por debajo del 30%, por debajo del 20%, por debajo del 10% o por debajo del 5% de la cantidad de E-2-nonenal presente en el tejido antes del lavado o se reduce.

En una forma de realización, la composición es una barra, una pastilla homogénea, una pastilla que tiene dos o más capas, una bolsita que tiene uno o más compartimentos, un polvo normal o compacto, un gránulo, una pasta, un gel o un producto normal, compacto o líquido concentrado.

En una forma de realización, la composición es un detergente líquido. En una forma de realización, la composición es un detergente en polvo o granulado.

La invención se refiere además a un método de lavado para textiles que comprende:

- a. exponer un textil a un líquido de lavado que comprende una DNasa,
- b. completar al menos un ciclo de lavado; y
- c. opcionalmente, enjuagar el textil.

En una forma de realización, el pH del líquido de lavado está en el rango de 7 a 10, preferiblemente de 7 a 9, tal como 7,5.

En una forma de realización de la invención, la temperatura del líquido de lavado está en el rango de 5°C a 95°C, o en el rango de 10°C a 80°C, o en el rango de 10°C a 70°C. C, o en el rango de 10 ° C a 60 ° C, o en el rango de 10 ° C a 50 ° C, o en el rango de 15 ° C a 40 ° C, o en el rango de 20 ° C a 30 ° C.

En una forma de realización preferida de la invención, la temperatura del líquido de lavado está en el rango de 20°C a 30°C, por ejemplo 30°C.

El lavado a bajas temperaturas da la ventaja de que se reduce el consumo de energía. La reducción del consumo de energía es una ventaja para el medio ambiente.

En una forma de realización de la invención, el textil se expone a un líquido de lavado durante un primer y opcionalmente un segundo y un tercer ciclo de lavado.

En una forma de realización, el tejido se enjuaga después de exponerse al líquido de lavado. En una forma de realización, se usa un acondicionador cuando se enjuaga el tejido.

En una forma de realización de la invención, se proporciona un método de lavado para textiles que comprende:

- a. exponer un textil a un líquido de lavado que comprende una DNasa,
- b. completar al menos un ciclo de lavado; y
- c. opcionalmente, enjuagar el textil,

donde se reduce el mal olor de un textil al completar los pasos a-c del método.

En una forma de realización, se reduce el mal olor del textil húmedo. En una forma de realización, se reduce el mal olor del textil seco.

En una forma de realización, la invención se refiere al textil lavado.

Se describe el uso de una desoxirribonucleasa (DNasa) para reducir el mal olor de ropa y/o textiles.

En una forma de realización, el mal olor comprende E-2-nonenal. En una forma de realización de la invención, la cantidad de E-2-nonenal presente en un textil se reduce hasta por debajo del 80% de la cantidad de E-2-nonenal presente en el textil antes del lavado.

En una forma de realización, la cantidad de E-2-nonenal presente en un textil se reduce hasta por debajo del 70%, por debajo del 60%, por debajo del 50%, por debajo del 40%, por debajo del 30%, por debajo del 20%, por debajo del 10% o por debajo del 5% de la cantidad de E-2-nonenal presente en el tejido antes del lavado o se reduce.

En una forma de realización, la DNasa se puede obtener a partir de una bacteria.

En una forma de realización, la DNasa se puede obtener de *Bacillus*.

Las DNasas se describen a continuación.

En una forma de realización, la blancura del material textil se mantiene o incluso se mejora. En una forma de realización, se reduce la redeposición de la suciedad durante un ciclo de lavado.

También se describe el uso de una desoxirribonucleasa (DNasa) para reducir el mal olor de la ropa y/o textiles.

5 La DNasa se puede usar para reducir el mal olor de ropa que ha estado expuesta al contacto directo con el cuerpo durante un uso normal, lavada a 10-40 ° C y posteriormente expuesta de nuevo al contacto directo con el cuerpo durante un uso normal.

10 En una forma de realización, la DNasa se usa para reducir la cantidad de E-2-nonenal en un textil. La cantidad de E-2-nonenal presente en un textil se reduce hasta por debajo del 80% de la cantidad de E-2-nonenal presente en el textil antes del lavado. En una forma de realización, la cantidad de E-2-nonenal presente en un textil se reduce hasta por debajo del 70%, por debajo del 60%, por debajo del 50%, por debajo del 40%, por debajo del 30%, por debajo del 20%, por debajo del 10% o por debajo del 5% la cantidad de E-2-nonenal presente en el tejido antes del lavado o se reduce.

15 En una forma de realización, la DNasa se usa para mantener o mejorar la blancura de un textil. En una forma de realización, la DNasa se usa para reducir la redeposición de suciedad durante un ciclo de lavado. La DNasa se puede obtener de una bacteria, por ejemplo a partir de *Bacillus*.

En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 85% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 90% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

20 En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 95% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 97% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

25 En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 98% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

En una forma de realización, la DNasa tiene al menos un 99% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

30 En una forma de realización, la DNasa tiene una identidad del 100% con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

Desoxirribonucleasa (DNasa)

[0013] Una desoxirribonucleasa (DNasa) es cualquier enzima que cataliza la escisión hidrolítica de los enlaces fosfodiéster en el esqueleto del ADN, degradando así el ADN.

35 [0014] Se prefiere una DNasa que se puede obtener a partir de una bacteria; en particular, se prefiere una DNasa que se puede obtener de un *Bacillus*; en particular, se prefiere una DNasa que se puede obtener de *Bacillus subtilis* o *Bacillus licheniformis*.

40 [0015] La DNasa incluye el polipéptido maduro de la SEQ ID NO: 1, mostrado como los aminoácidos 1 a 110 (27 a 136) de la SEQ ID NO: 1, que se deriva de *Bacillus subtilis*; o el polipéptido maduro de la SEQ ID NO: 2, mostrado como los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2, que se deriva de *Bacillus licheniformis*.

45 [0016] La enzima DNasa puede comprender o consistir en la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos -26 a 110 de la SEQ ID NO: 1 (aminoácidos 1 a 136 de la SEQ ID NO: 1) o los aminoácidos -33 a 109 de la SEQ ID NO: 2 (aminoácidos 1 a 142 de la SEQ ID N°: 2), o un fragmento de los mismos que tiene actividad DNasa, como el polipéptido maduro. Un fragmento de los aminoácidos -26 a 110 de la SEQ ID NO: 1 (aminoácidos 1 a 136 de la SEQ ID NO: 1), o los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 (27 a 136 de la SEQ ID NO: 1), es un polipéptido, que tiene uno o más aminoácidos eliminados del extremo amino y/o carboxilo terminal de la SEQ ID NO: 1. Un fragmento de o aminoácidos -33 a 109 de la SEQ ID NO: 2 (aminoácidos 1 a 142 de la SEQ ID NO: 2), o 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2 (34 a 142 de la SEQ ID NO: 1), es un polipéptido, que tiene uno o más aminoácidos eliminados del extremo amino y/o carboxilo terminal de la SEQ ID N°: 2.

55 [0017] También se proporcionan polipéptidos de DNasa que son sustancialmente homólogos a los polipéptidos anteriores, y homólogos de especies (parálogos u ortólogos) de los mismos. El término "sustancialmente homólogo" se usa en el presente documento para indicar que los polipéptidos son al menos el 80%, preferiblemente al menos el 85%, más preferiblemente al menos el 90%, más preferiblemente al menos el 95%, incluso más preferiblemente al menos el 97% idéntico, y de la manera más preferible al menos el 99% o más idénticos a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2, o un fragmento de la misma que tenga actividad de DNasa, o sus ortólogos o parálogos.

60 [0018] Para los fines de la presente invención, la identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos se determina utilizando el algoritmo de Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453) tal como está implementado en el programa Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, Trends Genet. 16: 276-277), preferiblemente la versión 5.0.0 o posterior. Los parámetros utilizados son la penalización por apertura de espacio de 10, la penalización por extensión de espacio de 0,5 y la matriz de sustitución EBLOSUM62 (versión EMBOSS de BLOSUM62). El

resultado de Needle etiquetado como "identidad más larga" (obtenido mediante la opción -nobrief) se utiliza como el porcentaje de identidad y se calcula de la siguiente manera:

(Residuos idénticos x 100)/(Longitud del alineamiento - Número total de espacios en el alineamiento)

5

[0019] En otra forma de realización, la DNasa de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2 comprende una sustitución, delección y/o inserción en una o más posiciones (por ejemplo, varias). En una forma de realización, el número de sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2 no es mayor que 10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9. Los cambios de aminoácidos pueden ser de una naturaleza menor, es decir, sustituciones de aminoácidos conservadoras o inserciones que no afectan significativamente al plegamiento y/o la actividad de la proteína; pequeñas delecciones, típicamente de 1-30 aminoácidos; pequeñas extensiones amino o carboxilo terminales, tales como un residuo de metionina amino terminal; un péptido enlazador pequeño de hasta 20-25 residuos; o una pequeña extensión que facilita la purificación cambiando la carga neta u otra función, como una cola de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

10

15

[0020] Los ejemplos de sustituciones conservadoras están dentro de los grupos de aminoácidos básicos (arginina, lisina e histidina), aminoácidos ácidos (ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (glutamina y asparagina), aminoácidos hidrófobos (leucina, isoleucina y valina), aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina), y aminoácidos pequeños (glicina, alanina, serina, treonina y metionina). Las sustituciones de aminoácidos que generalmente no alteran la actividad específica se conocen en la técnica y están descritos, por ejemplo, por H. Neurath y R.L. Hill, 1979, en, *The Proteins*, Academic Press, Nueva York. Las sustituciones comunes son Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu y Asp/Gly.

20

25

[0021] Alternativamente, los cambios de aminoácidos son de tal naturaleza que se alteran las propiedades físicoquímicas de los polipéptidos. Por ejemplo, los cambios de aminoácidos pueden mejorar la estabilidad térmica del polipéptido, alterar la especificidad del sustrato, cambiar el pH óptimo y similares.

30

[0022] Los aminoácidos esenciales de un polipéptido pueden identificarse de acuerdo con los procedimientos conocidos en la técnica, como la mutagénesis dirigida o la mutagénesis por barrido de alanina (Cunningham y Wells, 1989, *Science* 244: 1081-1085). En esta última técnica, se introducen mutaciones únicas de alanina en cada residuo de la molécula, y las moléculas mutantes resultantes se analizan para determinar la actividad de la DNasa para identificar los residuos de aminoácidos que son fundamentales para la actividad de la molécula. Véase también, Hilton et al., 1996, *J. Biol. Chem.* 271: 4699-4708. El sitio activo de la enzima u otra interacción biológica también se puede determinar por análisis físico de la estructura, según lo determinado por técnicas tales como resonancia magnética nuclear, cristalografía, difracción de electrones o marcaje por fotoafinidad, junto con la mutación de los aminoácidos putativos del sitio de contacto. Véase, por ejemplo, de Vos et al., 1992, *Science* 255: 306-312; Smith et al., 1992, *J. Mol. Biol.* 224: 899-904; Wlodaver et al., 1992, *FEBS Lett.* 309: 59-64. La identidad de los aminoácidos esenciales también se puede inferir a partir de un alineamiento con un polipéptido relacionado.

35

40

[0023] Las sustituciones, delecciones y/o las inserciones de aminoácidos simples o múltiples pueden realizarse y probarse utilizando métodos conocidos de mutagénesis, recombinación y/o barajado, seguidos de un procedimiento de selección relevante, como los descritos por Reidhaar-Olson y Sauer, 1988, *Science* 241: 53-57; Bowie y Sauer, 1989, *Proc. Natl Acad Sci. USA* 86: 2152-2156; WO 95/17413; o WO 95/22625. Otros métodos que se pueden usar incluyen PCR propensa a error, visualización de fagos (por ejemplo, Lowman et al., 1991, *Biochemistry* 30: 10832-10837; Patente de EE. UU. n.º 5,223,409; WO 92/06204), y mutagénesis dirigida (Derbyshire et al., 1986, *Gene* 46: 145; Ner et al., 1988, *ADN* 7: 127).

45

50

[0024] Los métodos de mutagénesis/barajado pueden combinarse con métodos de selección automatizados de alto rendimiento para detectar la actividad de polipéptidos mutagenizados clonados expresados por las células hospedadoras (Ness et al., 1999, *Nature Biotechnology* 17: 893-896). Las moléculas de ADN mutagenizadas que codifican polipéptidos activos pueden recuperarse de las células hospedadoras y secuenciarse rápidamente utilizando métodos estándar en la técnica. Estos métodos permiten la rápida determinación de la importancia de los residuos de aminoácidos individuales de un polipéptido.

55

[0025] El polipéptido puede ser un polipéptido híbrido en el que una región de un polipéptido se fusiona en el extremo N o el extremo C terminal de una región de otro polipéptido.

60

[0026] El polipéptido puede ser un polipéptido de fusión o un polipéptido de fusión escindible en el que otro polipéptido está fusionado en el extremo N terminal o el extremo C terminal del polipéptido. Un polipéptido de fusión se produce fusionando un polinucleótido que codifica otro polipéptido a un polinucleótido. Las técnicas para producir polipéptidos de fusión son conocidas en la técnica, e incluyen la unión de las secuencias codificantes que codifican los polipéptidos para que estén dentro del marco y para que la expresión del polipéptido de fusión esté bajo el control del mismo promotor(es) y terminador. Los polipéptidos de fusión también se pueden construir utilizando tecnología de inteína en la que los polipéptidos de fusión se crean después de la traducción (Cooper et al., 1993, *EMBO J.* 12: 2575-2583; Dawson et al., 1994, *Science* 266: 776-779).

65

[0027] Un polipéptido de fusión puede comprender además un sitio de escisión entre los dos polipéptidos. Tras la secreción de la proteína de fusión, el sitio se escinde liberando los dos polipéptidos. Los ejemplos de sitios de escisión incluyen, entre otros, los sitios descritos en Martin et al., 2003, J. Ind. Microbiol. Biotecnol. 3: 568-576; Svetina et al., 2000, J. Biotechnol. 76: 245-251; Rasmussen-Wilson et al., 1997, Appl. Environ. Microbiol. 63: 3488-3493; Ward et al., 1995, Biotechnology 13: 498-503; y Contreras et al., 1991, Biotechnology 9: 378-381.; Eaton et al., 1986, Biochemistry 25: 505-512.; Collins-Racie et al., 1995, Biotechnology 13: 982-987; Carter et al., 1989, Proteins: Structure, Function, and Genetics 6: 240-248; y Stevens, 2003, Drug Discovery World 4: 35-48.

[0028] La concentración de la DNasa está típicamente en el rango de 0,0004-100 ppm de proteína enzimática, 0,001-100 ppm de proteína enzimática, 0,01-100 ppm de proteína enzimática, preferiblemente 0,05-50 ppm de proteína enzimática, más preferiblemente 0,1-50 ppm de proteína enzimática, más preferiblemente 0,1-30 ppm de proteína enzimática, más preferiblemente 0,5-20 ppm de proteína enzimática y, de la manera más preferible, 0,5-10 ppm de proteína enzimática.

[0029] En una forma de realización, la concentración de la DNasa está típicamente en el rango de 1-40 ppm de proteína enzimática, preferiblemente 1-20 ppm de proteína enzimática, más preferiblemente 1-10 ppm de proteína enzimática.

Composición detergente

[0030] Una composición detergente puede formularse, por ejemplo, como una composición detergente para el lavado de ropa a mano o a máquina que incluye una composición aditiva para el lavado de ropa adecuada para el tratamiento previo de telas manchadas y una composición suavizante de telas para añadir durante el enjuague, o puede formularse como una composición detergente para su uso en operaciones domésticas de limpieza de superficies duras, o se puede formular para operaciones de lavado de vajilla a mano o a máquina.

Tensioactivos

[0031] La composición detergente puede comprender uno o más tensioactivos, que pueden ser aniónicos y/o catiónicos y/o no iónicos y/o semipolares y/o zwitteriónicos, o una mezcla de los mismos. En una forma de realización particular, la composición detergente incluye una mezcla de uno o más tensioactivos no iónicos y uno o más tensioactivos aniónicos. El/los tensioactivo(s) está(n) presente(s) típicamente en un nivel de aproximadamente el 0,1% a 60% en peso, tal como aproximadamente el 1% a aproximadamente el 40%, o aproximadamente el 3% a aproximadamente el 20%, o aproximadamente el 3% a aproximadamente el 10%. El/los tensioactivo(s) se elige(n) en función de la aplicación de limpieza deseada, e incluye(n) cualquier tensioactivo(s) convencional(es) conocido(s) en la técnica.

[0032] Cuando se incluya, el detergente generalmente contendrá de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 40% en peso, tal como de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 30%, incluyendo de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 15%, o de aproximadamente el 20% a aproximadamente el 25% de un tensioactivo aniónico. Los ejemplos no limitativos de tensioactivos aniónicos incluyen sulfatos y sulfonatos, en particular, alquilbencenosulfonatos lineales (LAS), isómeros de LAS, alquilbencenosulfonatos ramificados (BABS), fenilalcanosulfonatos, sulfonatos de alfa olefina (AOS), sulfonatos de alquileo, alquil-sulfonatos, alquil-2-ole 3-diilbis (sulfatos), hidroxialcanosulfonatos y disulfonatos, alquilsulfatos (AS) como el dodecilsulfato de sodio (SDS), los sulfatos de alcoholes grasos (FAS), los sulfatos de alcoholes primarios (PAS), los éteresulfatos de alcohol (AES o AEOS o FES, también conocidos como etoxisulfatos de alcohol o éter sulfatos de alcoholes grasos), alcanosulfonatos secundarios (SAS), sulfonatos de parafina (PS), sulfonatos de éster, ésteres de glicerol de ácidos grasos sulfonados, ésteres metílicos alfa-sulfo de ácidos grasos (alfa-SFMe o SES) incluyendo sulfonato de éster metílico (MES), ácido alquil o alqueniilsuccínico, ácido dodecenil/tetradecenil succínico (D TSA), derivados de ácidos grasos de aminoácidos, diésteres y monoésteres de ácido sulfo-succínico o jabón, y combinaciones de los mismos.

[0033] Cuando se incluya, el detergente generalmente contendrá desde aproximadamente el 0,2% hasta aproximadamente el 40% en peso de un agente tensioactivo no iónico, por ejemplo desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 30%, en particular desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 20%, desde aproximadamente el 3% a aproximadamente el 10%, tal como desde aproximadamente el 3% a aproximadamente el 5%, o desde aproximadamente el 8% a aproximadamente el 12%. Los ejemplos no limitativos de tensioactivos no iónicos incluyen etoxilatos de alcohol (AE o AEO), propoxilatos de alcohol, alcoholes grasos propoxilados (PFA), ésteres alquílicos de ácidos grasos alcoxilados, tales como ésteres alquílicos de ácidos grasos etoxilados y/o propoxilados, etoxilatos de alquilfenol (APE), etoxilatos de nonilfenol (NPE), alquilpoliglicósidos (APG), aminas alcoxiladas, monoetanolamidas de ácidos grasos (FAM), dietanolamidas de ácidos grasos (FADA), monoetanolamidas de ácidos grasos etoxilados (EFAM), monoetanolamida de ácidos grasos propoxilados (PFAM), polihidroxialquilamidas de ácidos grasos, o derivados ente N-acilo N-alquilo de glucosamina (glucamidas, GA o glucamidas de ácidos grasos, FAGA), así como productos disponibles con los nombres comerciales SPAN y TWEEN, y combinaciones de los mismos.

[0034] Cuando se incluya, el detergente generalmente contendrá de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 40% por peso de un tensioactivo catiónico, por ejemplo de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 30%, en particular de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 20%, de aproximadamente el 3% a aproximadamente el 10%, tal como desde aproximadamente el 3% hasta aproximadamente el 5%, desde aproximadamente el 8% hasta aproximadamente el 12% o desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 12%. Los ejemplos no limitativos de tensioactivos catiónicos incluyen alquildimetiletanolamina cuaternaria (ADMEAQ), bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), cloruro de dimetildistearilamonio (DSDMAC), y alquilbencildimetilamonio, compuestos de alquilo de amonio cuaternario, compuestos de amonio cuaternario alcoxilado (AQA), ésteres cuaternarios y combinaciones de los mismos.

Adyuvantes y coadyuvantes

[0035] La composición detergente puede contener aproximadamente el 0-65% en peso, tal como aproximadamente el 5% a aproximadamente el 50% de un coadyuvante o coadyuvante de detergente, o una mezcla de los mismos. En un detergente para lavavajillas, el nivel de adyuvante suele ser del 40-65%, particularmente del 50-65%. El adyuvante y/o coadyuvante pueden ser particularmente un agente quelante que forma complejos solubles en agua con Ca y Mg. Se puede utilizar cualquier adyuvante y/o coadyuvante conocido en la técnica para su uso en detergentes para ropa. Los ejemplos no limitativos de adyuvantes incluyen zeolitas, difosfatos (pifosfatos), trifosfatos como el trifosfato de sodio (STP o STPP), carbonatos como el carbonato de sodio, silicatos solubles como el metasilicato de sodio, silicatos en capas (por ejemplo, SKS-6 de Hoechst). etanolaminas como 2-aminoetan-1-ol (MEA), dietanolamina (DEA, también conocida como 2,2'-iminodietan-1-ol), trietanolamina (TEA, también conocida como 2,2',2''-nitrilotrietan-1-ol) y (carboximetil)inulina (CMI), y combinaciones de los mismos.

[0036] La composición detergente puede contener aproximadamente el 0-65% en peso de un adyuvante o coadyuvante de detergente, o una mezcla de los mismos. En un detergente para lavavajillas, el nivel de adyuvante suele ser del 40-65%, particularmente del 50-65%. El adyuvante y/o coadyuvante pueden ser particularmente un agente quelante que forma complejos solubles en agua con Ca y Mg. Se puede utilizar cualquier adyuvante y/o coadyuvante conocido en la técnica para su uso en detergentes para ropa. Los ejemplos no limitativos de adyuvantes incluyen zeolitas, difosfatos (pifosfatos), trifosfatos como el trifosfato de sodio (STP o STPP), carbonatos como el carbonato de sodio, silicatos solubles como el metasilicato de sodio, silicatos en capas (por ejemplo, SKS-6 de Hoechst), etanolaminas tales como 2-aminoetan-1-ol (MEA), iminodietanol (DEA) y 2,2',2''-nitrilotrietanol (TEA), y carboximetil inulina (CMI), y combinaciones de los mismos.

[0037] La composición detergente también puede contener el 0-50% en peso, tal como aproximadamente de 5% a aproximadamente 30%, de un coadyuvante de detergente. La composición detergente puede incluir un coadyuvante solo, o en combinación con un adyuvante, por ejemplo, un adyuvante de zeolita. Algunos ejemplos no limitativos de coadyuvantes incluyen homopolímeros de poliácridatos o copolímeros de los mismos, tales como poli(ácido acrílico) (PAA) o copoli(ácido acrílico/ácido maleico) (PAA/PMA). Otros ejemplos no limitativos incluyen citrato, quelantes tales como aminocarboxilatos, aminopolicarboxilatos y fosfonatos, y ácido alquil o alquenilsuccínico. Otros ejemplos específicos adicionales incluyen el ácido 2,2',2''-nitrilotriacético (NTA), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido iminodisuccínico (IDS), ácido etilendiamino-N,N'-disuccínico (EDDS), ácido metilglicinodiacético (MGDA), ácido glutámico-N,N'-diacético (GLDA), ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico (HEDP), ácido etilendiaminotetra(metilenfosfónico) (EDTMPA), ácido dietilentriaminepentakis(metilenfosfónico) (DTPMPA o DTPMPA), ácido N-(2-hidroxietil)iminodiacético (EDG), ácido aspártico-N-monoacético (ASMA), ácido aspártico-N,N'-diacético (ASDA), ácido aspártico-N-ácido monopropiónico (ASMP), ácido iminodisuccínico (IDA), ácido N-(2-sulfometil -aspártico (SMAS), ácido N-(2-sulfoetil)-aspártico (SEAS), ácido N-(2-sulfometil)-glutámico (SMGL), ácido N-(2-sulfoetil)-glutámico (SEGL), ácido N-metiliminodiacético (MIDA), ácido α -alanina-N,N'-diacético (α -ALDA), ácido serina-N,N'-diacético (SEDA), ácido isoserina-N,N'-diacético (ISDA), ácido fenilalanina-N,N'-diacético (PHDA), ácido antranílico-N,N'-diacético (ANDA), ácido sulfanílico-N,N'-diacético (SLDA), ácido taurina-N,N'-diacético (TUDA) y ácido sulfometil-N,N'-diacético (SMDA), N-(2-hidroxietil)etilendiamina-N,N',N''-triacético (HEDTA), dietanoglicina (DEG), ácido dietilentriamina penta(metilenfosfónico) (DTPMP), ácido aminotris(metilenfosfónico) (ATMP), y combinaciones y sales de los mismos. Otros adyuvantes y/o coadyuvantes ejemplares adicionales se describen, por ejemplo, en las patentes WO 09/102854, US 5977053.

Sistemas de blanqueamiento

[0038] La composición detergente puede contener 0-50% en peso de un sistema de blanqueamiento. Se puede utilizar cualquier sistema de blanqueamiento conocido en la técnica para su uso en detergentes para ropa. Los componentes adecuados del sistema de blanqueamiento incluyen catalizadores de blanqueamiento, fotoblanqueantes, activadores de blanqueante, fuentes de peróxido de hidrógeno tales como percarbonato de sodio y perboratos de sodio, perácidos preformados y mezclas de los mismos. Los perácidos preformados adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácidos y sales peroxycarboxílicos, ácidos y sales percarbónicos, ácidos y sales perimídicos, ácidos y sales peroximonosulfúricos, por ejemplo, Oxone®, y mezclas de los mismos. Los ejemplos no limitativos de sistemas de blanqueamiento incluyen sistemas de blanqueamiento basados en peróxido, que pueden comprender, por ejemplo, una sal inorgánica, incluyendo sales de metales alcalinos tales como sales

de sodio de perborato (generalmente mono- o tetrahidratado), sales de percarbonato, persulfato, perfosfato, persilicato, en combinación con un activador de blanqueador formador de perácidos. Por activador de blanqueante se entiende en este caso un compuesto que reacciona con un blanqueante de peróxigeno como el peróxido de hidrógeno para formar un perácido. El perácido formado de este modo constituye el blanqueante activado. Los activadores de blanqueante adecuados para usar en el presente documento incluyen aquellos que pertenecen a la clase de los ésteres, amidas, imidas o anhídridos. Los ejemplos adecuados son tetracetil atilendiamina (TAED), 3,5,5-trimetil hexanoiloxibencenosulfonato de sodio, ácido diperoxidodecanoico, 4-(dodecanoiloxi)bencenosulfonato (LOBS), 4-(decanoiloxi)bencenosulfonato, 4-(decanoiloxi)benzoato (DOBS), 4-(3,5,5-trimetilhexanoiloxi)bencenosulfonato (ISONOBS), tetraacetiltilenodiamina (TAED) y 4-(nonanoiloxi)bencenosulfonato (NOBS), y/o los descritos en WO98/17767. Una familia particular de activadores de blanqueante de interés se describe en EP624154 y de esa familia se prefiere en concreto el acetil trietil citrato (ATC). El ATC o un triglicérido de cadena corta como la triacina tiene la ventaja de que es respetuoso con el medio ambiente, ya que eventualmente se degrada en ácido cítrico y alcohol. Además, el citrato de acetiltriethyl y la triacetina tienen una buena estabilidad hidrolítica en el producto durante el almacenamiento y es un eficaz activador de blanqueante. Finalmente, el ATC proporciona una buena capacidad adyuvante al aditivo de lavandería. Alternativamente, el sistema de blanqueamiento puede comprender peroxiácidos de, por ejemplo, el tipo amida, imida o sulfona. El sistema de blanqueamiento también puede comprender perácidos como el ácido 6-(ftaloilamino)percaprónico (PAP). El sistema de blanqueamiento también puede incluir un catalizador de blanqueante.

Polímeros

[0039] El detergente puede contener el 0-10% en peso, por ejemplo el 0,5-5%, 2-5%, 0,5-2% o 0,2-1% de un polímero. Se puede utilizar cualquier polímero conocido en la técnica para su uso en detergentes. El polímero puede funcionar como un coadyuvante como se ha mencionado anteriormente, o puede proporcionar propiedades de antirredeposición, de protección de las fibras, de liberación de suciedad, de inhibición de la transferencia de tintes, de limpieza de grasa y/o antiespumante. Algunos polímeros pueden tener más de una de las propiedades mencionadas anteriormente y/o más de uno de los motivos mencionados a continuación. Los polímeros ejemplares incluyen (carboximetil) celulosa (CMC), alcohol poli(vinílico) (PVA), poli(vinilpirrolidona) (PVP), poli(etilenglicol) u óxido de poli(etileno) (PEG), poli(etilenimina) etoxilada, carboximetil inulina (CMI), y policarboxilatos tales como PAA, PAA/PMA, ácido poli(aspártico) y copolímeros de laurilmetacrilato/ácido acrílico, CMC lauril-modificada (HM-CMC) y siliconas, copolímeros de ácido tereftálico y glicoles oligoméricos, copolímeros de tereftalato de poli(etileno) y tereftalato de poli(oxietileno) (PET-POET), PVP, poli(vinilimidazol) (PVI), poli(vinilpiridina)N-óxido (PVPO o PVPNO) y polivinilpirrolidona-vinilimidazol (PVPVI). Otros polímeros ejemplares incluyen policarboxilatos sulfonados, óxido de polietileno y óxido de polipropileno (PEO-PPO) y etoxi sulfato dicuaternario. Otros polímeros ejemplares se describen, por ejemplo, en WO 2006/130575. También se contemplan las sales de los polímeros mencionados anteriormente.

Agentes de coloración de tejidos

[0040] Las composiciones detergentes también pueden incluir agentes de coloración de tejidos tales como tintes o pigmentos que, cuando se formulan en composiciones detergentes, pueden depositarse sobre una tela cuando dicha tela se pone en contacto con un líquido de lavado que comprende dichas composiciones detergentes y, por lo tanto, altera el tinte de dicha tela a través de la absorción/el reflejo de la luz visible. Los agentes blanqueantes fluorescentes emiten al menos algo de luz visible. En contraste, los agentes de coloración de la tela alteran el tinte de una superficie cuando absorben al menos una parte del espectro de luz visible. Los agentes de coloración de tela adecuados incluyen tintes y conjugados de tinte y arcilla, y también pueden incluir pigmentos. Los tintes adecuados incluyen tintes de moléculas pequeñas y tintes poliméricos. Los tintes de moléculas pequeñas adecuados incluyen tintes de moléculas pequeñas seleccionados del grupo que consiste en tintes que pertenecen a las clasificaciones del Índice internacional del color (C.I., por sus siglas en inglés) Direct Blue, Direct Red, Direct Violet, Acid Blue, Acid Violet, Basic Blue, Basic Violet y Basic Red, o mezclas de los mismos, por ejemplo, como se describe en las patentes WO2005/03274, WO2005/03275, WO2005/03276 y EP1876226. La composición detergente comprende preferiblemente de aproximadamente el 0,00003% en peso a aproximadamente el 0,2% en peso, de aproximadamente el 0,00008% en peso a aproximadamente el 0,05% en peso, o incluso de aproximadamente el 0,0001% en peso a aproximadamente el 0,04% en peso de agente de coloración de tejidos. La composición puede comprender de 0,0001% en peso a 0,2% en peso de agente de coloración de tejidos, lo cual puede ser especialmente preferido cuando la composición está en forma de una bolsita de dosis unitaria. Los agentes de coloración adecuados también se describen, por ejemplo, en las patentes WO 2007/087257 y WO2007/087243.

[0041] Otros ingredientes de la composición detergente, que son ampliamente conocidos en la técnica, incluyen hidrótrofos, agentes de coloración de tejidos, agentes antiespumantes, polímeros de liberación de suciedad, agentes antirredeposición, etc.

[0042] El aditivo detergente, así como la composición detergente, puede comprender una o más enzimas adicionales tales como una proteasa, lipasa, cutinasa, amilasa, carbohidrasa, celulasa, pectinasa, mananasa, arabinasa, galactanasa, xilanasas, oxidasas, por ejemplo, una carcasa y o peroxidasa.

[0043] El polipéptido se puede agregar a una composición detergente en una cantidad correspondiente a al menos 1 mg de proteína DNasa, como al menos 5 mg de proteína, preferiblemente al menos 10 mg de proteína, más preferiblemente al menos 15 mg de proteína, incluso más preferiblemente al menos 20 mg de proteína, de la manera más preferible al menos 30 mg de proteína, y aún más preferiblemente al menos 40 mg de proteína por litro de líquido de lavado. Por lo tanto, la composición detergente puede comprender al menos 0,1% de proteína DNasa, preferiblemente al menos 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,8%, 1,0%, 1,2%, 1,5% o 2,0% de proteína DNasa.

[0044] Las composiciones que comprenden una DNasa pueden formularse como un líquido (por ejemplo, acuoso), sólido, en gel, en pasta o una formulación en producto seco. La formulación en producto seco puede rehidratarse posteriormente para formar una formulación líquida o semilíquida activa.

[0045] Las composiciones pueden comprender además agentes auxiliares tales como agentes humectantes, agentes espesantes, tampón(es) para el control del pH, estabilizantes, perfumes, colorantes, cargas y similares.

[0046] Unos agentes humectantes útiles son los tensioactivos, es decir, tensioactivos no iónicos, aniónicos, anfóteros o zwitteriónicos. Los tensioactivos se han descrito con mayor detalle anteriormente.

20 Enzimas

[0047] El aditivo detergente, así como la composición detergente, pueden comprender una o más enzimas adicionales tales como una proteasa, lipasa, cutinasa, amilasa, carbohidrasa, celulasa, pectinasa, mananasa, arabinasa, galactanasa, xilanasas, oxidasas, por ejemplo, una lacasa y/o peroxidasa.

[0048] En general, las propiedades de la(s) enzima(s) seleccionada(s) deben ser compatibles con el detergente seleccionado, (es decir, pH óptimo, compatibilidad con otros ingredientes enzimáticos y no enzimáticos, etc.), y las enzimas deben estar presentes en cantidades efectivas.

30 Celulasas

[0049] Las celulasas adecuadas incluyen las de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes modificadas químicamente o modificadas genéticamente. Las celulasas adecuadas incluyen celulasas de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Humicola*, *Fusarium*, *Thielavia*, *Acremonium*, por ejemplo las celulasas fúngicas producidas a partir de *Humicola insolens*, *Myceliophthora thermophila* y *Fusarium oxysporum* descritas en las patentes US 4,435,307, US 5,648,263, US 5,691,178, US 5,776,757 y WO 89/09259.

[0050] Las celulasas especialmente adecuadas son las celulasas alcalinas o neutras que tienen beneficios para el cuidado del color. Algunos ejemplos de tales celulasas son las celulasas descritas en las patentes EP 0 495 257, EP 0 531 372, WO 96/11262, WO 96/29397, WO 98/08940. Otros ejemplos son variantes de celulasa tales como las descritas en WO 94/07998, EP 0 531 315, US 5,457,046, US 5,686,593, US 5,763,254, WO 95/24471, WO 98/12307 y WO99/001544.

[0051] Otras celulasas son la enzima endo-beta-1,4-glucanasa que tiene una secuencia de al menos el 97% de identidad con la secuencia de aminoácidos de la posición 1 a la posición 773 de la SEQ ID NO: 2 de WO 2002/099091 o una xiloglucanasa de la familia 44, cuya enzima xiloglucanasa tiene una secuencia de al menos 60% de identidad en las posiciones 40-559 de la SEQ ID NO: 2 de WO 2001/062903.

[0052] Las celulasas disponibles comercialmente incluyen Celluzyme™ y Carezyme™ (Novozymes A/S) Carezyme Premium™ (Novozymes A/S), Celluclean™ (Novozymes A/S), Celluclean Classic™ (Novozymes A/S), Cellusoft™ (Novozymes A/S), Whitezyme™ (Novozymes A/S), Clazinase™ y Puradax HA™ (Genencor International Inc.), y KAC-500 (B)™ (Kao Corporation).

55 Proteasas

[0053] Las proteasas adecuadas incluyen las de origen bacteriano, fúngico, vegetal, vírico o animal, por ejemplo de origen vegetal o microbiano. Se prefiere el origen microbiano. Se incluyen mutantes modificadas químicamente o modificadas genéticamente. Puede ser una proteasa alcalina, como una serina proteasa o una metaloproteasa. Una serina proteasa puede ser, por ejemplo, de la familia S1, como la tripsina, o de la familia S8, como la subtilisina. Una proteasa de las metaloproteasas puede ser, por ejemplo, una termolisina, por ejemplo de la familia M4 u otra metaloproteasa como las de las familias M5, M7 o M8.

[0054] El término "subtilasas" se refiere a un subgrupo de serina proteasas según Siezen et al., Protein Engng. 4 (1991) 719-737 y Siezen et al. Protein Science 6 (1997) 501-523. Las serina proteasas son un subgrupo de proteasas caracterizadas por tener una serina en el sitio activo, que forma un aducto covalente con el sustrato. Las subtilasas se pueden dividir en 6 subdivisiones, es decir, la familia de la subtilisina, la familia de la termitasa, la familia de la proteinasa K, la familia de la peptidasa lantibiótica, la familia de la kexina y la familia de la pirolisina.

[0055] Algunos ejemplos de subtilasas son las derivadas de *Bacillus* como *Bacillus lentus*, *B. alkalophilus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus* y *Bacillus gibsonii* descritas en; US7262042 y WO9/021867 y *lasubtilisina lentus*, *subtilisina Novo*, *subtilisina Carlsberg*, *Bacillus licheniformis*, *subtilisina BPN'*, *subtilisina 309*, *subtilisina 147* y *subtilisina 168* descritas en WO89/06279 y la proteasa PD138 descrita en (WO93/18140). Otras proteasas útiles pueden ser las descritas en WO92/175177, WO01/016285, WO02/026024 y WO02/016547. Algunos ejemplos de proteasas de tipo tripsina son la tripsina (por ejemplo, de origen porcino o bovino) y la proteasa de *Fusarium* descritas en WO89/06270, WO94/25583 y WO05/040372, y las proteasas de quimotripsina derivadas de *Cellomonas* descritas en WO05/052161 y WO05/052146.

[0056] Una proteasa adicional preferida es la proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483, como se describe, por ejemplo, en WO95/23221, y variantes de esta que se describen en WO92/21760, WO95/23221, EP1921147 y EP1921148.

[0057] Algunos ejemplos de metaloproteasas son la metaloproteasa neutra que se describe en WO07/044993 (Genencor Int.), como las derivadas de *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0058] Algunos ejemplos de proteasas útiles son las variantes descritas en: WO92/19729, WO96/034946, WO98/20115, WO98/20116, WO99/011768, WO01/44452, WO03/006602, WO04/03186, WO04/041979, WO07/006305, WO11/036263, WO11/036264, especialmente las variantes con sustituciones en una o más de las siguientes posiciones: 3, 4, 9, 15, 27, 36, 57, 68, 76, 87, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 106, 118, 120, 123, 128, 129, 130, 167, 170, 194, 195, 199, 205, 217, 218, 222, 224, 232, 235, 236, 245, 248, 252 y 274 utilizando la numeración de BPN'. Más preferiblemente, las variantes de subtilasa pueden comprender las mutaciones: S3T, V4I, S9R, A15T, K27R, *36D, V68A, N76D, N87S,R, *97E, A98S, S99G,D,A, S99AD, S101G,M,R S103A, V104I,Y,N, S106A, G118V,R, H120D,N, N123S, S128L, P129Q, S130A, G160D, Y167A, R170S, A194P, G195E, V199M, V205I, L217D, N218D, M222S, A232V, K235L, Q236H, Q245R, N252K, T274A (utilizando la numeración de BPN').

[0059] Las enzimas proteasas disponibles comercialmente adecuadas incluyen las vendidas con los nombres comerciales Alcalase®, Duralase™, Durazym™, Relase®, Relase® Ultra, Savinase®, Savinase® Ultra, Primase®, Polarzyme®, Kannase®, Liqunase®, Liqunase® Ultra, Ovozyme®, Coronase®, Coronase® Ultra, Neutrase®, Everlase® y Esperase® (Novozymes A/S), las vendidas con los nombres comerciales Maxatase®, Maxacal®, Maxapem®, Purafect®, Purafect Prime®, Preferenz™, Purafect MA®, Purafect Ox®, Purafect OxP®, Puramax®, Properase®, Effectenz™, FN2®, FN3®, FN4®, Excellase®, Opticlean® y Optimase® (Danisco/DuPont), Axapem™ (Gist-Brocades N.V.), BLAP (secuencia mostrada en la Figura 29 de US5352604) y sus variantes (Henkel AG) y KAP (*Bacillus alkalophilus subtilisina*) de Kao.

Lipasas y cutinasas:

[0060] Las lipasas y cutinasas adecuadas incluyen las de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen enzimas mutantes modificadas químicamente o modificadas por proteínas. Los ejemplos incluyen lipasa de *Thermomyces*, por ejemplo de *T. lanuginosus* (previamente denominada *Humicola lanuginosa*) como se describe en EP258068 y EP305216, cutinasa de *Humicola*, por ejemplo *H. insolens* (WO96/13580), lipasa de cepas de *Pseudomonas* (algunos de estos ahora han cambiado su nombre a *Burkholderia*), por ejemplo *P. alcaligenes* o *P. pseudoalcaligenes* (EP218272), *P. cepacia* (EP331376), la cepa de *P. sp.* SD705 (WO95/06720 & WO96/27002), *P. wisconsinensis* (WO96/12012), lipasas de *Streptomyces* de tipo GDSL (WO10/065455), cutinasa de *Magnaporthe grisea* (WO10/107560), cutinasa de *Pseudomonas mendocina* (US5,389,536), lipasa de *Termobifida fusca* (WO11/084412), lipasa de *Geobacillus stearothermophilus* (WO11/084417), lipasa de *Bacillus subtilis* (WO11/084599), y lipasa de *Streptomyces griseus* (WO11/150157) y *S. pristinaespiralis* (WO12/137147).

[0061] Otros ejemplos son variantes de lipasa tales como las descritas en EP407225, WO92/05249, WO94/01541, WO94/25578, WO95/14783, WO95/30744, WO95/35381, WO95/22615, WO96/00292, WO97/04079, WO97/07202, WO00/34450, WO00/60063, WO01/92502, WO07/87508 y WO09/109500.

[0062] Los productos comerciales de lipasa preferidos incluyen Lipolase™, Lipex™; Lipolex™ y Lipoclean™ (Novozymes A/S), Lumafast (originalmente de Genencor) y Lipomax (originalmente de Gist-Brocades).

[0063] Otros ejemplos más son lipasas a veces denominadas aciltransferasas o perhidrolasas, por ejemplo aciltransferasas con homología a la lipasa A de *Candida antartica* (WO10/111143), aciltransferasa de *Mycobacterium smegmatis* (WO05/56782), perhidrolasas de la familia CE 7 (WO09/67279), y variantes de la perhidrolasa de *N. smegmatis*, en particular la variante S54V utilizada en el producto comercial Gentle Power Bleach de Huntsman Textile Effects Pte Ltd (WO10/100028).

Amilasas:

[0064] Las amilasas adecuadas que pueden usarse junto con la DNasa pueden ser una alfa-amilasa o una glucoamilasa y pueden ser de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes modificadas químicamente o

modificadas genéticamente. Las amilasas incluyen, por ejemplo, alfa-amilasas obtenidas de *Bacillus*, por ejemplo, una cepa especial de *Bacillus licheniformis*, descrita con más detalle en GB 1,296,839.

5 [0065] Las amilasas adecuadas incluyen amilasas que tienen la SEQ ID NO: 2 de WO 95/10603 o variantes que tienen una identidad de secuencia del 90% con la SEQ ID NO: 3 de la misma. Las variantes preferidas se describen en WO 94/02597, WO 94/18314, WO 97/43424 y SEQ ID NO: 4 de WO 99/019467, tales como variantes con sustituciones en una o más de las siguientes posiciones: 15, 23, 105, 106, 124, 128, 133, 154, 156, 178, 179, 181, 188, 190, 197, 201, 202, 207, 208, 209, 211, 243, 264, 304, 305, 391, 408 y 444.

10 [0066] Las diferentes amilasas adecuadas incluyen amilasas que tienen la SEQ ID NO: 6 de WO 02/010355 o variantes de la misma que tienen una identidad de secuencia del 90% con la SEQ ID NO: 6. Las variantes preferidas de la SEQ ID NO: 6 son aquellas que tienen una delección en las posiciones 181 y 182 y una sustitución en la posición 193.

15 [0067] Otras amilasas que son adecuadas son la alfa-amilasa híbrida que comprende los residuos 1-33 de la alfa-amilasa derivada de *B. amyloliquefaciens* mostrada en la SEQ ID NO: 6 de WO 2006/066594 y los residuos 36-483 de la alfa-amilasa de *B. licheniformis* mostrada en la SEQ ID N°: 4 de WO 2006/066594 o variantes que tienen un 90% de identidad de secuencia con las mismas. Las variantes preferidas de esta alfa-amilasa híbrida son aquellas que tienen una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: G48, T49, G107, H156, A181, N190, M197, 1201, A209 y Q264. Las variantes más preferidas de la alfa-amilasa híbrida que comprende los residuos 1-33 de la alfa-amilasa derivada de *B. amyloliquefaciens* mostrada en la SEQ ID NO: 6 de WO 2006/066594 y los residuos 36-483 de la SEQ ID NO: 4 son las que tienen las sustituciones:

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

30 [0068] Otras amilasas que son adecuadas son amilasas que tienen la SEQ ID NO: 6 de WO 99/019467 o variantes de la misma que tienen un 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 6. Las variantes preferidas de la SEQ ID NO: 6 son aquellas que tienen una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: R181, G182, H183, G184, N195, I206, E212, E216 y K269. Las amilasas particularmente preferidas son aquellas que tienen delección en las posiciones R181 y G182, o en las posiciones H183 y G184.

35 [0069] Las amilasas adicionales que pueden usarse son las que tienen la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 7 de WO 96/023873 o variantes de la misma que tienen una identidad de secuencia del 90% con la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 7. Las variantes preferidas de la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 7 son aquellas que tienen una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: 140, 181, 182, 183, 184, 195, 206, 212, 243, 260, 269, 304 y 476, utilizando la SEQ ID 2 de WO 96/023873 para la numeración. Las variantes más preferidas son aquellas que tienen una delección en dos posiciones seleccionadas de entre 181, 182, 183 y 184, tales como 181 y 182, 182 y 183, o posiciones 183 y 184. Las variantes de amilasa más preferidas de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 7 son aquellas que tienen una delección en las posiciones 183 y 184 y una sustitución en una o más de las posiciones 140, 195, 206, 243, 260, 304 y 476.

45 [0070] Otras amilasas que pueden usarse son amilasas que tienen la SEQ ID NO: 2 de WO 08/153815, la SEQ ID N°: 10 de WO 01/66712 o variantes de esta que tengan un 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2 de WO 08/153815 o 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID N°: 10 de WO 01/66712. Las variantes preferidas de SEQ ID NO: 10 de WO 01/66712 son aquellas que tienen una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: 176, 177, 178, 179, 190, 201, 207, 211 y 264.

50 [0071] Otras amilasas adecuadas son las amilasas que tienen la SEQ ID NO: 2 de WO 09/061380 o variantes que tienen una identidad de secuencia del 90% con la SEQ ID NO: 2 de la misma. Las variantes preferidas de la SEQ ID NO: 2 son aquellas que tienen un truncamiento en el extremo C terminal y/o una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: Q87, Q98, S125, N128, T131, T165, K178, R180, S181, T182, G183, M201, F202, N225, S243, N272, N282, Y305, R309, D319, Q320, Q359, K444 y G475. Las variantes más preferidas de la SEQ ID NO: 2 son aquellas que tienen la sustitución en una o más de las siguientes posiciones: Q87E, R, Q98R, S125A, N128C, T131I, T165I, K178L, T182G, M201L, F202Y, N225E, R, N272E, R, S243Q, A, E, D, Y305R, R309A, Q320R, Q359E, K444E y G475K y/o una delección en la posición R180 y/o S181 o de T182 y/o G183. Las variantes de amilasa más preferidas de la SEQ ID NO: 2 son aquellas que tienen las sustituciones:

60 N128C + K178L + T182G + Y305R + G475K;
N128C + K178L + T182G + F202Y + Y305R + D319T + G475K;
S125A + N128C + K178L + T182G + Y305R + G475K; o
S125A + N128C + T131I + T165I + K178L + T182G + Y305R + G475K en donde las variantes están truncadas
65 en el extremo C terminal y, opcionalmente, comprenden además una sustitución en la posición 243 y/o una delección en la posición 180 y/o la posición 181.

[0072] Otras amilasas adecuadas son las alfa-amilasas que tienen la SEQ ID NO: 12 en WO01/66712 o una variante que tenga al menos un 90% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 12. Las variantes de amilasa preferidas son aquellas que tienen una sustitución, una delección o una inserción en una o más de las siguientes posiciones de la SEQ ID NO: 12 de WO01/66712: R28, R118, N174; R181, G182, D183, G184, G186, W189, N195, M202, Y298, N299, K302, S303, N306, R310, N314; R320, H324, E345, Y396, R400, W439, R444, N445, K446, Q449, R458, N471, N484. Las amilasas preferidas particulares incluyen variantes que tienen una delección de D183 y G184 y que tienen las sustituciones R118K, N195F, R320K y R458K, y una variante que además tiene sustituciones en una o más posiciones seleccionadas del grupo: M9, G149, G182, G186, M202, T257, Y295, N299, M323, E345 y A339, la más preferida es una variante que adicionalmente tiene sustituciones en todas estas posiciones.

[0073] Otros ejemplos son variantes de amilasa como las que se describen en WO2011/098531, WO2013/001078 y WO2013/001087.

[0074] Las amilasas disponibles comercialmente son Duramyl™, Termamyl™, Fungamyl™, Stainzyme™, Stainzyme Plus™, Natalase™, Liquozyme X y BAN™ (de Novozymes A/S), y Rapidase™, Purastar™/Effectenz™, Powerase y Preferenz S100. (de Genencor International Inc./DuPont).

Peroxidasas/Oxidasas

[0075] Las peroxidasas/oxidasas adecuadas incluyen las de origen vegetal, bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes modificadas químicamente o modificadas genéticamente. Algunos ejemplos de peroxidasas útiles incluyen peroxidasas de Coprinus, por ejemplo, de Co. cinereus y variantes de esta como las descritas en WO 93/24618, WO 95/10602y WO 98/15257.

[0076] Las peroxidasas disponibles comercialmente incluyen Guardzyme™ (Novozymes A/S).

[0077] La o las enzimas detergentes pueden incluirse en una composición detergente agregando aditivos separados que contienen una o más enzimas, o agregando un aditivo combinado que comprende todas estas enzimas. Un aditivo detergente, es decir, un aditivo separado o un aditivo combinado, se puede formular, por ejemplo, como un granulado, líquido, suspensión, etc. Las formulaciones de aditivos detergentes preferidas son granulados, en particular granulados sin polvo, líquidos, en particular líquidos estabilizados, o suspensiones.

[0078] Se pueden producir granulados no en polvo, por ejemplo, como se describe en la patente US 4,106,991 y 4,661,452 y pueden recubrirse opcionalmente por métodos conocidos en la técnica. Algunos ejemplos de materiales de recubrimiento cerosos son productos de óxido de poli(etileno) (polietilenglicol, PEG) con pesos molares medios de 1000 a 20000; nonilfenoles etoxilados que tienen de 16 a 50 unidades de óxido de etileno; alcoholes grasos etoxilados en los que el alcohol contiene de 12 a 20 átomos de carbono y en los que hay de 15 a 80 unidades de óxido de etileno; alcoholes grasos; ácidos grasos; y mono y di y triglicéridos de ácidos grasos. Algunos ejemplos de materiales de recubrimiento formadores de película adecuados para la aplicación por técnicas de lecho fluido se dan en GB 1483591. Las preparaciones de enzimas líquidas se pueden estabilizar, por ejemplo, agregando un poliol como propilenglicol, azúcar o alcohol de azúcar, ácido láctico o ácido bórico según los métodos establecidos. Las enzimas protegidas pueden prepararse de acuerdo con el método descrito en EP 238,216.

Formulación de productos detergentes

[0079] La composición detergente puede estar en cualquier forma conveniente, por ejemplo, una barra, una pastilla homogénea, una pastilla que tenga dos o más capas, una bolsita que tenga uno o más compartimentos, un polvo normal o compacto, un gránulo, una pasta, un gel, o un líquido normal, compacto o concentrado.

[0080] Las bolsitas se pueden configurar como individuales o multicompartimento. Puede ser de cualquier forma, silueta y material que sea adecuado para mantener la composición, por ejemplo, sin permitir que la liberación de la composición libere la composición de la bolsita antes del contacto con el agua. La bolsita está hecha de una película soluble en agua que encierra un volumen interior. Dicho volumen interior se puede dividir en compartimentos de la bolsita. Las películas preferidas son materiales poliméricos, preferiblemente polímeros que se forman en una película u hoja. Los polímeros, copolímeros o derivados preferidos de los mismos son poliácridatos seleccionados y copolímeros de acrilato solubles en agua, metilcelulosa, carboxi metil celulosa, dextrina de sodio, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, malto dextrina, poli(metacrilatos), más preferiblemente alcohol poli(vinílico) copolímeros y hidroxipropil metilcelulosa (HPMC). Preferiblemente, el nivel de polímero en la película, por ejemplo PVA, es al menos de aproximadamente el 60%. El peso molecular medio preferido típicamente será de aproximadamente 20 000 a aproximadamente 150 000. Las películas también pueden ser de composiciones mezcladas que comprenden mezclas de polímeros degradables hidrolíticamente y solubles en agua, como ácido poliláctico y alcohol polivinílico (conocido con la referencia comercial M8630, comercializado por MonoSol LLC, Indiana, EE. UU., además de plastificantes como glicerol, etilenglicol, propilenglicol, sorbitol y mezclas de los mismos. Las bolsitas pueden comprender una composición de limpieza de lavandería sólida o componentes de partes y/o una composición de limpieza de líquidos o componentes de partes

separados por la película soluble en agua. El compartimento para componentes líquidos puede tener una composición diferente a los compartimentos que contienen sólidos: US2009/0011970 A1.

5 [0081] Los ingredientes detergentes se pueden separar físicamente entre sí mediante compartimentos en bolsitas solubles en agua o en diferentes capas de pastillas. De este modo, se puede evitar la interacción de almacenamiento negativa entre los componentes. Los diferentes perfiles de disolución de cada uno de los compartimentos también pueden dar lugar a una disolución retardada de los componentes seleccionados de la solución de lavado.

10 [0082] Un detergente líquido o en gel, que no se dosifica en forma unitaria, puede ser acuoso, generalmente contiene al menos un 20% en peso y hasta un 95% de agua, como hasta aproximadamente un 70% de agua, hasta aproximadamente un 65% de agua, hasta aproximadamente 55% de agua, hasta aproximadamente 45% de agua, hasta aproximadamente 35% de agua. Otros tipos de líquidos, incluyendo, sin limitación, alcoholes, aminas, dioles, éteres y polioles, pueden incluirse en un líquido o gel acuoso. Un líquido acuoso o detergente en gel puede
15 contener de 0 a 30% de disolvente orgánico.

[0083] Un detergente líquido o en gel puede ser no acuoso.

Métodos y usos

20 [0084] Se describe una composición detergente que comprende un tensioactivo, un mejorador de detergente y una DNasa que tiene al menos un 80% de identidad, preferiblemente al menos un 90% de identidad, más preferiblemente al menos un 95% de identidad, y de la manera más preferible un 100% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109
25 de la SEQ ID NO: 2; en donde la composición detergente es capaz de reducir la adhesión de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobium sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Stenotrophomonas sp.* a una superficie, o de liberar las bacterias de una superficie a la que se adhieren.

30 [0085] En una forma de realización, la composición detergente también comprende un tensioactivo; y opcionalmente también un adyuvante o coadyuvante de detergente. Preferiblemente, la superficie es una superficie textil y la composición acuosa es una composición detergente de lavandería. La superficie textil puede ser la superficie de cualquier artículo textil, como un artículo hecho de algodón o de un material sintético, por ejemplo, una prenda deportiva, una camiseta u otra prenda que esté expuesta al sudor cuando se usa. La superficie textil
35 también puede ser la superficie de sábanas, ropa de cama o toallas.

[0086] En una forma de realización, la composición detergente no contiene una cantidad eficaz de un sistema de blanqueamiento.

40 [0087] En una forma de realización, la composición detergente es capaz de reducir el mal olor de ropa húmeda que se ha lavado a 10-40 °C (preferiblemente a 10-35 °C o 10-30 °C).

[0088] En una forma de realización, la composición detergente es capaz de reducir el mal olor de ropa húmeda que se ha lavado a 10-40 °C (preferiblemente 10-35 °C o 10-30 °C) y se ha incubado a 20 °C durante 12 horas.
45

[0089] También se describe un método para reducir la adhesión de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobium sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas sp.* a una superficie, o para liberar las bacterias de una superficie a la que se adhieren, que comprende poner en contacto las bacterias con una composición acuosa que
50 comprende una DNasa que tiene al menos un 80% de identidad, preferiblemente al menos un 90% de identidad, más preferiblemente al menos un 95% de identidad, y de la manera más preferible 100% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 27 a 136 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 34 a 142 de la SEQ ID NO: 2.

55 [0090] Preferiblemente, la composición acuosa comprende al menos 1 mg/l de una DNasa.

[0091] En una forma de realización, la composición acuosa también comprende un tensioactivo; y, opcionalmente, también un adyuvante o coadyuvante de detergente. Preferiblemente, la superficie es una superficie textil y la composición acuosa es una composición detergente de lavandería. La superficie textil puede ser la superficie de cualquier artículo textil, como un artículo hecho de algodón o un material sintético, por ejemplo, una prenda deportiva, una camiseta u otra prenda que esté expuesta al sudor cuando se usa. La superficie textil también puede ser la superficie de sábanas, ropa de cama o toallas.
60

[0092] En una forma de realización, la adhesión bacteriana se reduce al menos en un 50%, o al menos el 50% de las bacterias se liberan de la superficie.
65

[0093] En una forma de realización, el método es capaz de reducir el mal olor de ropa húmeda que se ha lavado a 10-40 °C (preferiblemente 10-35°C o 10-30 °C) y se ha incubado a 20 °C durante 12 horas.

5 [0094] También se describe una composición (de lavandería) que comprende agua; artículos textiles; bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobium sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas sp.*; y una DNasa. Preferiblemente, la composición comprende al menos 1 mg/l de una DNasa como se ha descrito anteriormente. El artículo textil puede ser un artículo hecho de algodón o de un material sintético, por ejemplo, una prenda deportiva, una camiseta u otra prenda que esté expuesta al sudor cuando se usa. El artículo textil también puede ser sábanas, ropa de cama o toallas.

10 [0095] La invención también proporciona los métodos anteriores para reducir la adhesión de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobium sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas sp.* a una superficie, o para liberar las bacterias de una superficie a la que se adhieren.

15 [0096] La invención también proporciona los métodos anteriores para reducir el mal olor de la ropa lavada a 10-40 °C (preferiblemente 10-35 °C o 10-30 °C) y posteriormente se incubaba a 20 °C durante 12 horas; o para reducir el mal olor de ropa que ha estado expuesta al contacto directo con el cuerpo durante el uso normal, lavada a 10-40 °C (preferiblemente 10-35 °C o 10-30 °C), y posteriormente expuesta de nuevo al contacto directo con el cuerpo durante el uso normal (preferiblemente durante al menos 10 horas).

20 [0097] Los métodos según la invención pueden llevarse a cabo a una temperatura entre 5 y 70 grados Celsius, preferiblemente entre 10 y 60 grados Celsius, más preferiblemente entre 10 y 50 grados Celsius, aún más preferiblemente entre 10 y 40 grados Celsius, aún más preferiblemente entre 10 y 35 grados centígrados, más preferiblemente entre 10 y 30 grados centígrados, y en particular entre 15 y 30 grados Celsius.

25 [0098] Los métodos de la invención pueden emplear un tiempo de tratamiento de 10 minutos a 120 minutos, preferiblemente de 10 minutos a 90 minutos, más preferiblemente de 10 minutos a 60 minutos, más preferiblemente de 15 minutos a 45 minutos, y de la manera más preferible de 15 minutos a 30 minutos.

30 [0099] Los métodos de la invención pueden llevarse a cabo a pH 3 a pH 11, preferiblemente a pH 5 a pH 10, más preferiblemente a pH 7 a pH 9. Más preferiblemente, los métodos de la invención se llevan a cabo a un pH o temperatura óptimos de la DNasa +/- una unidad de pH.

35 [0100] A continuación se describen:

1. Una composición detergente que comprende

- 40 a. Uno o más tensioactivos aniónicos;
 b. Una enzima seleccionada del grupo que consiste en: una proteasa, una lipasa, una cutinasa, una amilasa, una carbohidrasa, una celulasa, una pectinasa, una mananasa, una arabinasa, una galactanasa, una xilanasas y una oxidasa; y
 c. Una desoxirribonucleasa (DNasa).

45 2. Composición según el párrafo 1, en la que el tensioactivo aniónico se selecciona del grupo que consiste en: alquilbencenosulfonatos lineales (LAS), isómeros de LAS, alquilbencenosulfonatos ramificados (BABS), fenilalcanosulfonatos, sulfonatos de alfa olefina (AOS), sulfonatos de olefina, sulfonatos de alqueno, alcanos-2,3-diilbis(sulfatos), hidroxialcanosulfonatos y disulfonatos, alquilsulfatos (AS) como el dodecil sulfato de sodio (SDS), sulfatos de alcoholes grasos (FAS), sulfatos de alcoholes primarios (PAS), etersulfatos de alcohol (AES o AEOS o FES), alcanosulfonatos secundarios (SAS), sulfonatos de parafina (PS), sulfonatos de éster, ésteres de glicerol de ácidos grasos sulfonados, ésteres metílicos alfa-sulfo de ácidos grasos (alfa-SFMe o SES), sulfonato de éster metílico (MES), ácido alquil o alquenilsuccínico, dodecenil/tetradecenil ácido succínico (DTSA), derivados de ácidos grasos de aminoácidos, diésteres y monoésteres de ácido sulfo-succínico o jabón.

55 3. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la cantidad de tensioactivo aniónico está en el rango de 1 a 40%, en el rango de 5 a 30% o en el rango de 10 a 20%.

60 4. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores, en donde la cantidad de adyuvante o coadyuvante de detergente está en el rango de 0 a 65%, en el rango de 40-65% o en el rango de 40 a 65%.

65 5. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la composición comprende 10-40% p/p de un tensioactivo, 4-50% p/p de un adyuvante y 0-5% p/p de un polímero y opcionalmente una carga, disolventes y un estabilizador de enzimas.

6. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la DNasa se puede obtener de una bacteria.

7. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la DNasa se puede obtener de *Bacillus*.
- 5 8. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la DNasa tiene al menos un 80% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
- 10 9. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la DNasa tiene al menos un 85% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
- 15 10. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la DNasa tiene al menos un 90% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 como los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
- 20 11. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la DNasa tiene al menos un 95% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
- 25 12. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la DNasa tiene al menos un 97% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
- 30 13. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la DNasa tiene al menos un 98% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
- 35 14. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la DNasa tiene al menos un 99% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
- 40 15. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la composición detergente es capaz de reducir la adhesión de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter* sp., *Aeromicrobium* sp., *Brevundimonas* sp., *Microbacterium* sp., *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus epidermidis*, y *Stenotrophomonas* sp. a una superficie, o de liberar las bacterias de una superficie a la que se adhieren.
- 45 16. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la superficie es una superficie textil.
- 50 17. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la composición es capaz de reducir el mal olor de ropa húmeda y/o seca.
- 55 18. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la composición es capaz de reducir el E-2-nonenal de ropa húmeda y/o seca.
- 60 19. Composición según cualquiera de los párrafos anteriores, en donde la composición es una barra, una pastilla homogénea, una pastilla que tiene dos o más capas, una bolsita que tiene uno o más compartimentos, un polvo normal o compacto, un gránulo, una pasta, un gel o un líquido normal, compacto o concentrado.
- 65 20. Composición de acuerdo con cualquiera de los párrafos precedentes, en donde la composición es un detergente líquido, un detergente en polvo o un detergente en gránulos.
21. Un método de lavado para textiles que comprende:
- a. exponer un material textil a un líquido de lavado que comprende una DNasa o una composición detergente de acuerdo con cualquiera de los párrafos 1-20,
 - b. completar al menos un ciclo de lavado; y
 - c. opcionalmente, enjuagar el textil.
22. Método según el párrafo 21, en el que el pH del líquido de lavado está en el rango de 7 a 10, preferiblemente de 7 a 9, tal como 7,5.
23. Método de acuerdo con cualquiera de los párrafos del método anterior, en donde la temperatura del líquido de lavado está en el rango de 5 °C a 95 °C, o en el rango de 10 °C a 80 °C, o en el rango de 10 °C a 70 °C, o

ES 2 738 639 T3

en el rango de 10 °C a 60 °C, o en el rango de 10 °C a 50 °C, o en el rango de 15 °C a 40 °C, o en el rango de 20 °C a 30 °C.

- 5 24. Método según cualquiera de los párrafos del método anterior, en el que la temperatura del líquido de lavado es de 30 °C.
25. Método según cualquiera de los párrafos del método anterior, en el que el material textil se expone a un líquido de lavado durante un primer y opcionalmente un segundo y tercer ciclo de lavado.
- 10 26. Método según cualquiera de los párrafos del método anterior, en el que el tejido se enjuaga después de haber sido expuesto al líquido de lavado.
27. Método según cualquiera de los párrafos del método anterior, en el que se usa un acondicionador para el enjuague del textil.
- 15 28. Método de acuerdo con cualquiera de los párrafos del método precedente, en el que se reduce el mal olor de los textiles lavados húmedos y/o secos.
- 20 29. Método de acuerdo con cualquiera de los párrafos del método anterior, en el que se reduce la cantidad de E-2-nonenal en los textiles lavados húmedos y/o secos.
30. Método de acuerdo con cualquiera de los párrafos de método anteriores, en el que la blancura del tejido se mantiene o mejora.
- 25 31. Método según cualquiera de los párrafos del método anterior, en el que se reduce la redeposición de suciedad.
32. Textil lavado de acuerdo con el método de cualquiera de los párrafos 21-31.
- 30 33. Uso de una desoxirribonucleasa (DNasa) para reducir el mal olor de ropa y/o textiles lavados.
34. Uso de una DNasa según cualquiera de los párrafos anteriores para reducir el mal olor de ropa que ha estado expuesta al contacto directo con el cuerpo durante el uso normal, lavada a 10-40 °C y posteriormente expuesta de nuevo al contacto directo con el cuerpo durante el uso normal.
- 35 35. Uso de acuerdo con el párrafo 31 para reducir la cantidad de E-2-nonenal en un textil.
36. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la cantidad de E-2-nonenal presente en un textil se reduce a menos del 80% de la cantidad de E-2-nonenal presente en el textil antes del lavado.
- 40 37. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la cantidad de E-2-nonenal presente en un textil se reduce a menos del 70%, por debajo del 60%, por debajo del 50%, por debajo del 40%, por debajo del 30%, por debajo del 20%, por debajo del 10% o por debajo del 5% de la cantidad de E-2-nonenal presente en el tejido antes del lavado o se reduce.
- 45 38. Uso de una DNasa para mantener o mejorar la blancura de un textil.
39. Uso de una DNasa para reducir la redeposición de suciedad durante un ciclo de lavado.
- 50 40. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la DNasa se puede obtener de una bacteria.
41. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la DNasa se puede obtener de *Bacillus*.
- 55 42. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la DNasa tiene al menos un 80% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
- 60 43. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la DNasa tiene al menos un 85% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.
- 65 44. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la DNasa tiene al menos un 90% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

45. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la DNasa tiene al menos un 95% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

5 46. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la DNasa tiene al menos un 97% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

10 47. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la DNasa tiene al menos un 98% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

15 48. Uso de acuerdo con cualquiera de los párrafos de uso anteriores, en donde la DNasa tiene al menos un 99% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 1 a 110 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1 a 109 de la SEQ ID NO: 2.

[0101] Y también se describe:

20 1a. Una composición detergente que comprende un tensioactivo, un adyuvante de detergente y una DNasa que tiene al menos 80% de identidad, preferiblemente al menos 90% de identidad, más preferiblemente al menos 95% de identidad, y de la manera más preferible 100% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 27 a 136 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 34 a 142 de la SEQ ID NO: 2; en donde la composición detergente es capaz de reducir la adhesión de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobium sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Stenotrophomonas sp.* a una superficie, o de liberar las bacterias de una superficie a la que se adhieren.

25 2a. La composición del párrafo 1a, que es una composición detergente de lavandería, y en la que la superficie es una superficie textil.

30 3a. La composición de los párrafos 1a o 2a, que es capaz de reducir el mal olor de ropa húmeda que se ha lavado a 10-40 °C y posteriormente se ha incubado a 20 °C durante 12 horas.

35 4a. Un método para reducir la adhesión de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobium sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas sp.* a una superficie, o para liberar las bacterias de una superficie a la que se adhieren, que comprende poner en contacto las bacterias con una composición acuosa que comprende una DNasa que tiene al menos un 80% de identidad, preferiblemente al menos un 90% de identidad, más preferiblemente al menos un 95% de identidad, y de la manera más preferible 100% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 27 a 136 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 34 a 142 de la SEQ ID NO: 2.

40 5a. El método del párrafo 4a, en el que la composición acuosa también comprende un tensioactivo.

45 6a. El método de los párrafos 4a o 5a, en el que la superficie es una superficie textil y la composición acuosa es una composición detergente de lavandería.

50 7a. El método de cualquiera de los párrafos 4a-6a, en el que la temperatura de la composición acuosa es de 10-40 °C.

8a. El método de cualquiera de los párrafos 4a-7a, que reduce el mal olor de ropa húmeda que se ha lavado a 10-40 °C y posteriormente se ha incubado a 20 °C durante 12 horas.

55 9a. El método de cualquiera de los párrafos 4a-8a, en el que la adhesión se reduce en al menos un 50%, o al menos el 50% de las bacterias se libera de la superficie.

60 10a. Una composición acuosa que comprende agua; tensioactivo; artículos textiles o vajilla; bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobium sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Stenotrophomonas sp.*; y una DNasa que tiene al menos 80% de identidad, preferiblemente al menos 90% de identidad, más preferiblemente al menos 95% de identidad, y de la manera más preferible 100% de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada como los aminoácidos 27 a 136 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 34 a 142 de la SEQ ID NO: 2.

65 11a. Uso de una DNasa para reducir la adhesión de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobium sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas*

sp. Staphylococcus epidermidis, y *Stenotrophomonas sp.* a una superficie, o para liberar las bacterias de una superficie a la que se adhieren.

5 12a. Uso de una DNasa para reducir el mal olor de ropa lavada a 10-40 °C y posteriormente incubada a 20 °C durante 12 horas.

10 13a. Uso de una DNasa para reducir el mal olor de ropa que ha sido expuesta al contacto directo con el cuerpo durante el uso normal, lavada a 10-40 °C y posteriormente expuesta nuevamente al contacto directo con el cuerpo durante el uso normal.

[0102] La presente invención se describe con más detalle mediante los siguientes ejemplos, que no deben interpretarse como limitativos del alcance de la invención.

EJEMPLOS

15 [0103] Los productos químicos utilizados como tampones y sustratos fueron productos comerciales de al menos grado reactivo. La DNasa de *Bacillus subtilis* utilizada en el siguiente ejemplo tiene una secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO: 1, y la DNasa de *Bacillus licheniformis* tiene una secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO: 2.

20 Ensayo I

Determinación de la actividad de la DNasa

25 [0104] La actividad de la DNasa, como se define, es la actividad de una desoxirribonucleasa capaz de degradar un ácido desoxirribonucleico (ADN), como la actividad enzimática descrita en EC 3.1.21.- o EC 3.1.22.-, preferiblemente EC 3.1.21.-, y de la manera más preferible EC 3.1.21.1; basado en las recomendaciones del Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB).

30 [0105] Varios ensayos para determinar la actividad de la DNasa están disponibles comercialmente o se han publicado en la literatura, como Tolun y Myers "A real-time DNase assay (ReDA) based on PicoGreen fluorescence", *Nucleic Acids Research* (2003), vol. 31, no. 18, e111; o Sinicropi et al. "Colorimetric determination of DNase I activity with a DNA-methyl green substrate", *Analytical Biochemistry* (1994), 222(2), pp. 351-8.

35 Ensayo II

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

40 [0106] Una forma de detectar la presencia de mal olor en los textiles es utilizando E-2-Nonenal como marcador para el mal olor, ya que este compuesto contribuye al mal olor en la ropa.

45 [0107] Se agrega una solución de E-2-nonenal a una muestra de textil de 5 cm x 5 cm y se coloca la muestra en un frasco de vidrio de 20 ml para el análisis de CG y se tapa el frasco. Se analizan 5 mL de espacio sobrante de los viales tapados con una nariz electrónica Heracles II de Alpha M.O.S., Francia (cromatógrafo de gases de doble columna con 2 FID, columna 1: MXT5 y columna 2: MXT1701) después de 20 minutos de incubación a 40 °C.

EJEMPLO 1

50 Reducción de la adhesión de bacterias específicas de la ropa sucia utilizando una DNasa

Aislamiento de cepas bacterianas específicas de la ropa sucia

55 [0108] Uno de los objetivos del presente estudio fue investigar la diversidad bacteriana en la ropa después del lavado a 15, 40 y 60 °C, respectivamente.

60 [0109] El estudio se realizó con ropa sucia recogida de hogares daneses. Para cada lavado, se utilizaron 20 g de artículos sucios (pañños de cocina, toallas, bayetas, baberos, sisas de camisetas, cuellos de camisetas, calcetines) en el rango de 4:3:2:2:1:1:1:1. El lavado se realizó en un Laundr-O-Meter (LOM) a 15, 40 y 60 °C. Para el lavado a 15 y 40 °C, se usó Ariel Sensitive White & Color, mientras que el detergente modelo WFK IEC-A* se usó para el lavado a 60 °C. Ariel Sensitive White & Color se preparó pesando 5,1 g y agregando agua del grifo hasta 1000 ml, seguido de agitación durante 5 minutos. El detergente modelo WFK IEC-A * (que está disponible en WFK Testgewebe GmbH) se preparó pesando 5 g y agregando agua del grifo hasta 1300 ml, seguido de agitación durante 15 minutos. El lavado se realizó durante 1 hora a 15, 40 y 60 °C, respectivamente, seguido de enjuague 2 veces durante 20 min a 15 °C.

65 [0110] Se tomaron muestras de la ropa inmediatamente después del lavado a 15, 40 y 60 °C, respectivamente. A veinte gramos de muestras se añadió NaCl al 0,9% (p/v) (1,06404; Merck, Damstadt, Alemania) con una

interpolación de 0,5% (p/p) para obtener una dilución de 1:10 en una bolsa Stomacher. La mezcla se homogeneizó utilizando una Stomacher durante 2 minutos a velocidad media. Después de la homogeneización, se prepararon diluciones diez veces en NaCl al 0,9% (p/v). Las bacterias se enumeraron en Agar de soja triptica (CM0129, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido) incubado aeróbicamente a 30 °C durante 5-7 días. Para suprimir el crecimiento de levaduras y mohos, se agregaron ácido sórbico al 0,2% (359769, Sigma) y cicloheximida al 0,1% (18079; Sigma). Se seleccionaron veinticuatro colonias de bacterias y hongos de las placas de recuento y se purificaron por estriado dos veces en TSA. Para un almacenamiento prolongado, los aislados purificados se almacenaron a -80 °C en TSB que contenía glicerol al 20% (p/v) (49779; Sigma).

10 Contacto con bacterias específicas de la ropa sucia con DNasa para reducir la adhesión

[0111] En este estudio se utilizaron ocho cepas de bacterias relevantes para la ropa sucia (*Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobius sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermidis* y *Stenotrophomonas sp.*). Las cepas seleccionadas dieron lugar a un mal olor muy desagradable.

15 [0112] Para el almacenamiento a largo plazo, las cepas bacterianas se mantuvieron a -80 °C en caldo de soja triptica (TSB) (pH 7,3) (CM0129, Oxoid Ltd, Basingstoke, Reino Unido), al que se añadió glicerol al 20% (v/v) (Merck, Darmstadt, Alemania). Los cultivos bacterianos se cultivaron previamente en agar de soja triptica (TSA) (pH 7,3) durante 3-5 días a 30 °C. Desde una única colonia, se transfirió el contenido de un asa de inoculación a un tubo de ensayo que contenía 10 ml de TSB y se incubó durante 1 día a 30°C con agitación (240 rpm). Después de la propagación, se utilizaron células bacterianas para investigar las propiedades de prevención y deleción de biopelículas de DNasa de *Bacillus subtilis* (SEQ ID NO: 1) y DNasa de *Bacillus licheniformis* (SEQ ID N°: 2).

25 [0113] Con el fin de investigar la prevención de la formación de biopelículas, las células bacterianas se diluyeron 1000 veces en TSB con 0, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 y 256 ppm de DNasa. Se inocularon cien µl en una placa de poliestireno de 96 pocillos (fondo plano) (161093; Nunc, Roskilde, Dinamarca) y se incubaron durante 3 días a 30 °C. Después de la incubación, el crecimiento se determinó midiendo la densidad óptica a 600 nm utilizando un lector Spectramax Plus 384 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EE. UU.). La prevención de adhesión/formación de biopelícula se midió eliminando las células no adherentes mediante lavado dos veces con NaCl al 0,9% (p/v) (Merck). Para medir la adhesión, se añadieron 200 µl de cristal violeta al 0,1% (p/v) (C0775; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) y se dejaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Los pocillos se lavaron dos veces con NaCl al 0,9% (p/v), y el cristal violeta unido se eluyó mediante la adición de 200 µl de etanol al 96% (p/v) (201145; Kemetyl, Køge, Dinamarca) y se determinó mediante medición en 595 nm.

35 [0114] Con el fin de investigar la eliminación de biopelículas, las células bacterianas se diluyeron 100 veces en TSB y se agregaron 100 µl a la placa de microtitulación. Las células bacterianas se incubaron durante 3 días a 30 °C para adherirse a la superficie y producir una biopelícula uniforme. Las células que no se adhirieron a la superficie de la placa de microtitulación se lavaron suavemente y las células productoras de biopelículas restantes se trataron durante 1 hora a 30 °C con DNasa (30 y 100 ppm, respectivamente) en una solución detergente acuosa, preparada agregando 3,33 g/l en agua de un modelo A que contenía 12% de LAS, 11% de AEO Biosoft N25-7 (NI), 7% de AEOS (SLES), 6% de MPG, 3% de etanol, 3% de TEA (trietanolamina), 2,75 % de jabón de cacao, 2,75% de jabón de soja, 2% de glicerol, 2% de hidróxido de sodio, 2% de citrato de sodio, 1% de formiato de sodio, 0,2% de DTMPA, 0,2% de PCA y 40,63% de agua sometida a intercambio iónico (todos los porcentajes son en p/p).

45

Tabla 1

La tabla 1 muestra la concentración más baja a la que se observó la prevención de la adhesión bacteriana		
Cepa	DNasa de <i>Bacillus subtilis</i>	DNasa de <i>B. licheniformis</i>
<i>Acinetobacter sp.</i>	0,5 ppm	0,5
<i>Aeromicrobius sp.</i>	4	0,5
<i>Brevundimonas sp.</i>	64	128
<i>Microbacterium sp.</i>	16	-
<i>Micrococcus luteus</i>	16	32
<i>Pseudomonas sp.</i>	8	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	64

Tabla 2

Eliminación de biopelículas por DNasa de <i>Bacillus subtilis</i> y DNasa de <i>Bacillus licheniformis</i> . +/- en la Tabla 2: eliminación de biopelículas/no eliminación de biopelículas

Cepa	DNasa de <i>Bacillus subtilis</i>		DNasa de <i>B. licheniformis</i>	
	30 ppm	100 ppm	30 ppm	100 ppm
<i>Acinetobacter sp.</i>	-	-	+	+
<i>Aeromicrobium sp.</i>	-	-	-	-
<i>Brevundimonas sp.</i>	+	+	+	+
<i>Microbacterium sp.</i>	-	+	-	+
<i>Micrococcus luteus</i>	+	+	-	-
<i>Pseudomonas sp.</i>	+	+	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	+	+	+
<i>Stenotrophomonas sp.</i>	+	+	-	+

[0115] El presente estudio muestra que la DNasa de *Bacillus subtilis* y la DNasa de *Bacillus licheniformis* disminuyen las propiedades de adhesión de *Acinetobacter sp.*, *Aeromicrobium sp.*, *Brevundimonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas sp.* que se encuentran en la ropa lavada, donde producen mal olor cuando los textiles se vuelven a usar después de ser lavados.

[0116] Lo más importante es que la inhibición de las propiedades de adhesión evitará la transferencia de estas bacterias entre diferentes elementos textiles durante el proceso de lavado y, por lo tanto, limitará la aparición de estas bacterias. Además, la inhibición de las propiedades de adhesión minimizará el riesgo de crecimiento de estas bacterias dentro de la lavadora. El crecimiento de bacterias dentro de la lavadora puede causar un mal olor de la lavadora. Además, las bacterias desprendidas pueden transferirse a los textiles durante el proceso de lavado y más tarde causar un mal olor de los textiles cuando se usan después del proceso de lavado.

15 Ejemplo 2

Rendimiento de la DNasa de *B. licheniformis* (SEQ ID NO: 2) en detergentes modelo y detergentes comerciales

[0117] En el presente ejemplo se utilizó una cepa de *Brevundimonas sp.* aislada a partir de ropa sucia (véase el Ejemplo 1).

[0118] Para el almacenamiento a largo plazo, la *Brevundimonas sp.* se mantuvo a -80 °C en caldo de soja triptica (TSB) (pH 7,3) (CM0129; Oxoid Ltd, Basingstoke, Reino Unido), al que se añadió glicerol al 20% (v/v) (Merck, Darmstadt, Alemania). *Brevundimonas sp.* se cultivó previamente en agar de soja triptica (TSA) (pH 7.3) (CM0131; Oxoid Ltd, Basingstoke, Reino Unido) durante 2 a 5 días a 30 °C. A partir de una única colonia, se transfirió el contenido de un asa de inoculación a 10 ml de TSB y se incubó durante 1 día a 30°C con agitación (240 rpm). Después de la propagación, *Brevundimonas sp.* se sedimentó por centrifugación (Sigma Laboratory Centrifuge 6K15) (3000 g a 21 °C en 7 min) y se resuspendió en 10 ml de TSB diluido dos veces con agua. La densidad óptica (D.O.) a 600 nm se midió utilizando un espectrómetro (POLARstar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Alemania). Se inoculó TSB fresco diluido dos veces con agua a una D.O._{600nm} de 0,03, y se agregaron 1,6 ml a cada pocillo de una microplaca de fondo plano de poliestireno de 12 pocillos (3512; Corning Incorporated, Corning, NY, EE. UU.) en la que se colocó una muestra redonda (diámetro 2 cm) de poliéster estéril WFK30A. Después de la incubación (24 h a 15 °C con agitación (100 rpm), las muestras se lavaron dos veces con NaCl al 0,9% (p/v). Cinco muestras lavadas con *Brevundimonas sp.* se mezclaron con cinco muestras de poliéster WFK30A estériles en un tubo de ensayo de 50 ml y se agregaron 10 ml de solución de lavado detergente que contenía 0,7 g/l de sustrato sucio (Pigmentschmutz, 09V, wfk, Krefeld, Alemania) y DNasa de *Bacillus licheniformis* (5 ppm). Los tubos de ensayo se colocaron en un rotador Stuart durante 1 hora a 30 °C. Las muestras se enjuagaron dos veces con agua corriente y se secaron sobre papel de filtro durante la noche. Como controles, en paralelo se realizaron lavados sin la adición DNasa de *B. licheniformis*. La remisión (valores de L) se midió utilizando un espectrofotómetro de reflectancia (Color Eye 7000 de Macbeth). Las mediciones se realizaron sin UV en la luz incidente y se extrajo el valor L del espacio de color CIE Lab.

[0119] Con el fin de investigar los efectos de limpieza profunda de la DNasa en varios detergentes, se seleccionaron detergentes tanto modelo como comerciales (líquidos y polvos) de diferentes regiones.

[0120] Con respecto a los líquidos, se utilizaron los siguientes detergentes: detergente A que contenía 12% de LAS, 11% de AEO Biosoft N25-7 (NI), 7% de AEOS (SLES), 6% de MPG (monopropilenglicol), 3% de etanol, 3% de TEA, 2,75% de jabón de cacao, 2,75% de jabón de soja, 2% de glicerol, 2% de hidróxido de sodio, 2% de citrato de sodio, 1% de formiato de sodio, 0,2% de DTMPA, 0,2% de PCA y 40,63% de agua sometida a intercambio iónico (todos los porcentajes son p/p) (UE, 3,3 g/L), TIDE Original (EE. UU., 3,2 g/L), Ariel Actilift (UE, 6.9 g/L), OMO Small and Mighty (UE, 4 g/L), Persil Gel Sensitive (UE, 7,2 g/L) y Blue Moon (Asia, 1,6 g/L).

- [0121] Con respecto a los polvos, se utilizaron los siguientes detergentes: detergente modelo T que contenía 11% de LAS, 2% de AS/AEOS, 2% de jabón, 3% de AEO, 15,15% de carbonato de sodio, 3% de silicato de sodio, 18,75% de zeolita, 0,15% de quelante, 2% citrato de sodio, 1,65% de copolímero AA/MA, 2,5% de CMC, 0,5% de SRP, 36% de sulfato de sodio y 2% de controlador de espuma (todos los porcentajes son p/p) (UE, 5,3 g/L), modelo de detergente X que contenía 16,5% de LAS, 15% de zeolita, 12% de disilicato de sodio, 20% de carbonato de sodio, 1% de sokalan, 35,5% de sulfato de sodio (todos los porcentajes son p/p) (Asia, 1,8 g/L), Ariel (UE, 5,3 g/L) y Persil Megaperls (UE, 4,0 g/L).
- [0122] Para detergentes de la UE, se utilizó un agua con una dureza de 15 °dH (Ca: Mg: NaHCO₃:1:1,5). Para detergentes de EE. UU., se utilizó agua con una dureza de 6 °dH (Ca: Mg: NaHCO₃:1:1,5). Para detergentes asiáticos, se utilizó agua con una dureza de 14 °dH (Ca: Mg: NaHCO₃:1:1,5).

Tabla 3

Efectos de limpieza profunda con DNasa de <i>Bacillus licheniformis</i> .	
Detergente	Remisión (Δ L)
Líquidos:	
Modelo detergente A	8,1
TIDE original	4,7
Ariel Actilift	5,9
OMO Small and Mighty	5,6
Persil Gel Sensitive	5,2
Blue Moon	9,0
En polvo:	
Modelo detergente T	6,6
Modelo detergente X	6,2
Ariel Actilift	8,3
Persil Megaperls	5,4

- [0123] El presente ejemplo muestra que la DNasa de *B. liquesiformis* evita la deposición de suciedad (antirredeposición) en muestras de poliéster precultivadas con bacterias. La prevención de la deposición de suciedad se observó tanto en detergentes líquidos con pH 8,0, como en detergentes en polvo con pH 10. El efecto observado se debe a los efectos de limpieza profunda de la DNasa de *B. liquesiformis*. Lo más importante es que el presente ejemplo demuestra que la DNasa de *B. liquesiformis* evitará la transferencia de suciedad entre diferentes artículos textiles durante el proceso de lavado y, por lo tanto, permitirá que la ropa sucia se pueda lavar con ropa menos sucia.

Ejemplo 3

ADN/DNasa/mal olor.

- [0124] Este ejemplo muestra que la presencia de ADN en el textil hace que los compuestos como el E-2-Nonenal, un compuesto maloliente que se encuentra en la ropa, se adhieran mejor al textil incluso después de un lavado con detergente.

- [0125] El uso de una DNasa en el lavado reduce la presencia de ADN en el tejido y, por lo tanto, también la presencia de E-2-Nonenal, y por lo tanto disminuye el mal olor en la ropa. Se colocaron doce muestras de 5 cm x 5 cm de poliéster textil (wfk30A) en placas de Petri separadas, y se aplicaron 500 μ l de agua MilliQ a 4 de las muestras, mientras que 500 μ l de una solución de 0,05 mg/ml de ADN procedente de testículos de salmón disuelto en agua MilliQ se aplicaron a las 8 muestras restantes.

- [0126] Las 12 muestras se dejaron secar durante la noche a temperatura ambiente. Se aplicaron 450 μ l de E-2-Nonenal 10 mM disueltos en agua a todas las muestras secas, y se dejaron secar durante 1 hora bajo flujo máximo en una cabina de flujo laminar. Las muestras secas se colocaron en tres tubos Falcon de 50 ml junto con cada 20 ml de líquido de lavado formado por agua MilliQ y un detergente líquido (detergente modelo A del ejemplo 1) en una concentración de 3,33 g/L, y en el tubo número tres se añadieron 30 ppm de DNasa (NucB de *B. subtilis*), todo como se describe en la Tabla 4.

- [0127] En el tubo número 1 se colocaron cuatro muestras con E-2-Nonenal y sin ADN, y en cada uno de los tubos número 2 y 3 se colocaron cuatro muestras con ambos E-2-Nonenal y ADN. Los tubos se cerraron con una tapa y

se montaron en un Mini-Laundr-O-Meter (un rotador de tubos Stuart SB3); las muestras se lavaron luego a 30°C durante 60 minutos a 20 rpm.

- 5 [0128] Después del lavado, el líquido de lavado se desechó y las muestras se enjuagaron 2 veces con 15 ml de agua MilliQ. Cada muestra se colocó en un vial de vidrio de 20 ml para el análisis por CB y se tapó. Los viales tapados se analizaron en una nariz electrónica Heracles II de Alpha MOS, Francia (cromatógrafo de gases de doble columna con 2 FID, columna 1: MXT5 y columna 2: MXT1701) donde se analizaron 5 ml del espacio libre de cada vial después de 20 minutos de incubación a 40 °C. Las áreas de los picos de E-2-Nonenal en los cromatogramas resultantes, para las columnas 1 y 2 por separado, se promediaron para las muestras de los tres tubos y se pueden ver en la Tabla 4.

Tabla 4:

Tubo	ADN	Nonenal	Lavado con DNasa	Área pico media de E-2-Nonenal (columna 1)	Área pico media de E-2-Nonenal (columna 2)
1	0 µg/cm ²	450µL de 10 mM	0 ppm	11765	13392
2	1,0 µg/cm ²	450µL de 10 mM	0 ppm	699302	730078
3	1,0 µg/cm ²	450µL de 10 mM	30 ppm	72783	79228

- 15 [0129] Los resultados de la Tabla 4 muestran que la presencia de ADN en las muestras de textiles hace que el E-2-Nonenal se adhiera mejor al textil, por lo que hay más E-2-Nonenal en el textil después del lavado. En el tubo 2, el área de pico promedio para E-2-Nonenal presente en muestras con ADN es hasta 59 veces mayor que el área de pico promedio para el E-2-Nonenal presente en muestras sin ADN (tubo 1), lo que demuestra que la presencia de ADN en el textil aumenta el mal olor.

- 20 [0130] Los resultados también muestran que la adición de la DNasa al lavado puede disminuir la cantidad de E-2-Nonenal que se pega al textil después del lavado, disminuyendo así el mal olor después del lavado.

- 25 [0131] En el tubo 3, el área pico promedio para E-2-Nonenal presente en muestras con ADN disminuyó más de 9 veces debido a la adición de DNasa en el lavado en comparación con el área de pico promedio para E-2-Nonenal presente en muestras con ADN en el tubo 2, lo que demuestra que la presencia de DNasa en el lavado disminuye el mal olor en los textiles.

Ejemplo 4

30 Ejemplo 4a:

Preparación de textiles manchados con ADN

- 35 [0132] Para preparar muestras de textiles manchadas con ADN, llamadas "muestras de ADN", se disuelven 5,0 mg/ml de ADN en agua MilliQ estéril y se colocan en una nevera a 5 °C durante la noche para dejar que el ADN se disuelva. Se hacen diluciones de la solución de ADN, por ejemplo 0,25, 0,5 o 1,0 mg/mL en agua MilliQ estéril. Se colocan hasta 6 muestras de textil redondas con un diámetro de 2 cm en una placa de Petri estéril y se aplican 100 µL de solución de ADN de la concentración elegida a cada muestra de textil y se dejan en la placa de Petri sin tapa durante la noche o hasta que se sequen. Para volver a aplicar el ADN a las muestras de ADN lavadas, se espera hasta que las muestras de ADN lavadas estén secas y se aplican 100 µL de solución de ADN de la concentración elegida a cada muestra de textil y se las deja en la placa de Petri sin tapa durante la noche o hasta que se sequen.

45 Ejemplo 4b:

Ensayo III: ADN/suciedad en lavado multicíclico

- 50 [0133] Una forma de examinar la acumulación de ADN en textiles y los efectos de la redeposición de ADN en textiles durante el lavado es lavar muestras de ADN junto con muestras textiles limpias, llamadas "muestras de marcador", en múltiples lavados consecutivos con detergente y suciedad donde el ADN se vuelve a aplicar a las muestras con ADN entre cada lavado para simular el uso entre lavados.

- 55 Se prepara 1L a 15 ° dH de agua pipeteando 3,00 mL de 0,713 mol/L de CaCl₂, 1,50 mL de 0,357 mol/L y 0,3371 g de NaHCO₃ en un cilindro de medición de 1L, se llena hasta 1L con agua MilliQ y se agita para disolver. Se pesan 3,33 g de detergente modelo A y se disuelven en el agua. Se pesan de 0,70 g de sustrato pigmentado según ILG 09V de wfk Testgewebe GmbH, Alemania, y se disuelven en el agua con un detergente, llamado una solución de

detergente sucio. Se colocan 5 muestras de ADN y 5 muestras de marcador en cada vaso de plástico de 50 ml (tubo de centrifuga Falcon o NUNC). Se agregan 10 ml de la solución de detergente sucio a cada vaso. Se coloca una tapa en todos los vasos y se agitan bien para asegurar una buena distribución de las muestras. Se montan los vasos en un Mini-Laundr-O-Meter (un retador de tubo Stuart SB3) y lavan a 30 °C durante 60 minutos a 20 rpm. Después del lavado, el rotador se coloca a temperatura ambiente, mientras que las muestras de un vaso de precipitados se enjuagande una en una con agua a 15 ° dH y se colocan de nuevo en el rotador. Se enjuaga cada vaso 2 veces en 20 ml 15 ° dH de agua. Después del último enjuague, las muestras se dejan secar en papel de filtro durante la noche o hasta que se sequen. Cuando estén secas, se vuelve a aplicar el ADN a las muestras de ADN como se ha descrito anteriormente. Se repite el lavado y la reaplicación de ADN hasta que las muestras hayan sido lavadas un total de 5 veces o hasta que se observen suficientes diferencias después del lavado. Las mismas muestras de marcador se utilizan a lo largo del experimento para mostrar la acumulación de ADN transferido en los lavados. El ADN que se lava de una muestra textil puede adherirse a un tejido limpio y la presencia de ADN en el textil hace que la suciedad se adhiera mejor al textil incluso después del lavado con detergente. Después del último lavado, se mide la reflectancia de todas las muestras textiles en ColorEye o DigiEye, cuanto más ADN muestre la materia textil, más suciedad se ha depositado.

Ejemplo 4c

ADN/DNasa/suciedad en lavados con ciclos múltiples

[0134] Este ejemplo muestra que el ADN que se lava de una muestra de tejido puede adherirse a los textiles limpios presentes durante el lavado y que la presencia de ADN en el textil hace que la suciedad (sustrato pigmentado) se adhiera mejor al textil incluso después del lavado con detergente. El ejemplo también muestra que el lavado con un detergente que contenía DNasa disminuyó significativamente la cantidad de ADN presente en las muestras de ADN y, por lo tanto, disminuyó la cantidad de suciedad adherida a las muestras de ADN. El experimento también demuestra que el lavado con detergente que contenía DNasa disminuyó significativamente la cantidad de ADN que se transfirió de las muestras de ADN a las muestras de marcador, disminuyendo así la cantidad de suciedad que se adhirió a las muestras del marcador (antirredeposición).

[0135] La preparación de las muestras de ADN y el ensayo de ADN/suciedad en lavado con múltiples ciclos se realizó como se ha descrito anteriormente. Se usó ácido desoxirribonucleico sódico de testículos de salmón D1626 de Sigma Aldrich como fuente de ADN. El poliéster prelavado WFK 30A de wfk Testgewebe GmbH, Alemania se usó como textil. Los lavados con DNasa se realizaron con 0,5 ppm de DNasa (DNasa de NucB de *B. licheniformis*) en la solución de detergente sucio. Todas las muestras se manejan en todo momento con guantes o con fórceps. La configuración experimental se realizó como se describe en la tabla 5 siguiente:

Vaso n.º	Muestras de ADN	Muestras de marcador	DNasa	Solución de detergente sucio
1	5 fragmentos con 1,0 mg/ml de ADN	5 fragmentos	-	+
2	5 fragmentos con 1,0 mg/ml de ADN	5 fragmentos	0,5 ppm	+
3	5 fragmentos con 0,5 mg/ml de ADN	5 fragmentos	-	+
4	5 fragmentos con 0,5 mg/ml de ADN	5 fragmentos	0,5 ppm	+
5	5 fragmentos sin ADN	5 fragmentos	-	+
6	5 fragmentos sin ADN	5 fragmentos	0,5 ppm	+

[0136] Se realizaron un total de 4 lavados para los 6 vasos de precipitados antes de medir todas las muestras en DigiEye (Sistema de imágenes DigiEye, Fuente de luz D65, iluminación difusa) donde se registraron los valores de triestímulos Y, llamados valores de Y. En la tabla siguiente se anotan los promedios para los valores Y de las muestras. Cuanto mayor sea el valor, más blanca será la muestra, como se ve en la tabla 6 siguiente:

Vaso n.1º	Tipo de muestra	Conc. de muestras de ADN en el vaso de precipitados (mg/ml) *	DNasa en el lavado	Valor medio de Y	Desviación estándar	Valor de Delta Y (**)	Prueba de T (***)
1	ADN	0,5	-	64,5	2,24	13,6	0,0002

2	ADN	0,5	0,5 ppm	78,1	0,23		
3	ADN	0,26	-	63,5	2,41	15,2	2,26E-05
4	ADN	0,26	0,5 ppm	78,6	1,12		
5	ADN	0	-	76,7	0,72	3,8	5,8E-05
6	ADN	0	0,5 ppm	80,5	0,82		
1	Marcador	0,5	-	73,6	1,81	5,2	0,002
2	Marcador	0,5	0,5 ppm	78,8	0,67		
3	Marcador	0,26	-	72,5	0,91	6,6	2,06E-06
4	Marcador	0,26	0,5 ppm	79,1	0,77		
5	Marcador	0	-	76,0	0,77	2,4	0,017
6	Marcador	0	0,5 ppm	78,4	1,44		
-	Sin lavar	-	-	89,2	0,28	-	-

(*) Excepto en el primer ciclo de lavado, donde la concentración de ADN de las muestras de ADN fue de 1,0 g/mL para los vasos de precipitados 1 y 2 y 0,5 para los vasos de precipitados 3 y 4.

(**) Los valores Y de Delta se calculan como "Promedio_{con DNasa} - Promedio_{sin DNasa}", cuanto más alto sea el valor delta Y, mejor será el efecto de blancura de la DNasa durante el lavado

(***) Los valores de la prueba T de <0,05 indican que los dos promedios son estadísticamente diferentes entre sí en al menos un nivel de significación del 5%

5 [0137] Después de 4 ciclos de lavado con detergente sucio, se observaron los siguientes resultados. Para las muestras de ADN se observó un efecto de blancura estadísticamente significativo de los 0,5 ppm de DNasa en el lavado. La adición de DNasa a la solución de detergente disminuyó la cantidad de ADN en las muestras y disminuyó la cantidad de suciedad que se unió a las muestras de ADN durante el lavado y, por lo tanto, aumentó la blancura de las muestras de ADN después del lavado en comparación con el lavado sin DNasa. Para todas las muestras de marcador en todos los vasos, hubo un efecto antirredeposición estadísticamente significativo del lavado con 0,5 ppm de DNasa. La adición de DNasa a la solución de detergente dio como resultado una disminución de la transferencia de ADN de las muestras de ADN a las muestras del marcador durante el lavado, disminuyó la cantidad de suciedad que se unió a las muestras del marcador durante el lavado y, por lo tanto, aumentó la blancura de los marcadores después del lavado en comparación con el lavado sin DNasa.

Ejemplo 5

15 Ejemplo 5a: Ensayo

Análisis sensorial de E-2-nonenal en textil

20 [0138] Una forma de detectar la presencia de mal olor en los textiles es utilizando E-2-Nonenal como marcador para el mal olor, ya que este compuesto contribuye al mal olor en la ropa.

25 [0139] Se agrega una solución de E-2-nonenal a muestras textiles de 5 cm x 5 cm y se coloca las muestras en tubos Falcon de 50 ml con un tapón de rosca. Se emplea una o más personas con un olfato normal y sensible al E-2-Nonenal en diferentes concentraciones de olores para evaluar la intensidad del olor de cada tubo al oler los tubos con un tiempo razonable entre uno y otro para evitar la fatiga nasal. Se usan nuevos juegos de tubos para cada persona que evalúe la intensidad del olor. La intensidad del olor se puede calificar en una escala del 1 al 8, donde 1 es sin olor y 8 es un olor muy fuerte.

30 Ejemplo 5b

Análisis sensorial de E-2-nonenal en una muestra de ADN lavada con y sin DNasa

35 [0140] Este ejemplo muestra que la adición de una DNasa en el lavado puede reducir el mal olor en la ropa al reducir la intensidad del olor de compuestos olorosos como el E-2-Nonenal.

40 [0141] Se colocaron muestras de 5 cm x 5 cm de tejido de algodón autoclavado (wfk10A) en placas de Petri separadas, y se aplicaron 500 µl de agua MilliQ a 2 muestras, se aplicaron 500 µl de una solución de 0,1 mg/ml de ADN de testículos de salmón disuelto en agua MilliQ a 2 muestras y se aplicaron 500 µl de una solución de 1,0 mg/ml de ADN de testículos de salmón disuelto en agua MilliQ a 2 muestras. Las 6 muestras se dejaron secar durante la noche a temperatura ambiente.

[0142] Se aplicaron 400 µl de E-2-Nonenal 10 mM disuelto en agua MilliQ a las 6 muestras secas, y se dejaron secar durante 1 hora bajo flujo máximo en una cabina de flujo laminar. Las muestras secas se colocaron en cada

uno de los seis tubos Falcon de 50 ml junto con cada 20 ml de líquido de lavado hecho de agua MilliQ y un detergente líquido (detergente modelo A del ejemplo 1) en una concentración de 3,33 g/L y 30 ppm de DNasa (NucB de *B. subtilis*) se agregó al vaso de precipitados (tubo) número 2, 4 y 6 y se mezcló completamente como se describe en la Tabla 7.

5

[0143] Los vasos de precipitados se cerraron con una tapa y se montaron en un Mini-Laundr-O-Meter (un rotador de tubos Stuart SB3); las muestras se lavaron luego a 30°C durante 60 minutos a 40 rpm.

10

[0144] Después del lavado, el líquido de lavado se desechó y las muestras se enjuagaron 2 veces con 15 ml de agua MilliQ y se dejaron en los vasos con la tapa cerrada. Una persona con los ojos vendados, con un sentido normal del olfato y sensible al E-2-Nonenal, evaluó la intensidad del olor de los vasos de precipitados que contenían el tejido húmedo en orden aleatorio. Los resultados se indican en la Tabla 7 siguiente:

Vaso de precipitados	mg/mL de muestra de ADN	E-2-nonenal (400 µL de 10 mM)	DNasa en el lavado	Intensidad del olor
1	0,0	+	-	4,5
2	0,0	+	30 ppm	6,5
3	0,1	+	-	7,5
4	0,1	+	30 ppm	5
5	1,0	+	-	7
6	1,0	+	30 ppm	3

* Intensidad del olor en una escala de 1 a 8, donde 1 es sin olor y 8 es un olor muy fuerte.

15

[0145] Los resultados de la Tabla 7 muestran que la adición de DNasa al lavado puede disminuir la intensidad del olor del E-2-Nonenal adherido a las muestras de ADN después del lavado, disminuyendo así el mal olor en la materia textil después del lavado.

20

LISTADO DE SECUENCIAS

[0146]

<110> Novozymes A/S

25

<120> Prevención de la adhesión de bacterias

<130> 12555-WO-PCT

<160> 2

30

<170> versión de PatentIn 3.5

<210> 1

<211> 136

35

<212> PRT

<213> *Bacillus subtilis*

<220>

40

<221> SEÑAL

<222> (1)..(26)

<220>

45

<221> mat_peptide

<222> (27)..(136)

<400> 1

50

ES 2 738 639 T3

	Met	Lys	Lys	Trp	Met	Ala	Gly	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Ala	Val	Leu	Leu
		-25					-20				-15					
5	Cys	Leu	Met	Val	Pro	Gln	Gln	Ile	Gln	Gly	Ala	Ser	Ser	Tyr	Asp	Lys
		-10				-5				-1	1				5	
10	Val	Leu	Tyr	Phe	Pro	Leu	Ser	Arg	Tyr	Pro	Glu	Thr	Gly	Ser	His	Ile
			10					15						20		
15	Arg	Asp	Ala	Ile	Ala	Glu	Gly	His	Pro	Asp	Ile	Cys	Thr	Ile	Asp	Arg
			25					30					35			
20	Asp	Gly	Ala	Asp	Lys	Arg	Arg	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Gly	Ile	Pro	Thr
		40					45					50				
25	Lys	Pro	Gly	Tyr	Asp	Arg	Asp	Glu	Trp	Pro	Met	Ala	Val	Cys	Glu	Glu
	55					60					65					70
30	Gly	Gly	Ala	Gly	Ala	Asp	Val	Arg	Tyr	Val	Thr	Pro	Ser	Asp	Asn	Arg
					75					80					85	
35	Gly	Ala	Gly	Ser	Trp	Val	Gly	Asn	Gln	Met	Ser	Ser	Tyr	Pro	Asp	Gly
			90					95						100		
40	Thr	Arg	Val	Leu	Phe	Ile	Val	Gln								
			105					110								
45	<210> 2															
	<211> 142															
	<212> PRT															
50	<213> <i>Bacillus licheniformis</i>															
55	<220>															
	<221> SEÑAL															
	<222> (1)..(33)															
60	<220>															
	<221> mat_peptide															
	<222> (34)..(142)															
65	<400> 2															
70	Met	Ile	Lys	Lys	Trp	Ala	Val	His	Leu	Leu	Phe	Ser	Ala	Leu	Val	Leu
				-30					-25					-20		
75	Leu	Gly	Leu	Ser	Gly	Gly	Ala	Ala	Tyr	Ser	Pro	Gln	His	Ala	Glu	Gly
			-15					-10					-5			
80	Ala	Ala	Arg	Tyr	Asp	Asp	Ile	Leu	Tyr	Phe	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr	Pro
	-1	1				5					10					15
85	Glu	Thr	Gly	Ala	His	Ile	Ser	Asp	Ala	Ile	Lys	Ala	Gly	His	Ser	Asp
					20					25					30	

ES 2 738 639 T3

Val Cys Thr Ile Glu Arg Ser Gly Ala Asp Lys Arg Arg Gln Glu Ser
35 40 45

5 Leu Lys Gly Ile Pro Thr Lys Pro Gly Phe Asp Arg Asp Glu Trp Pro
50 55 60

10 Met Ala Met Cys Glu Glu Gly Gly Lys Gly Ala Ser Val Arg Tyr Val
65 70 75

15 Ser Ser Ser Asp Asn Arg Gly Ala Gly Ser Trp Val Gly Asn Arg Leu
80 85 90 95

20 Ser Gly Phe Ala Asp Gly Thr Arg Ile Leu Phe Ile Val Gln
100 105

REIVINDICACIONES

1. Método de lavado para textiles que comprende:

- 5 a. exponer un textil a un líquido de lavado que comprende una DNasa;
 b. completar al menos un ciclo de lavado; y
 v. opcionalmente, enjuagar el textil.

10 2. Método según la reivindicación 1, en el que la temperatura del líquido de lavado está en el rango de 5°C a 95°C, o en el rango de 10°C a 80°C, o en el rango de 10°C a 70°C, o en el rango de 10 °C a 60 °C, o en el rango de 10°C a 50 °C, o en el rango de 15 °C a 40 °C, o en el rango de 20 °C a 30 °C.

15 3. Método según cualquiera de las reivindicaciones de método anteriores, en el que la blancura del tejido se mantiene o se mejora.

 4. Método según cualquiera de las reivindicaciones de método anteriores, en el que se reduce la redeposición de suciedad.