(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 744 829**

(51) Int. CI.:

C11D 3/386 (2006.01)
C11D 3/38 (2006.01)
C11D 3/33 (2006.01)
C11D 3/37 (2006.01)
C11D 3/20 (2006.01)
C11D 3/22 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.07.2009 PCT/EP2009/058789**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **25.02.2010 WO10020475**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.07.2009 E 09780407 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2019 EP 2313482**

(54) Título: **Procedimiento para la mejora del rendimiento de limpieza de un agente detergente o de limpieza**

(30) Prioridad:

20.08.2008 DE 102008038479

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.02.2020

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

O'CONNELL, TIMOTHY;
SIEGERT, PETRA;
EVERS, STEFAN;
BONGAERTS, JOHANNES;
WEBER, THOMAS;
MAURER, KARL-HEINZ y
BESSLER, CORNELIUS

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

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

Procedimiento para la mejora del rendimiento de limpieza de un agente detergente o de limpieza

La presente solicitud se dirige a procedimientos para la mejora del rendimiento de limpieza de un agente detergente o de limpieza que contiene una proteasa.

El empleo de enzimas en agentes detergentes y de limpieza está establecido en el estado de la técnica. Sirven para ampliar el espectro de rendimiento del agente referido correspondientemente a sus actividades especiales. Pertenecen a ellas particularmente enzimas hidrolíticas como proteasas, amilasas, lipasas y celulasas. Las tres primeras citadas hidrolizan proteínas, almidones y grasas y contribuyen por lo tanto directamente a la eliminación de suciedad. Las celulasas se utilizan particularmente a causa de su acción en los tejidos. Son otro grupo de enzimas de agentes detergentes y de limpieza las enzimas oxidativas, particularmente oxidasas, que sirven preferiblemente, dado el caso en interacción con otros componentes, para blanquear la suciedad o producir agentes blanqueantes in situ. Además de estas enzimas, que se someten a una optimización continua, se proporcionan constantemente otras enzimas para empleo en agentes detergentes y de limpieza para poder abordar particularmente suciedades especiales óptimamente, como por ejemplo pectinasas, ß-glucanasas, mananasas u otras hemicelulasa para la hidrólisis particularmente de polímeros vegetales especiales.

Las enzimas contenidas en agentes detergentes y de limpieza establecidas hace más tiempo, y en la práctica todas las modernas y eficaces, son proteasas, y entre ellas particularmente serinproteasas, en las que figuran también las subtilasas. Provocan la degradación de suciedades que contienen proteínas del producto para limpiar. Entre ellas, son especialmente importantes a su vez las proteasas de tipo subtilisina (subtilasas, subtilopeptidasas, EC 3.4.21.62), que a causa de los aminoácidos de acción catalítica se incluyen en las serinproteasas. Actúan como endopeptidasas inespecíficas, es decir, hidrolizan cualquier enlace amida de ácido que se encuentre en el interior de péptidos o proteínas. Su pH óptimo se encuentra generalmente en el intervalo claramente alcalino. Ofrece una revisión de esta familia, por ejemplo, el artículo "Subtilases: Subtilisin-like Proteases" de R. Siezen, páginas 75-95 en "Subtilisin enzymes", publicado por R. Bott y C. Betzel, Nueva York, 1996. Las subtilasas se forman naturalmente a partir de microorganismos; entre ellas han de mencionarse particularmente las subtilisinas formadas y secretadas por especies de Bacillus como el grupo principal dentro de las subtilasas.

Son ejemplos de proteasas de tipo subtilisina utilizadas preferiblemente para agentes detergentes y de limpieza las subtilisinas BPN' y Carlsberg, la proteasa PB92, las subtilisinas 147 y 309, la proteasa alcalina de Bacillus lentus, particularmente de Bacillus lentus DSM 5483, la subtilisina DY y las enzimas asignadas como subtilasas, pero no ya subtilisinas en sentido estricto, termitasa, proteinasa K y las proteasas TW3 y TW7. Son otras proteasas utilizables por ejemplo las enzimas disponibles con los nombres comerciales Durazym®, Relase®, Everlase®, Nafizym, Natalase®, Kannase® y Ovozyme® en la compañía Novozymes, con los nombres comerciales Purafect®, Purafect® OxP, Purafect® Prime y Properase® en la compañía Genencor, con el nombre comercial Protosol® en la compañía Advanced Biochemicals Ltd., Thane, India, con el nombre comercial Wuxi® en la compañía Wuxi Snyder Bioproducts Ltd., China, con los nombres comerciales Proleather® y Protease P® en la compañía Amano Pharmaceuticals Ltd., Nagoya, Japón y con la referencia proteinasa K-16 en la compañía Kao Corp., Tokio, Japón

En el mejor de los casos, se producen efectos sinérgicos entre las enzimas y el resto de constituyentes del agente detergente o de limpieza respectivo.

Es una desventaja de estas proteasas utilizadas preferiblemente en agentes detergentes y de limpieza del estado de la técnica que no presentan suficiente actividad proteolítica, particularmente a bajas temperaturas, por ejemplo, entre 10 y 40 ºC, particularmente entre 10 y 30 ºC o incluso entre 10 y 25 ºC, y por lo tanto particularmente en agentes detergentes y detergentes para lavavajillas no muestran un rendimiento de limpieza óptimo en este intervalo de temperatura.

Son conocidos por los documentos DE 1942236 A1 y DE 1964792 A1 agentes detergentes con una proteasa y un aminoácido simple, por el documento DE 2060485 A1 un agente detergente para lavavajillas con tripsina o quimotripsina y determinados aminoácidos y por el documento WO 98/17770 A1 un agente detergente con polímeros y proteasas. El documento WO 96/22352 A1 se ocupa de la mejora de la estabilidad al almacenamiento de compuestos de poliaminoácidos en agentes detergentes, presentando el poliaminoácido y una proteína (albúmina de clara de huevo), p. ej., en un aglomerado o similar, en el que el agente detergente puede contener también una proteasa.

Se ha ha comprobado sorprendentemente que la adición de determinadas sustancias mejora notablemente el rendimiento de limpieza de agentes detergentes y de limpieza que contienen proteasas, particularmente a temperaturas comparativamente bajas, particularmente entre 10 y 50 ºC, entre 10 y 40 ºC y preferiblemente entre 10 y 30 ºC o 10 y 25 ºC.

La presente invención se basa por lo tanto en el objetivo de mejorar el rendimiento de limpieza (potencia de lavado) de agentes detergentes o de limpieza, particularmente respecto a suciedades que son sensibles a la degradación por proteasas. Otro objetivo de la invención es mejorar el rendimiento de limpieza de proteasas en agentes detergentes o

de limpieza o el licor de lavado formado por el agente detergente o de limpieza, particularmente respecto a suciedades que son sensibles a la degradación por proteasas y particularmente en un intervalo de temperatura entre 10 y 50 ºC, entre 10 y 40 ºC y preferiblemente entre 10 y 30 ºC o 10 y 25 ºC.

Es por lo tanto objeto de la invención un procedimiento para la mejora del rendimiento de limpieza de un agente detergente o de limpieza que comprende una proteasa, caracterizado porque se añade al agente detergente o de limpieza un componente que provoca, en colaboración con la proteasa en la aplicación del agente, un rendimiento de limpieza sinérgico y que es un poliaminoácido, en el que el componente se presenta en el agente de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso, y en el que el agente detergente o de limpieza contiene la proteasa en una cantidad de 2 µg a 20 mg, preferiblemente de 5 µg a 17,5 mg, con especial preferencia de 20 µg a 15 mg y con muy especial preferencia de 50 µg a 10 mg por g del agente.

Según la invención, se ha comprobado que el rendimiento de limpieza de agentes detergentes o de limpieza, particularmente con respecto a su rendimiento de limpieza proteolítico, mejora significativamente cuando en estos agentes se combina al menos una proteasa (designada aquí también como componente (a) o enzima hidrolítica a)) con un poliaminoácido (designado aquí también como componente (b)). Se entiende por rendimiento de limpieza en el marco de la invención el rendimiento de blanqueamiento de una o varias suciedades, particularmente suciedades para lavado, que son sensibles a la degradación por proteasas. Son ejemplos de tales suciedades sangre-leche/tinta sobre algodón, huevo entero/pigmento sobre algodón, chocolate-leche/tinta sobre algodón, aceite de cacahuete-pigmento/tinta sobre poliéster/algodón, hierba sobre algodón o cacao sobre algodón, particularmente aquellas que se indican a continuación. En el marco de la invención, tanto el agente detergente o de limpieza que comprende proteasa, o bien el licor de lavado o limpieza formado por este agente, como la proteasa misma presentan un rendimiento de limpieza respectivo. El rendimiento de limpieza de la proteasa contribuye por lo tanto al rendimiento de limpieza del agente o del licor de lavado o limpieza formado por el agente.

El rendimiento de limpieza de agentes detergentes y de limpieza referido a la actividad proteolítica utilizada mejora mediante la adición del componente (b). Con respecto a la colaboración de estos componentes (a) y (b), se produce un efecto sinérgico, es decir, un mejor rendimiento en comparación con los rendimientos individuales de los componentes respectivos en sistemas monocomponente (es decir, agentes detergentes o de limpieza que contienen solo respectivamente la enzima proteolítica o bien el componente (b)) y también frente a la suma de los rendimientos individuales de los componentes (a) y (b), es decir, la suma de dos sistemas monocomponente con el componente (a) y (b) solos respectivamente. Por lo tanto, la combinación seleccionada de (a) proteasa con un componente según la invención (b) representa una posibilidad adicional de mejorar la capacidad de rendimiento de agentes detergentes o de limpieza respecto a su rendimiento de limpieza, particularmente respecto a su rendimiento de limpieza provocado por una proteasa contenida.

La ventaja de la combinación de componentes (a) y (b) se presenta en la aplicación del agente, es decir, en el licor de lavado o limpieza. Se entiende por licor de lavado o limpieza aquella solución de utilización que contiene agentes detergentes o de limpieza que actúa sobre productos textiles o tejidos (licor de lavado) o bien superficies duras (licor de limpieza) y por lo tanto entra en contacto con las suciedades presentes en productos textiles o bien tejidos o superficies duras. Habitualmente, se genera licor de lavado o limpieza cuando empieza el procedimiento de lavado o limpieza y se disuelve o diluye con agua el agente detergente o de limpieza, por ejemplo, en una lavadora o en otro recipiente adecuado.

Otras enzimas hidrolíticas preferidas utilizables adicionalmente a proteasas comprenden amilasas, particularmente α-amilasas, celulasas, lipasas hemicelulasas, particularmente pectinasas, mananasas, ß-glucanasas así como sus mezclas. Estas enzimas son en principio de origen natural; a partir de las moléculas naturales, se ponen a disposición para uso en agentes detergentes o de limpieza variantes mejoradas que se utilizan preferiblemente de forma correspondiente.

Entre las proteasas, se prefieren aquellas de tipo subtilisina. Son ejemplos de ellas las subtilisinas BPN' y Carlsberg, la proteasa PB92, las subtilisinas 147 y 309, la proteasa alcalina de Bacillus lentus, la subtilisina DY y las enzimas asignadas como subtilasas, pero no ya subtilisinas en sentido estricto, termitasa, proteinasa K y las proteasas TW3 y TW7. La subtilisina Carlsberg está disponible en forma desarrollada con el nombre comercial Alcalase® en la compañía Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca. Las subtilisinas 147 y 309 se comercializan con los nombres comerciales Esperase®, o bien Savinase® de la compañía Novozymes De la proteasa de Bacillus lentus DSM 5483 derivan las variantes de proteasa indicadas con la referencia BLAP®. Son otras proteasas útiles por ejemplo las enzimas disponibles con los nombres comerciales Durazym®, Relase®, Everlase®, Nafizym®, Natalase®, Kannase® y Ovozyme® en la compañía Novozymes, con los nombres comerciales Purafect®, Purafect® OxP, Purafect® Prime, Excellase® y Properase® en la compañía Genencor, con el nombre comercial Protosol® en la compañía Advanced Biochemicals Ltd., Thane, India, con el nombre comercial Wuxi® en la compañía Wuxi Snyder Bioproducts Ltd., China, con los nombres comerciales Proleather® y Protease P® en la compañía Amano Pharmaceuticals Ltd., Nagoya, Japón y con la referencia proteinasa K-16 en la compañía Kao Corp., Tokio, Japón Con especial preferencia, se utilizan también proteasas de Bacillus gibsonii y Bacillus pumilus, que se divulgan en las solicitudes de patente internacional WO2008/086916 y WO2007/131656.

Son ejemplos de amilasas utilizables las α-amilasas de Bacillus licheniformis, de B. amyloliquefaciens o de B. stearothermophilus, así como sus desarrollos mejorados para empleo en agentes detergentes o de limpieza. La enzima de B. licheniformis está disponible en la compañía Novozymes con el nombre Termamyl® y en la compañía Genencor con el nombre Purastar® ST. Están disponibles productos de desarrollo de estas α-amilasas en la compañía Novozymes con los nombres comerciales Duramyl® y Termamyl® ultra, en la compañía Genencor con el nombre Purastar® OxAm y en la compañía Daiwa Seiko Inc., Tokio, Japón como Keistase® La α-amilasa de B. amyloliquefaciens se comercializa por la compañía Novozymes con el nombre BAN®, y variantes derivadas de α-amilasa de B. stearothermophilus con los nombres BSG® y Novamyl®, igualmente por la compañía Novozymes. Además, han de destacarse con este fin la α-amilasa de Bacillus sp. A 7-7 (DSM 12368) y la ciclodextrina glucanotransferasa (CGTasa) de B. agaradherens (DSM 9948). Además, son utilizables enzimas amilolíticas que pertenecen al ámbito de secuencia de las α-amilasas, que se define en la solicitud de patente internacional WO 03/002711 A2, y las que se describen en la solicitud WO 03/054177 A2. Son igualmente utilizables productos de fusión de las moléculas citadas. Además, están disponibles desarrollos de α-amilasa de Aspergillus niger y A. oryzae con el nombre comercial Fungamyl® en la compañía Novozymes Son otros productos comerciales utilizables, por ejemplo, Amylase-LT® y Stainzyme® o Stainzyme ultra® o Stainzyme plus®, estas últimas igualmente de la compañía Novozymes. Pueden utilizarse también según la invención variantes disponibles por mutaciones puntuales de estas enzimas.

Son ejemplos de lipasas o cutinasas utilizables que están contenidas particularmente a causa de sus actividades de escisión de triglicéridos, pero también para producir precursores de perácidos in situ, las lipasas originalmente disponibles en Humicola lanuginosa (Thermomyces lanuginosus), o bien desarrolladas, particularmente aquellas con el intercambio de aminoácidos D96L. Se comercializan por ejemplo por la compañía Novozymes con los nombres comerciales Lipolase®, Lipolase® Ultra, LipoPrime®, Lipozyme® y Lipex®. Además, son utilizables por ejemplo cutinasas que se aislaron originalmente de Fusarium solani pisi y Humicola insolens. Están disponibles igualmente lipasas útiles en la compañía Amano con las referencias Lipase CE®, Lipase P®, Lipase B®, o bien Lipase CES®, Lipase AKG®, Bacillis sp. Lipase®, Lipase AP®, Lipase M-AP® y Lipase AML®. Son utilizables por ejemplo las lipasas o bien cutinasas de la compañía Genencor, cuyas enzimas de partida se aislaron originalmente de Pseudomonas mendocina y Fusarium solanii. Como otros productos comerciales importantes, han de mencionarse las preparaciones comercializadas originalmente por la compañía Gist Brocades M1 Lipase® y Lipomax® y las enzimas comercializadas por la compañía Meito Sangyo KK, Japón con los nombres Lipase MY-30®, Lipase OF® y Lipase PL®, además del producto Lumafast® de la compañía Genencor.

Las celulasas pueden estar presentes, según la finalidad, como enzimas puras, como preparaciones enzimáticas o en forma de mezclas en que los componentes individuales se complementan ventajosamente respecto a sus distintos aspectos de rendimiento. Figuran entre estos aspectos de rendimiento particularmente las contribuciones de la celulasa al rendimiento de lavado primario del agente (rendimiento de limpieza), al rendimiento de lavado secundario del agente (acción antirredeposición o inhibición del agrisamiento), al ensimaje (acción en tejido) o para la ejecución de un efecto "de lavado a la piedra". Se ofrece una preparación de celulasa rica en endoglucanasa (EG) fúngica útil, o bien sus desarrollos, por la compañía Novozymes con el nombre comercial Celluzyme®. Los productos disponibles igualmente en la compañía Novozymes Endolase® y Carezyme® se basan en la EG de 50 kDa, o bien en la EG de 43 kDa de H. insolens DSM 1800. Son otros productos comerciales utilizables de esta compañía Cellusoft®, Renozyme® y Celluclean®. Son además utilizables por ejemplo la EG de 30 kDa de Melanocorpus, que está disponible en la compañía AB Enzymes, Finlandia, con los nombres comerciales Ecostone® y Biotouch®. Son otros productos comerciales de la compañía AB Enzymes Econase® y Ecopulp®. Son otras celulasas adecuadas las de Bacillus sp. CBS 670.93 y CBS 669.93, en las que está disponible la de Bacillus sp. CBS 670.93 en la compañía Genencor con el nombre comercial Puradax®. Son otros productos comerciales de la compañía Genencor "Genencor detergent cellulase L" e IndiAge® Neutra.

Además, pueden utilizarse particularmente para la eliminación de determinadas suciedades problemáticas otras enzimas que se agrupan bajo el término hemicelulasas. Pertenecen a ellas por ejemplo mananasas, xantano liasas, pectina liasas (= pectinasas), pectina esterasas, pectato liasas, xiloglucanasas (=xilanasas), pululanasas y ß-glucanasas. A este respecto, están disponibles enzimas adecuadas por ejemplo con los nombres Gamanase® y Pektinex AR® en la compañía Novozymes, con el nombre Rohapec® B1L en la compañía AB Enzymes y con el nombre Pyrolase® en la compañía Diversa Corp., San Diego, CA, EE. UU. La ß-glucanasa obtenida a partir de Bacillus subtilis está disponible con el nombre Cereflo® en la compañía Novozymes. Son hemicelulasas especialmente preferidas según la invención las mananasas, que se comercializan por ejemplo con el nombre comercial Mannaway(R) por la empresa Novozymes o Purabrite® de la empresa Genencor.

Además, las enzimas en el marco de la invención pueden envasarse junto con impurezas, por ejemplo, de la fermentación o con estabilizadores.

Entre todas estas enzimas, son especialmente preferidas aquellas que son comparativamente estables frente a la oxidación o por ejemplo que se estabilizan por mutagénesis puntual. Han de citarse entre ellas particularmente los productos comerciales ya mencionados Everlase y Purafect® OxP como ejemplos de tales proteasas y Duramyl como ejemplo de una tal α-amilasa.

En un procedimiento según la invención, los agentes utilizados contienen enzimas preferiblemente en cantidades totales de 1 x 10^{-8} a 5 % en peso referido a la proteína activa. Se prefieren enzimas contenidas de 0,001 a 5 % en peso, más preferiblemente de 0,01 a 5 % en peso, aún más preferiblemente de 0,05 a 4 % en peso y con especial preferencia de 0,075 a 3,5 % en peso en estos agentes, en las que cada enzima contenida puede presentarse en las cantidades citadas.

La concentración de proteína puede determinarse con ayuda de procedimientos conocidos, por ejemplo, el procedimiento de BCA (ácido bicinconínico; ácido 2,2'-biquinolil-4,4'-dicarboxílico) o el procedimiento de Biuret (A. G. Gornalll, C. S. Bardawill y M.M. David, J. Biol. Chem., 177 (1948), pág. 751-766).

La proteasa utilizada como componente (a) y la al menos una enzima hidrolítica opcional que está presente en un agente detergente o de limpieza que se utiliza en el procedimiento según la invención, fomentan el rendimiento de limpieza del agente respecto a determinadas suciedades o manchas. Con especial preferencia, un agente utilizado en un procedimiento según la invención contiene varias enzimas, en el que las enzimas pueden pertenecer a las mismas o diferentes clases de enzimas. Con especial preferencia, las enzimas muestran efectos sinérgicos respecto a su acción frente a suciedades o manchas determinadas, es decir, las enzimas contenidas en la composición del agente fomentan recíprocamente su rendimiento de limpieza.

Los efectos sinérgicos pueden presentarse no solo entre distintas enzimas, sino aparecer particularmente también entre una o varias enzimas y otros ingredientes del agente que se utiliza en el procedimiento según la invención. Según la invención, se combina para ello una proteasa (a) con un componente (b), es decir, al menos una sustancia que, en colaboración con la proteasa (a) en la aplicación del agente, causa un rendimiento de limpieza sinérgico, y que se selecciona de un (i) poliaminoácido.

El agente puede contener además del poliaminoácido (i) un biotensioactivo (ii) y/o un metabolito microbiano (iii).

En las sustancias indicadas en (i), se trata de poliaminoácidos, sus sales o sus derivados, en las que pueden utilizarse ambos estereoisómeros de los aminoácidos, así pues, tanto D-aminoácidos como L-aminoácidos, también en combinación o bien los correspondientes polímeros o derivados. Un poliaminoácido comprende a estos respecto al menos dos restos de aminoácidos. Con especial preferencia, se trata de poliglutamato.

Se prefiere utilizar poliaminoácidos cargados y entre ellos se prefieren adicionalmente poliaminoácidos cargados negativamente. Con especial preferencia, se utilizan poli(ácido glutámico), entre ellos poli(ácido γ-D-glutámico), poli(ácido L-glutámico) y poli(ácido DL-glutámico), poli(ácido aspártico), entre ellos poli(ácido ß-D-aspártico) y poli(ácido L-aspártico), poliglutamina, entre ellos poli-γ-D-glutamina, poli-L-glutamina y poli-DL-glutamina, así como poliasparagina, entre ellos poli-ß-D-asparagina y poli-L-asparagina. Es un ejemplo de un poli(ácido aspártico) especialmente preferido el compuesto disponible con el nombre comercial Baypure DS 100 fest G (empresa Lanxess).

Se entienden por derivados en el sentido de la presente solicitud aquellas sustancias cuyos aminoácidos o cadenas de aminoácidos puros se modifican. Tales derivatizaciones pueden realizarse por ejemplo ya biológicamente en conexión con la biosíntesis por las células hospedadoras o realizarse también mediante procedimientos de biología molecular. Pero pueden llevarse a cabo también químicamente, por ejemplo, mediante la conversión química de una cadena lateral de un aminoácido o mediante la unión covalente de otro compuesto al aminoácido o bien a la cadena de aminoácidos. En tal compuesto, puede tratarse por ejemplo de compuestos de bajo peso molecular como lípidos o monosacáridos, oligosacáridos o polisacáridos o aminas o compuestos de amina. Además, los aminoácidos o cadenas de aminoácidos pueden presentar otras modificaciones químicas, particularmente estar glicosilados, hidroxilados, oxidados, N-metilados, N-formilados, N-acetilados o contener metilo, formilo, etilo, acetilo, terc-butilo, anisilo, bencilo, trifluoroacetilo, N-hidroxisuccinimida, terc-butiloxicarbonilo, benzoílo, 4-metilbencilo, tioanizilo, tiocresilo, benciloximetilo, 4-nitrofenilo, benciloxicarbonilo, 2-nitrobenzoílo, 2-nitrofenilsulfenilo, 4-toluenosulfonilo, pentafluorofenilo, difenilmetilo, 2-clorobenciloxicarbonilo, 2,4,5-triclorofenilo, 2-bromobenciloxicarbonilo, 9-fluorenil-metiloxicarbonilo, trifenilmetilo o 2,2,5,7,8-pentametilcromano-6-sulfonilo. Ha de entenderse igualmente como derivatización la unión covalente o no covalente a un portador macromolecular, al igual que la inclusión no covalente en estructuras de jaula macromoleculares adecuadas. Pueden efectuarse también acoplamientos con otros compuestos macromoleculares, como por ejemplo polietilenglicol. Las cadenas de aminoácidos pueden presentar otras modificaciones químicas, en las que los grupos aminoácido: -COOH, -OH, =NH, -NH_2-SH portan preferiblemente las siguientes modificaciones: -COOR, -OR, -NHR, -NR^2, -NHR, -NR, - SR; en las que:

R es -CH=CH-R^2, -C≡C-R^2. -C(R^2)=CH_2, -C(R^2)=C(R^3), -CH=NR^2, -C(R^2)=N-R3, un sistema de anillo de C 4-7 con o sin sustitución, heterociclo de nitrógeno 4-7 con o sin sustitución o una cadena de 2 a 8 carbonos con 1 a 5 dobles o triples enlaces con sustituyentes seleccionados de R^1, R^2 o R^3;
R^1 es H, -R, -NO_2, -CN, -halógeno, -N_3, -alquilo C_{1-8}, -$(CH_2)_nCO_2R^2$, -alquenil C_{2-8}-CO_2R^2, -$O(CH_2)_nCO_2R^2$, -$C(O)NR^2R^3$, -$P(O)(OR^2)_2$, tetrazol-5-ilo sustituido con alquilo, -$(CH_2)_nO(CH_2)_n$-arilo, -NR^2R^3, -$(CH_2)_nOR^2$, -$(CH_2)_nSR^2$, -$N(R^2)C(O)R^3$, -$S(O_2)NR^2R^3$, -$N(R^2)S(O^2)R^3$, -$(CHR^2)_nNR^2R^3$, -$C(O)R^3$, $(CH_2)_nN(R^3)C(O)R^3$, -$N(R^2)CR^2R^3$, $(CH_2)_n$-cicloalquilo sustituido o no sustituido, $(CH_2)_n$-fenilo o -ciclo sustituido o no sustituido;
R^2 es H, -halógeno, -alquilo, -halogenoalquilo, -$(CH_2)_n$-fenilo, -$(CH_2)_{1-3}$-bifenilo, -$(CH_2)_{1-4}$-Ph-N(SO_2-alquilo $C_{1-2})_2$, -$CO(CHR^1)_n$-OR^1, -$(CHR^1)_n$-heterociclo, -$(CHR^1)_n$-NH-CO-R^1, -$(CHR^1)_n$-NH-SO_2R^1, -$(CHR^1)_n$-Ph-N(SO_2-alquilo C_{1-}

$_2)_2$, -$(CHR^1)_n$-C(O)(CHR^1)-NHR^1, -$(CHR^1)_n$-C(S)(CHR^1)-NHR^1, -$(CH_2)_nO(CH_2)_nCH_3$, -CF_3, -acilo C_{2-5}, -$(CHR^1)_nOH$, -$(CHR^1)_nCO_2R^1$, -$(CHR^1)_n$-O-alquilo, -$(CHR^1)_n$-O-$(CH_2)_n$-O-alquilo, -$(CHR^1)_n$-S-alquilo, -$(CHR^1)_n$-S(O)-alquilo, -$(CHR^1)_n$-$S(O_2)$-alquilo, -$(CHR^1)_n$-$S(O_2)$-NHR^3, -$(CHR^3)_n$-N_3, -$(CHR^3)_nNHR^4$, cadena alqueno de 2 a 8 átomos de carbono con 1 a 5 dobles enlaces, cadena alquino de 2 a 8 carbonos con 1 a 5 triples enlaces, -$(CHR^3)_n$-heterociclo sustituido o no sustituido o -$(CHR^3)_n$-cicloalquilo saturado o no saturado, sustituido o no sustituido;
en las que n es mayor de 1 y R^1 y R^3 pueden ser iguales o distintos;
R^3 es H, -OH, -CN, alquilo sustituido, -alquenilo C_{2-8}, cicloalquilo sustituido o no sustituido, -$N(R^1)R^2$, o heterociclo saturado o no saturado de 5-6 átomos de carbono. -NR^2R^3 puede estar compuesto por un heterociclo saturado o no saturado o un heterobiciclo de 4 a 7 átomos;
n es 0-4;
R^4 y R^5 están compuestos respectivamente por: H, -$(CH_2)_n$OH, -C(O)OR^6, -C(O)SR^6, -$(CH_2)_n$ C(O)NR^7R^8, -O-C(O)-O-R^7, un aminoácido o un péptido;
R^6 es H,
R^7 es -$C(R^7)(R^8)$-$(CH_2)_n$-O-C(O)-R^9, -$(CH_2)_n$-$C(R^7)(R^8)$-O-C(O)R^9, -$(CH_2)_n$-$C(R^7)(R^8)$-O-C(O)-O-R^9 o -$C(R^7)(R^8)$-$(CH_2)_n$-O-C(O)-O-R^9; y
R^7, R^8 y R^9 están compuestos respectivamente por H, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, alquilarilo, alquilarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido o CH_2CO_2-alquilo.

En las sustancias indicadas en (ii), se trata de biotensioactivos. Entre ellos, se entienden en el marco de la invención sustancias que se forman por microorganismos y a menudo también se aíslan. Son tensioactivos clásicos las sustancias tensioactivas biotensioactivos, que reducen la tensión superficial de líquidos y promueven así el mezclado de fases acuosas (hidrófilas) e impermeables (hidrófobas). Los biotensioactivos preferidos según la invención pertenecen sobre todo al grupo de sustancias de los lípidos o bien derivados lipídicos, particularmente lipopéptidos. Son por tanto sustancias peptídicas bioactivas que se forman por microorganismos. En general, se sintetizan no ribosómicamente por los microorganismos respectivos, por ejemplo, bacterias grampositivas, particularmente de los géneros Bacillus y Streptomyces, bacterias gramnegativas, particularmente de los géneros Pseudomonas y Mixobacterium, así como hongos filamentosos. Las cadenas peptídicas están compuestas preferiblemente por 2 a 40 aminoácidos y pueden ser lineales, cíclicas o ramificadas. En contraposición a las cadenas peptídicas sintetizadas por ribosomas, presentan como elementos monoméricos no solo L-aminoácidos proteinogénicos, sino también D-aminoácidos así como ácidos alfa-hidroxicarboxílicos y/o ácidos carboxílicos de todo tipo. En los aminoácidos, se trata de L-α- o D-α-aminoácidos, pero pueden estar presentes también ß-, γ- o δ-aminoácidos, tanto en configuración D como L. Las cadenas peptídicas pueden presentar también otras modificaciones químicas, particularmente pueden estar glicosiladas, hidrolizadas, N-metiladas o N-formiladas. Son además elementos estructurales de aparición frecuente anillos de tiazolina y/u oxazolina en distintos grados de oxidación. Son biotensioactivos especialmente preferidos según la invención lipopéptidos aniónicos y más preferidos sustancias similares a surfactina o similares a liquensina o bien surfactina o liquensina mismas. Se entienden por sustancias similares a surfactina o similares a liquensina aquellas que presentan una estructura química parecida a la surfactina o bien liquensina y/o que presentan una acción comparable a la surfactina o bien liquensina. La surfactina puede describirse particularmente mediante la siguiente fórmula: Ácido graso-ciclo-[Glu-Leu-Leu-Val-Asp-Leu-Leu]. La estructura de la surfactina se indica además en la figura 1. La liquensina puede describirse particularmente mediante la siguiente fórmula: Ácido graso-ciclo-[Gln-Leu-Leu-Val-Asp-Leu-Ile]. La liquenicina se designa a menudo también como liquensina, se señala expresamente en este lugar que según la invención la referencia liquensina comprende ambas referencias.

Se indican otros biotensioactivos así como los microorganismos que fabrican estos en la siguiente tabla 1.

Tabla 1:

Tipo de biotensioactivo	Microorganismo
Lípido de trehalosa	Arthrobacter paraffineus
	Corynebacterium sp.
	Mycobacterium sp.
	Rhodococcus erythropolis, Norcardia sp
Ramnolípidos	Pseudomonas aeruginosa
	Pseudomonas sp., Serratia rubidea
Soforolípidos	Candida apicola, Candida bombicola
	Candida lipolytica

(continuación)

Tipo de biotensioactivo	Microorganismo
	Candida bogoriensis
Glicolípidos	Alcanivorax borkumensis
	Arthrobacter sp., Corynebacterium sp.
	R. erythropolis, Serratia marcescens
	Tsukamurella sp.
Lípidos de celobiosa	Ustilago maydis
Lípidos de poliol	Rhodotorula glutinus
	Rhodotorula graminus
Diglicéridos de diglicosilo	Lactobacillus fermentii
Lipopolisacáridos	Acinetocbacter calcoacetius (RAG1)
	Pseudomonas sp., Candida lipolytica
Artrofactina	Arthrobacter sp.
Liquensina A, liquensina B	Bacillus licheniformis
Surfactina	Bacillus subtilis, Bacillus pumilus
Viscosina	Pseudomonas fluorescens
Péptido de ornitina, lisina	Thiobacillus thiooxidans
	Streptomyces sioyaensis
	Gluconobacter cerinus
Fosfolípidos	Acinetobacter sp.
Sulfonilípidos	T. thioosidans
	Corynebacterium alkanolyticum
Ácidos grasos	Capnocytophaga sp.
("ácidos corinomicólicos, ácidos espiculispóricos", etc.)	Penicillium spiculisporum
	Corynebacterium lepus
	Arthrobacter paraffineus
	Talaramyces trachyspermus
	Norcadia erythropolis
Alasán	Acinetrobacter radioesistens
Estreptofactina	Streptomyces tendae
"Tensioactivo particulado" (PM)	Pseudomonas marginalis
Biosur PM	Pseudomonas maltophila

En las sustancias indicadas en (iii), se trata de metabolitos microbianos. Entre ellas, se entienden sustancias que se generan como etapas intermedias o como productos de degradación de procedimientos metabólicos del microorganismo o como productos de degradación del medio nutriente por los microorganismos. Los metabolitos microbianos preferidos según la invención están presentes en el medio de cultivo de un cultivo del microorganismo que los forma. Con especial preferencia, se secretan por lo tanto por el microorganismo que los forma. Son ejemplos de metabolitos microbianos especialmente preferidos según la invención los dioles, particularmente 2,3-butanodiol, ácidos, particularmente acetato, lactato, piruvato, 2-metilpropionato, 3-metilbutirato, αcetoglutarato, propionato, butirato, azúcar, particularmente levano, así como el otro metabolito microbiano especialmente preferido acetoína.

Además, los metabolitos microbianos pueden ser también propanodiol, glicol, glicerina, citrato, formiato, etanol, metanol o butanol.

Preferiblemente, el componente (b) se añade al agente detergente o de limpieza como sustancia individual separada, es decir, no como un constituyente de otro ingrediente del agente detergente o de limpieza. Preferiblemente, el componente (b) se presenta por lo tanto libre en el agente detergente o de limpieza, es decir, está distribuido en este y lo más preferiblemente distribuido homogéneamente. En caso de agentes detergentes o de limpieza líquidos o en forma de gel, el componente (b) está preferiblemente disuelto o dispersado en los mismos. Con especial preferencia, el agente detergente o de limpieza contiene el componente (b) no como constituyente de la forma de administración de la enzima hidrolítica (a), particularmente no como constituyente de un granulado enzimático.

Según la invención, se prefieren agentes detergentes o de limpieza líquidos o en forma de gel, es decir no sólidos.

Se determina en un sistema de lavado un rendimiento de limpieza sinérgico del componente (b), que provoca un rendimiento de limpieza sinérgico en colaboración con la enzima hidrolítica (a) en la aplicación del agente, que contiene un agente detergente a una dosificación entre 4,5 y 7,0 gramos por litro de licor de lavado así como la enzima hidrolítica (a) y el componente (b) respectivamente separados o en combinación, en el que la enzima se utiliza respectivamente a igual actividad, el componente (b) se utiliza a una concentración de 0,00025 a 0,6 % en peso, particularmente de 0,0003 a 0,5 % en peso (concentración de empleo en el licor de lavado) y se determina el rendimiento de lavado frente a una o varias suciedades de sangre-leche/tinta sobre algodón, huevo entero/pigmento sobre algodón, chocolate-leche/tinta sobre algodón, aceite de cacahuete-pigmento/tinta sobre poliéster/algodón, hierba sobre algodón y cacao sobre algodón, particularmente frente a una o varias de las suciedades

- sangre-leche/tinta sobre algodón: Producto n.º C5 de CFT B.V. Vlaardingen, Holanda
- huevo entero/pigmento sobre algodón: Producto n.º 10N disponible en la compañía wfk Testgewebe GmbH; Brüggen-Bracht, Alemania, cortado en trozos pequeños
- chocolate-leche/tinta sobre algodón: Producto n.º C3 de CFT B.V. Vlaardingen, Holanda
- aceite de cacahuete-pigmento/tinta sobre poliéster/algodón: Producto n.º PC10 de CFT B.V. Vlaardingen, Holanda
- hierba sobre algodón: Producto n.º 164 disponible en la compañía Eidgenössische Material- und Prüfanstalt (EMPA) Testmaterialien AG, St. Gallen, Suiza
- cacao sobre algodón: Producto n.º 112 disponible en la compañía Eidgenössische Material- und Prüfanstalt (EMPA) Testmaterialien AG, St. Gallen, Suiza,

mediante medida del grado de blanqueamiento de los productos textiles lavados, el procedimiento de lavado se realiza durante al menos 30 minutos, opcionalmente 60 minutos, a una temperatura de 40 ºC y el agua presenta una dureza entre 15,5 y 16,5º (dureza alemana).

Es un agente detergente líquido preferido para tal sistema de lavado como se resume a continuación (todos los datos en porcentaje en peso): 0,3-0,5 % de goma xantana, 0,2-0,4 % de antiespumante, 6-7 % de glicerina, 0,3-0,5 % de etanol, 4-7 % de FAEOS (etersulfato de alcohol graso), 24-28 % de tensioactivo no iónico, 1 % de ácido bórico, 1-2 % de citrato de sodio (dihidratado), 2-4 % de sosa, 14-16 % de ácidos grasos de coco, 0,5 % de HEDP (ácido 1-hidroxietano-(1,1-difosfónico)), 0-0,4 % de PVP (polivinilpirrolidona), 0-0,05 % de blanqueante óptico, 0-0,001 % de colorante y el resto agua desmineralizada. Preferiblemente, la dosificación del detergente líquido asciende a entre 4,5 y 5,5 gramos por litro de licor de lavado, por ejemplo, a 4,9 gramos por litro de licor de lavado. Preferiblemente, se lava en un intervalo de valor de pH entre pH 8 y pH 10,5, preferiblemente entre pH 8 y pH 9.

Es un detergente en forma de polvo preferido para tal sistema de lavado como se resume a continuación (todos los datos en porcentaje en peso): 10 % de alquilbencenosulfonato lineal (sal de sodio), 1,5 % de sulfato de alcohol graso C12-C18 (sal de sodio), 2,0 % de alcohol graso C12-C18 con 7 EO, 20 % de carbonato de sodio, 6,5 % de hidrogenocarbonato de sodio, 4,0 % de disilicato de sodio amorfo, 17 % de carbonato de sodio peroxohidratado, 4,0 % de TAED, 3,0 % de poliacrilato, 1,0 % de carboximetilcelulosa, 1,0 % de fosfonato, 25 % de sulfato de sodio, resto: inhibidores de espumación, blanqueantes ópticos, fragancias opcionales y eventualmente agua hasta 100 %. Preferiblemente, la dosificación del agente detergente líquido asciende a entre 6,0 y 7,0 gramos por litro de licor de lavado, por ejemplo 6,7 gramos por litro de licor de lavado. Preferiblemente, se lava en un intervalo de valor de pH entre pH 9 y pH 11.

Preferiblemente, se usa un agente detergente líquido.

El grado de blancura, es decir, el blanqueamiento de las suciedades, se determina preferiblemente con procedimientos de medida ópticos, preferiblemente fotométricos. Es un aparato adecuado para ello por ejemplo el espectrómetro Minolta CM508d. Habitualmente, se calibran los aparatos utilizados para la medida antes con un patrón de blancura, preferiblemente un patrón de blancura suministrado.

Mediante el empleo a igual actividad, se asegura que también a una posible divergencia de la relación de sustancia activa a proteína total (el valor de actividad específica), se comparen las propiedades enzimáticas respectivas, así pues, por ejemplo, el rendimiento de lavado de suciedades determinadas. Generalmente, es válido que una actividad específica baja puede compensarse mediante la adición de una mayor cantidad de proteína. Los procedimientos para la determinación de las actividades enzimáticas son comunes para el especialista en la materia de la tecnología enzimática y se aplican rutinariamente por el mismo. Por ejemplo, se divulgan procedimientos para la determinación de la actividad proteasa en Tenside, vol. 7 (1970), pág. 125-132. La actividad proteasa se indica preferiblemente en UP (unidades de proteasa). Las actividades proteasa adecuadas ascienden por ejemplo a 5 o 10 UP (unidades de proteasa) por ml de licor de lavado. La actividad enzimática utilizada es sin embargo diferente de cero.

Preferiblemente, el rendimiento de limpieza sinérgico se basa en un nuevo mecanismo de acción, es decir, no se realiza ningún aumento de la actividad enzimática per se en sentido clásico, como se mediría en uno de los procedimientos siguientes, referidos a proteasas. Por tanto, se presenta entonces una sinergia según la invención particularmente también cuando se comprueba un rendimiento de limpieza mejorado en presencia de los componentes (a) y (b) frente a la suma de los rendimientos de limpieza del componente (a) solo y el componente (b) solo, y el componente (b) no muestra además ningún efecto en al menos uno de los procedimientos de ensayo siguientes, preferiblemente en ambos procedimientos de ensayo siguientes, respecto al aumento de la actividad proteolítica del componente (a) en la desviación estándar de las condiciones de medida:

Procedimiento 1

Se determina la actividad proteasa cuantitativamente frente a la liberación del cromóforo para-nitroanilina (pNA) del sustrato. En el sustrato, se trata de: suc-L-Ala-L-Ala-L-Pro-L-Phe-p-nitroanilida (solución de sustrato: 110 mM en DMSO). La proteasa escinde el sustrato y libera pNA. La liberación de pNA causa un aumento de la extinción a 410 nm, cuya evolución temporal es una medida de la actividad enzimática (véase Del Mar et al., 1979),

La medida se realiza a una temperatura de 25 ºC, a pH 8,6 y una longitud de onda de 410 nm. El tiempo de medida asciende a 5 min y el intervalo de medida a 20 s a 60 s.

Se usa el tampón de utilización (Tris-HCl pH 8,6) como muestra de blanco. Se añaden a cada cubeta 10 ml de solución de sustrato. Se añaden por cada muestra 1000 ml de tampón en una cubeta. Se añaden 1-300 ml de tampón o el componente (b) (0,1, 0,2, 0,5 o 1 % en peso en tampón de utilización) en la cubeta. Se añaden 1-300 ml de proteasa o bien muestra de blanco en la cubeta. Se realiza el inicio de la medida mediante mezclado de la muestra. Después del mezclado, se transfieren rápidamente las cubetas al fotómetro y se inicia la medida. Puede cuantificarse una activación o estabilización de la proteasa mediante los datos de medida.

Procedimiento 2

Se determina la actividad proteasa mediante la hidrólisis de caseína y posterior reacción de péptidos solubles en TCA con reactivo fenol de Folin y Ciocalteu. Se mide la extinción del complejo resultante a 660 nm y se compara con un patrón de tirosina. Las mezclas de reacción contienen 3 ml de caseína al 0,8 % (p/v) y 0,5 ml de una dilución enzimática adecuada con o sin el componente (b) para ensayar (concentración 0,1, 0,2, 0,5 o 1 % en peso) ambos en tampón universal 1 de Britton y Robinson, pH 9,5 (véase J. Chem. Soc. 1931, pág. 1451). Se incuban las mezclas durante 30 minutos a 25 ºC, se interrumpe entonces la reacción mediante la adición de reactivo de terminación (TCA). En las reacciones de control, se añade el reactivo de terminación antes de la adición de enzima con o sin la sustancia para ensayar. Después de 20 minutos a 25 ºC, se filtran las mezclas de reacción por papel de filtro Whatman n.º 42 o se centrifugan.

Se añaden al filtrado agua, carbonato de sodio y reactivo fenol de Folin y Ciocalteu. Después de 30 minutos de incubación, se determina la extinción a 660 nm. De modo comparable, se determina una parte alícuota de 200 ml de un patrón de tirosina. Se expresa la actividad en unidades de proteasa, en las que 1 UP se define como la cantidad de enzima proteolítica que conduce a la liberación de 1 mmol de tirosina, liberada por minuto en condiciones definidas (véanse Anson, M.L. (1938), J. Gen. Physiol. 22, 79-89 así como Folin, O. y Ciocalteu, V., (1929) J. Biol. Chem. 73, 627).

Se producen rendimientos de limpieza sinérgicos ventajosos además si los poliaminoácidos (i) utilizados como componente (b) o bien las sustancias utilizadas adicionalmente opcionales (ii) y (iii) presentan determinados pesos moleculares. En otra realización de la invención, el procedimiento se caracteriza porque

i. el poliaminoácido presenta un peso molecular (PM) de 150 a $5x10^6$ dáltones, particularmente de 200 a $1x10^6$ dáltones, de 220 a $0,75x10^6$ dáltones y particularmente de 400 a $0,5x10^6$ dáltones,
ii. el biotensioactivo presenta un peso molecular (PM) de 500 a 3000 dáltones, particularmente de 600 a 2500 dáltones, de 700 a 2250 dáltones y particularmente de 800 a 2000 dáltones,
iii. el metabolito microbiano presenta un peso molecular (PM) de 150 a $5x10^6$ dáltones, particularmente de 200 a $1x10^6$ dáltones, de 220 a $0,75x10^6$ dáltones y particularmente de 400 a $0,5x10^6$ dáltones.

Se producen rendimientos de limpieza sinérgicos ventajosos si las sustancias utilizadas opcionalmente adicionalmente al poliaminoácido utilizado como componente (b) se presentan en determinadas concentraciones en el agente detergente o de limpieza. En una realización adicional de la invención, se caracteriza el procedimiento porque el biotensioactivo se presenta en el agente de 0,001 a 25 % en peso, particularmente de 0,005 a 10 % en peso, y/o el metabolito microbiano se presenta en el agente de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso.

Referente a la concentración de empleo, así pues, a la concentración en el licor de lavado o limpieza, se produce un rendimiento de limpieza sinérgico especialmente ventajoso igualmente si la sustancia utilizada como componente (b) se presenta a una concentración determinada en el licor de lavado o limpieza. En otra realización de la invención, el procedimiento se caracteriza por tanto porque este componente se presenta en el licor de lavado o limpieza a una concentración de 0,00025 a 0,6 % en peso, particularmente de 0,0003 a 0,5 % en peso.

Figuran como agentes detergentes y de limpieza utilizables en el procedimiento según la invención todos los agentes detergentes y de limpieza concebibles, tanto concentrados como agentes para aplicación no diluidos, para empleo a escala comercial en lavadoras o en el lavado o bien limpieza a mano. Pertenecen a ellos por ejemplo agentes detergentes para productos textiles, alfombras o fibras naturales, para los que se usa la referencia agente detergente. Pertenecen a ellos por ejemplo también agentes detergentes de lavavajillas para lavavajillas o lavado manual de vajillas o limpieza de superficies duras como metal, vidrio, porcelana, cerámica, azulejo, piedra, superficies lacadas, plásticos, madera o cuero, para los que se usa la referencia agente de limpieza, así pues, además lavado de vajilla manual y mecánico, por ejemplo, también limpiadores abrasivos, limpiacristales, limpiadores de baño y demás. Figuran como agentes detergentes y de limpieza en el marco de la invención además coadyuvantes de lavado que se dosifican en el lavado textil manual o mecánico al propio agente detergente para conseguir una acción más amplia. Figuran además como agentes detergentes y de limpieza en el marco de la invención también agentes de tratamiento textil previo y posterior, así pues agentes con los que se pone en contacto la pieza de lavado antes del verdadero lavado, por ejemplo para atacar suciedades persistentes, y también aquellos agentes que, en una de las etapas de lavado

textil verdadero posteriores confieren al producto para lavar otras propiedades deseables como un tacto agradable, falta de arrugas o baja carga estática. Como últimos agentes, se incluyen entre otros suavizantes.

Los agentes detergentes o de limpieza utilizables en los procedimientos según la invención, que pueden presentarse particularmente como sólidos en forma de polvo, en forma de partícula compactada posteriormente o como soluciones o suspensiones homogéneas, pueden contener, aparte de los principios activos utilizados según la invención, los componentes (a) y (b), en principio todos los ingredientes conocidos y habituales en dichos agentes, en los que está presente preferiblemente al menos otro ingrediente en el agente. Los agentes pueden contener particularmente sustancias mejoradoras, tensioactivos, agentes blanqueantes basados en compuestos de peróxido orgánicos y/o inorgánicos, activadores de blanqueo, disolventes orgánicos miscibles con agua, enzimas, agentes secuestrantes, electrolitos, reguladores del pH y otros coadyuvantes como blanqueantes ópticos, inhibidores del agrisamiento, reguladores de la espuma, así como colorantes y fragancias, así como combinaciones de los mismos. Particularmente, se prueba ventajosa una combinación adicional de los principios activos según la invención con uno o varios ingredientes adicionales del agente, ya que entonces puede conseguirse un rendimiento de limpieza mejorado adicional mediante la sinergia adicional resultante. Particularmente mediante la combinación con un tensioactivo y/o una sustancia mejoradora y/o un agente blanqueante, se alcanza tal sinergia adicional. Tales ingredientes adicionales preferidos del agente detergente o de limpieza se divulgan en el documento internacional abierto a inspección pública WO 2009/021867, a cuya divulgación se remite expresamente por lo tanto o a cuya divulgación se incluye expresamente por lo tanto en la presente solicitud.

Los ingredientes para elegir, así como las condiciones en las que se utiliza el agente, como por ejemplo temperatura, valor de pH, fuerza iónica, relaciones rédox o impactos mecánicos, deberían optimizarse para el problema de limpieza respectivo. Así, las temperaturas habituales para el empleo de agentes detergentes y de limpieza se encuentran en los intervalos de 10 a 40 ºC y de 60 a 95 ºC en agentes mecánicos o en aplicaciones técnicas.

Preferiblemente, los ingredientes del agente referido se coordinan entre sí, particularmente de modo que se produzcan sinergias respectos al rendimiento de limpieza. Se prefieren especialmente sinergias que están presentes en un intervalo de temperatura entre 10 y 60 ºC, particularmente en un intervalo de temperatura de 10 a 50 ºC, de 10 a 40 ºC, de 10 a 30 ºC, de 15 a 30 ºC, de 10 a 25 ºC, de 15 a 25 ºC y con muy especial preferencia a 20 ºC.

En otra realización preferida, la enzima hidrolítica contenida en el agente, particularmente una proteasa, y/u otros ingredientes del agente pueden estar envueltos con una sustancia impermeable para la enzima a temperatura ambiente o en ausencia de agua, que en las condiciones de aplicación del agente se vuelve permeable para la enzima. Tal realización de la invención se caracteriza por lo tanto porque la enzima hidrolítica está envuelta por una sustancia impermeable para la enzima a temperatura ambiente o en ausencia de agua. Además, el agente detergente o de limpieza mismo puede envasarse también en un recipiente, preferiblemente un recipiente permeable al aire, del que se libera justo antes de la utilización o durante el procedimiento de lavado.

En otras realizaciones de la invención, el procedimiento se caracteriza porque el agente detergente o de limpieza

(a) se presenta en forma sólida, particularmente como polvo fluido con una densidad aparente de 300 g/l a 1200 g/l, particularmente 500 g/l a 900 g/l, o
(b) se presenta en forma pastosa o liquida, y/o
(c) se presenta como un sistema monocomponente, o
(d) se divide en varios componentes.

Estas realizaciones de la presente invención comprenden además todas las formas de administración sólidas, en forma de polvo, en forma de gel o pastosas del agente utilizable en el procedimiento según la invención, que pueden estar compuestas eventualmente también por varias fases, así como pueden presentarse en forma comprimida o no comprimida. El agente puede presentarse como polvo fluido, particularmente con una densidad aparente de 300 g/l a 1200 g/l, particularmente 500 g/l a 900 g/l o 600 g/l a 850 g/l. Figuran además como formas de administración sólidas del agente extruidos, granulados, comprimidos o bolsas. Como alternativa, el agente puede ser también líquido, en forma de gel o pastoso, por ejemplo, en forma de un agente detergente líquido no acuoso o una pasta no acuosa o en forma de un agente detergente líquido acuoso o una pasta que contiene agua. Además, el agente puede presentarse como sistema monocomponente. Tales agentes están compuestos preferiblemente por una fase. Como alternativa, un agente puede estar compuesto también por varias fases. Tal agente está por tanto dividido en varios componentes.

Los agentes detergentes o de limpieza utilizables en procedimientos según la invención pueden contener exclusivamente una proteasa. Como alternativa, pueden contener sin embargo también otras enzimas hidrolíticas u otras enzimas a una concentración conveniente para la eficacia del agente, en las que en principio son utilizables todas las enzimas establecidas con este fin en el estado de la técnica. Son utilizables como otras enzimas preferiblemente todas las enzimas que puedan desplegar una actividad catalítica en el agente, particularmente proteasas, amilasas, celulasas, hemicelulasas, mananasas, tanasas, xilanasas, xantanasas, ß-glucosidasas, carragenasas, oxidasas, perhidrolasas, oxidorreductasas o lipasas, así como preferiblemente sus mezclas. Estas enzimas son en principio de origen natural; a partir de las moléculas naturales, se ponen a disposición para uso en agentes detergentes y de limpieza variantes mejoradas que se utilizan preferiblemente de forma correspondiente.

Es otro objeto de la invención un procedimiento de lavado o limpieza que comprende las etapas de procedimiento

(a) proporcionar una solución de lavado o limpieza que comprende un agente detergente o de limpieza que contiene

i. una proteasa y
ii. un componente que, en colaboración con la proteasa en la aplicación del agente, provoca un rendimiento de limpieza sinérgico y que es un poliaminoácido;

(b) poner en contacto un producto textil o una superficie dura con la solución de lavado o limpieza según (a),

en el que el componente en el agente se presenta de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso, y en el que el agente detergente o de limpieza contiene la proteasa en una cantidad de 2 µg a 20 mg, preferiblemente de 5 µg a 17,5 mg, con especial preferencia de 20 µg a 15 mg y con muy especial preferencia de 50 µg a 10 mg por g del agente.

Todas las circunstancias, objetos y realizaciones que se describen anteriormente para todos los procedimientos según la invención son aplicables también a este objeto de la invención. Por lo tanto, se remite expresamente en este lugar a la divulgación en el lugar correspondiente, con la indicación de que esta divulgación es válida también para este objeto de la invención.

Es ventajoso tal procedimiento, ya que, como se describe anteriormente, se mejora el rendimiento de limpieza de un agente detergente o de limpieza que contiene una proteasa mediante la adición de un componente como se ha citado. Por lo tanto, el procedimiento es ventajoso para retirar de productos textiles o de superficies duras las impurezas correspondientes, particularmente impurezas que contienen proteínas. Las realizaciones de este objeto de la invención representan por ejemplo el lavado a mano, la eliminación manual de manchas de productos textiles o de superficies duras o procedimientos mecánicos.

Los procedimientos para limpieza de productos textiles se caracterizan en general porque se aplican en varias etapas de procedimiento distintas sustancias activas de limpieza sobre el producto para limpiar y se retiran por lavado después del tiempo de acción, o porque se trata el producto para limpiar de otro modo con un agente detergente o una solución de este agente. Es correspondientemente válido para procedimientos de limpieza de superficies duras.

Ya que una proteasa, es decir el componente (a), posee naturalmente ya una actividad proteolítica y esta se despliega también en medios que, si no no poseen potencia de limpieza, como por ejemplo en solo tampón, tal procedimiento puede estar compuesto también únicamente por, además del componente (b), una proteasa añadida como componente adicional único, es decir componente (a), preferiblemente en una solución tampón o en agua. Esto representa otra realización de este objeto de la invención.

Todos los procedimientos según la invención se llevan a cabo preferiblemente en un intervalo de temperatura de 10 a 60 ºC, particularmente de 10 a 50 ºC, de 10 a 40 ºC, de 10 a 30 ºC, de 15 a 30 ºC, de 10 a 25 ºC y de 15 a 25 ºC. Se presenta una colaboración sinérgica de los componentes (a) y (b) respecto al rendimiento de limpieza especialmente a estas temperaturas de lavado o temperaturas de limpieza de bajas a medias.

Es un objeto adicional de la invención el uso de un componente que es un poliaminoácido para conseguir un rendimiento de limpieza sinérgico en colaboración con una proteasa, en el que los componentes en el agente se presentan de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso, y en el que el agente detergente o de limpieza contiene la proteasa en una cantidad de 2 µg a 20 mg, preferiblemente de 5 µg a 17,5 mg, con especial preferencia de 20 µg a 15 mg y con muy especial preferencia de 50 µg a 10 mg por g del agente.

Las circunstancias, objetos y realizaciones que se describen anteriormente para los procedimientos de lavado o limpieza según la invención son aplicables también a este objeto de la invención. Por lo tanto, se remite expresamente en este lugar a la divulgación en el lugar correspondiente, con la indicación de que esta divulgación es válida también para el uso anterior según la invención.

En otra realización, el uso se caracteriza por tanto porque el agente contiene adicionalmente un biotensioactivo en una cantidad de 0,001 % a 25 % en peso, particularmente de 0,005 a 10 % en peso y/o un metabolito microbiano en una cantidad de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso.

Es un objeto adicional de la invención el uso de un componente que es un poliaminoácido para aumentar el rendimiento de limpieza sinérgico de una proteasa en un procedimiento de lavado o limpieza, en el que los componentes en el agente se presentan de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso, y en el que el agente detergente o de limpieza contiene la proteasa en una cantidad de 2 µg a 20 mg, preferiblemente de 5 µg a 17,5 mg, con especial preferencia de 20 µg a 15 mg y con muy especial preferencia de 50 µg a 10 mg por g del agente. Como se describe anteriormente, los componentes (a) y (b) colaboran ventajosamente, particularmente sinérgicamente, de modo que no solo mejora el rendimiento de limpieza de un agente detergente o de limpieza (o bien el licor de lavado

formado por este agente), sino también el rendimiento de limpieza de la proteasa misma. Las circunstancias, objetos y realizaciones que se describen anteriormente para los procedimientos de lavado o limpieza según la invención son aplicables también a este objeto de la invención. Por lo tanto, se remite expresamente en este lugar a la divulgación en el lugar correspondiente, con la indicación de que esta divulgación es válida también para el uso anterior según la invención.

Además, se producen rendimientos de limpieza ventajosos si los poliaminoácidos utilizados como componente (b) o las sustancias utilizadas adicionalmente opcionales (ii) y (iii) presentan determinados pesos moleculares. Otras realizaciones preferidas de usos según la invención se caracterizan por tanto porque

i. el poliaminoácido presenta un peso molecular (PM) de 150 a $5x10^6$ dáltones, particularmente de 200 a $1x10^6$ dáltones, de 220 a $0,75x10^6$ dáltones y particularmente de 400 a $0,5x10^6$ dáltones,

ii. el biotensioactivo presenta un peso molecular (PM) de 500 a 3000 dáltones, particularmente de 600 a 2500 dáltones, de 700 a 2250 dáltones y particularmente de 800 a 2000 dáltones,

iii. el metabolito microbiano presenta un peso molecular (PM) de 150 a $5x10^6$ dáltones, particularmente de 200 a $1x10^6$ dáltones, de 220 a $0,75x10^6$ dáltones y particularmente de 400 a $0,5x10^6$ dáltones.

Ejemplos:

Ejemplo 1:

Para el análisis del rendimiento de lavado, se usó la formulación marco indicada a continuación para un agente detergente textil (véase la tabla 2).

Tabla 2:

Ingrediente	% en peso de sustancia pura
Xantano	0,3-0,5
Antiespumante	0,2-0,4
Glicerina	6-7
Etanol	0,3-0,5
FAEOS	4-7
Tensioactivo no iónico (FAEO, APG, entre otros)	24-28
Ácido bórico	1
Citrato de sodio (dihidratado)	1-2
Sosa	2-4
Ácidos grasos de coco	14-16
HEDP	0,5
PVP	0-0,4
Blanqueante óptico	0-0,05
Colorante	0-0,001
Perfume	0-2
H_2O desmineralizada	Resto

Se agruparon las preparaciones de ensayo en placas de 48 pocillos respectivamente en 1 ml de agua de lavado como se indica a continuación en la tabla 3. Se realizó la incubación durante 60 minutos a 40 ºC con agitación (aprox. 600 revoluciones por minuto (rpm)).

Tabla 3:

Volúmenes	Solución
420 ml	161-966 mg de agente detergente textil en 42 ml de agua o tampón
30-530 ml	1-100 UP/ml de proteasa
30-530 ml	Solución de sustancia preparada
Resto	H2O
	Suciedad de ∅ aprox. 1 cm

Se usaron trozos redondos de suciedades (diámetro de aprox. 10 mm) que se seleccionaron de las siguientes suciedades:

sangre-leche/tinta sobre algodón: Producto n.º C5 de CFT B.V. Vlaardingen, Holanda huevo entero/pigmento sobre algodón: Producto n.º 10N disponible en la compañía wfk Testgewebe GmbH; Brüggen-Bracht, Alemania, chocolate-leche/tinta sobre algodón: Producto n.º C3 de CFT B.V. Vlaardingen, Holanda aceite de cacahuete-pigmento/tinta sobre poliéster/algodón: Producto n.º PC10 de CFT B.V. Vlaardingen, Holanda hierba sobre algodón: Producto n.º 164 disponible en la compañía Eidgenössische Material- und Prüfanstalt (EMPA) Testmaterialien AG, St. Gallen, Suiza
cacao sobre algodón: Producto n.º 164 disponible en la compañía Eidgenössische Material- und Prüfanstalt (EMPA) Testmaterialien AG, St. Gallen, Suiza.

Después de la incubación, se enjuagaron las suciedades tres veces, se secaron y se fijaron y se midió el grado de blancura de los productos textiles lavados en comparación con un patrón de blancura (d/8, 8 mm, SCI/SCE) que se normalizó a 100 % (determinación del valor de L). Se realizó la medida en un aparato de medida del color (Minolta Cm508d) con un ajuste del tipo de luz de 10º/D65. Se indican los resultados obtenidos como porcentaje de rendimiento, en los que se normalizó a 100 % la diferencia de los valores de remisión de agente detergente básico sin sustancia ni enzima a con proteasa.

Se usaron como proteasas la proteasa alcalina de Bacillus lentus DSM 5483 (documento WO 92/21760), la proteasa de Bacillus pumilus segun el documento WO2007/131656, así como la proteasa que se divulga en la figura 2 o la SEQ ID NO. 3 del documento internacional abierto a inspección pública WO 03/057713.

Ejemplo 2

Se ensayó el rendimiento de lavado con las siguientes sustancias puras (componente (b)): Poliglutamato (poli(ácido glutámico)).

Se prepararon soluciones madre con esta sustancia con sustancia 0,00001-1,5 M o 0,0001-55 % (en peso) en agua o tampón (fosfato 0,00001-1,5 M pH 6,5-8,0 o Tris 0,00001-1,5 M pH 7,5-9,0 o tampón de Soerensen pH 7,5-9,0 o tampón citrato 0,00001-1,5 M pH 4,5-7,0 o tampón acetato 0,00001-1,5 M pH 2,5-5,5).

La siguiente tabla 4 muestra los rendimientos de lavado obtenidos para las preparaciones de ensayo indicadas respectivamente (la abreviatura "n.d." representa "no determinado"). Los aminoácidos se enumeran en las abreviaturas habituales. Resulta evidente que el componente (b) utilizado provoca un aumento sinérgico del rendimiento de lavado en aquellos agentes detergentes que contienen una proteasa, es decir componente (a). En los controles en que no está contenida proteasa (designados como "blancos"), este componente (b) no provoca ningún aumento del rendimiento de limpieza, de modo que el rendimiento de lavado aumentado se basa en una colaboración sinérgica ventajosa de los componentes (a) y (b).

Tabla 4:

	Proteasa	Poli(ácido L-glutámico) 15.000-50.000	Poli(ácido L-glutámico) 50.000-100.000
PC-10	100 %	131 %	151 %
10N	100 %	166%	171%
C-03	100 %	126 %	123%

Descripción de la figura:

Figura 1: Estructura de surfactina

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la mejora del rendimiento de limpieza de un agente detergente o de limpieza que comprende una proteasa, **caracterizado porque** se añade al agente detergente o de limpieza un componente que provoca, en colaboración con la proteasa en la aplicación del agente, un rendimiento de limpieza sinérgico y que es un poliaminoácido, en el que el componente se presenta en el agente a 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso, y en el que el agente detergente o de limpieza contiene la proteasa en una cantidad de 2 µg a 20 mg, preferiblemente de 5 µg a 17,5 mg, con especial preferencia de 20 µg a 15 mg y con muy especial preferencia de 50 µg a 10 mg por g del agente.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el agente contiene adicionalmente un biotensioactivo y/o un metabolito microbiano.

3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado porque** el componente presenta un peso molecular (PM) de 150 a $5x10^6$ dáltones, particularmente de 200 a $1x10^6$ dáltones, de 220 a $0,75x10^6$ dáltones y particularmente de 400 a $0,5x10^6$ dáltones, el biotensioactivo presenta un peso molecular (PM) de 500 a 3000 dáltones, particularmente de 600 a 2500 daltones, de 700 a 2250 dáltones y particularmente de 800 a 2000 daltones y/o el metabolito microbiano presenta un peso molecular (PM) de 150 a $5x10^6$ dáltones, particularmente de 200 a $1x10^6$ dáltones, de 220 a $0,75x10^6$ dáltones y particularmente de 400 a $0,5x10^6$ dáltones.

4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque** el biotensioactivo se presenta en el agente de 0,001 a 25 % en peso, particularmente de 0,005 a 10 % en peso, y/o el metabolito microbiano se presenta en el agente de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso.

5. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** el componente se presenta en el licor de lavado o limpieza a una concentración de 0,00025 a 0,6 % en peso, particularmente de 0,0003 a 0,5 % en peso.

6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado porque** la proteasa en el agente detergente o de limpieza está envuelta por una sustancia impermeable para la enzima a temperatura ambiente o en ausencia de agua.

7. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** el agente detergente o de limpieza

(a) se presenta en forma sólida, particularmente como polvo fluido con una densidad aparente de 300 g/l a 1200 g/l, particularmente 500 g/l a 900 g/l, o
(b) se presenta en forma pastosa o liquida, y/o
(c) se presenta como un sistema monocomponente, o
(d) se divide en varios componentes.

8. Procedimiento de lavado o limpieza que comprende las etapas de procedimiento

(a) proporcionar una solución de lavado o limpieza que comprende un agente detergente o de limpieza que contiene

i. una proteasa y
ii. un componente que, en colaboración con la proteasa en la aplicación del agente, provoca un rendimiento de limpieza sinérgico y que es un poliaminoácido;

(b) poner en contacto un producto textil o una superficie dura con la solución de lavado o limpieza según (a),

en el que el componente en el agente se presenta de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso, y en el que el agente detergente o de limpieza contiene la proteasa en una cantidad de 2 µg a 20 mg, preferiblemente de 5 µg a 17,5 mg, con especial preferencia de 20 µg a 15 mg y con muy especial preferencia de 50 µg a 10 mg por g del agente.

9. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado porque** se lleva a cabo en un intervalo de temperatura de 10 a 60 ºC, particularmente de 10 a 50 ºC, de 10 a 40 ºC, de 10 a 30 ºC, de 15 a 30 ºC, de 10 a 25 ºC y de 15 a 25 ºC.

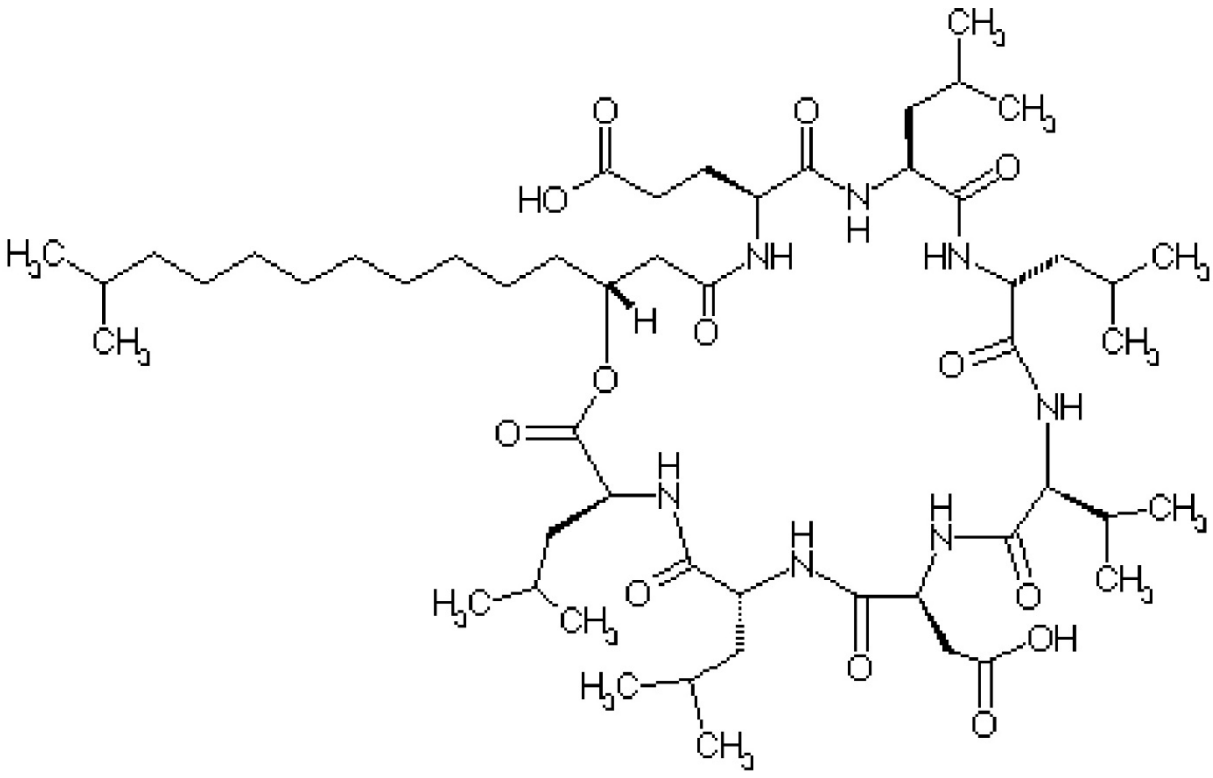
10. Uso de un componente que es un poliaminoácido para conseguir un rendimiento de limpieza sinérgico en colaboración con una proteasa, en el que el componente en el agente se presenta de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso, y en el que el agente detergente o de limpieza contiene la proteasa en una cantidad de 2 µg a 20 mg, preferiblemente de 5 µg a 17,5 mg, con especial preferencia de 20 µg a 15 mg y con muy especial preferencia de 50 µg a 10 mg por g del agente.

11. Uso según la reivindicación 10, **caracterizado porque** el agente contiene adicionalmente un biotensioactivo y/o un metabolito microbiano.

12. Uso según la reivindicación 10 u 11, **caracterizado porque** el biotensioactivo se presenta en el agente de 0,001 a 25 % en peso, particularmente de 0,005 a 10 % en peso, y/o el metabolito microbiano se presenta en el agente de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso.

13. Uso de un componente que es un poliaminoácido para aumentar el rendimiento de limpieza sinérgico de una proteasa en un procedimiento de lavado o limpieza, en el que el componentes en el agente se presenta de 0,018 a 0,2 % en peso, particularmente de 0,04 a 0,1 % en peso, y en el que el agente detergente o de limpieza contiene la proteasa en una cantidad de 2 µg a 20 mg, preferiblemente de 5 µg a 17,5 mg, con especial preferencia de 20 µg a 15 mg y con muy especial preferencia de 50 µg a 10 mg por g del agente.

14. Uso según una de las reivindicaciones 10 a 13, **caracterizado porque** el componente presenta un peso molecular (PM) de 150 a $5x10^6$ dáltones, particularmente de 200 a $1x10^6$ dáltones, de 220 a $0,75x10^6$ dáltones y particularmente de 400 a $0,5x10^6$ dáltones, el biotensioactivo presenta un peso molecular (PM) de 500 a 3000 dáltones, particularmente de 600 a 2500 daltones, de 700 a 2250 dáltones y particularmente de 800 a 2000 daltones y/o el metabolito microbiano presenta un peso molecular (PM) de 150 a $5x10^6$ dáltones, particularmente de 200 a $1x10^6$ dáltones, de 220 a $0,75x10^6$ dáltones y particularmente de 400 a $0,5x10^6$ dáltones.

Figura 1:

Estructura de surfactina: