(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 750 782**

(51) Int. Cl.:
C11D 3/386 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.06.2015 PCT/EP2015/063667**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **07.01.2016 WO16000972**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2015 E 15730147 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 3161118**

(54) Título: **Agente de limpieza que contiene amilasas**

(30) Prioridad:

30.06.2014 DE 102014212640

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.03.2020

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

VOCKENROTH, INGA KERSTIN;
WEBER, THOMAS;
MENKE, SILKE;
EITING, THOMAS;
MUSSMANN, NINA;
BASTIGKEIT, THORSTEN y
WRUBBEL, NOELLE

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 750 782 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Agente de limpieza que contiene amilasas

La presente solicitud se refiere a un agente de limpieza, preferentemente a un agente para el lavado de la vajilla, preferentemente a un agente para el lavado de la vajilla a máquina, que contiene al menos dos amilasas y al menos una proteasa, así como al uso de un agente de limpieza de este tipo.

El criterio más importante en la limpieza de materiales textiles, superficies duras, tales como en particular en el lavado de la vajilla, en particular en el lavado de la vajilla a máquina, es el poder de limpieza sobe las más diversas suciedades, que se introducen en particular en forma de restos de alimentos. Por los documentos EP 2 100 949 A1, WO 2010 090 915 A1 y US 2014 0 179 585 A1 se conocen agentes para el lavado de la vajilla, en los que se emplea una combinación de amilasa y proteasa.

También cuando el poder de limpieza de los agentes para el lavado de la vajilla empleados hoy en día es generalmente alto, se plantea también, debido a la tendencia general en el lavado de la vajilla a máquina cada vez más usar programas a baja temperatura, no obstante presentan el problema de que muchos de los agentes para el lavado de la vajilla a máquina habituales en el caso de suciedades resistentes presentan un poder de limpieza insuficiente. Un poder de limpieza insuficiente de este tipo y la limpieza insuficiente de la vajilla que acompaña a esto llevan a la insatisfacción del usuario y con ello a que tales suciedades sean tratadas previamente por el usuario, lo que a su vez aumenta el consumo de agua y energía. Por lo tanto existe una necesidad general de agentes para el lavado de la vajilla a máquina que también presenten aún un buen poder de limpieza sobre suciedades resistentes, en particular quemadas, sin a este respecto reducir el buen poder de limpieza existente sobre las otras suciedades.

El objetivo de la presente invención consistía por lo tanto en proporcionar un agente de limpieza, preferentemente un agente para el lavado de la vajilla, preferentemente un agente para el lavado de la vajilla a máquina, que presenta un poder de limpieza aumentado en el caso de tales suciedades, sin que se reduzca el poder de limpieza sobre otras suciedades.

Sorprendentemente se estableció ahora que el uso de una combinación de distintas amilasas mejora el poder de limpieza de agentes de limpieza correspondientes, preferentemente de un agente para el lavado de la vajilla, preferentemente de un agente para el lavado de la vajilla a máquina sobre suciedades sensibles a enzimas, en particular suciedades de alimentos quemados.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere por lo tanto a un agente de limpieza (para superficies duras), en particular a un agente para el lavado de la vajilla, preferentemente a un agente para el lavado de la vajilla a máquina que comprende una primera y una segunda amilasa, en el que

a) la primera amilasa es una α-amilasa de Bacillus sp. n.º 707 o un fragmento funcional o una variante de la misma;
b) la segunda amilasa es una α-amilasa AA560 de Bacillus sp. o un fragmento funcional o una variante de la misma, y contiene asimismo al menos una proteasa.

Una combinación de este tipo provoca en el caso del uso del agente, un poder de limpieza significativamente aumentado sobre suciedades resistentes, en particular sobre suciedades que contienen almidón.

Otro objeto de la presente invención es el uso de un agente de limpieza que se describe en el presente documento, preferentemente de un agente para el lavado de la vajilla, preferentemente de un lavado de la vajilla a máquina en un procedimiento de limpieza, preferentemente un procedimiento del lavado de la vajilla, en particular en un procedimiento para el lavado de la vajilla a máquina, preferentemente el uso para la mejora del poder de limpieza, en particular del poder de limpieza sobre suciedades sensibles a enzimas, sobre superficies duras, en particular vajilla durante su limpieza, preferentemente en una máquina lavavajillas automática, en particular suciedades resistentes, entre otros también a temperaturas que son menores que las temperaturas usadas habitualmente.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento de limpieza, preferentemente procedimiento para el lavado de la vajilla, preferentemente un procedimiento para el lavado de la vajilla a máquina, en el que se emplea un agente de limpieza que se describe en el presente documento, preferentemente un agente para el lavado de la vajilla, preferentemente un agente para el lavado de la vajilla a máquina, en particular con el fin de mejorar el poder de limpieza sobre suciedades sensibles a enzimas. En distintas formas de realización, en el procedimiento del lavado de la vajilla, se emplean temperaturas que son menores que las temperaturas usadas habitualmente.

Aún otro objeto de la invención es el uso de las combinaciones de enzimas que se describen en el presente documento para la mejora del poder de limpieza de un agente de limpieza, en particular de un agente para el lavado de la vajilla.

"Bajas temperaturas" o "temperaturas que son menores que las temperaturas usadas habitualmente", tal como se usa en el presente documento en relación con el procedimiento para el lavado de la vajilla, se refiere preferentemente a temperaturas por debajo de 60 °C, en particular por debajo de 55 °C, aún más preferentemente 50 °C o inferiores, de

manera especialmente preferente 45 °C o inferiores y de la manera más preferente 40 °C o inferiores. Estos datos de temperatura se refieren a las temperaturas objetivo empleadas en las etapas de limpieza (temperaturas máximas).

Estos y otros aspectos, características y ventajas de la invención son evidentes para el experto en la materia a partir del estudio de la siguiente descripción y reivindicaciones detalladas. A este respecto cada característica de un aspecto de la invención puede emplearse en cualquier otro aspecto de la invención. Asimismo es evidente que los ejemplos contenidos en el presente documento describirán e ilustrarán la invención pero sin limitarla y en particular la invención no está limitada a estos ejemplos. Todos los datos de porcentaje son, siempre que no se indique lo contrario, % en peso. Los intervalos numéricos que están indicados en el formato "de x a y", incluyen los valores mencionados. Cuando están indicados varios intervalos numéricos preferidos en este formato, es evidente que están abarcados asimismo todos los intervalos que se forman por la combinación de distintos puntos finales.

Las amilasas empleadas son α-amilasas alcalinas. Estas actúan como hidrolasas y escinden el enlace glicosídico α(1-4) de polisacáridos, en particular almidones tales como amilosa y provocan con ello la degradación de suciedades que contienen almidón sobre un artículo que se va a limpiar. Como productos de escisión se generan a este respecto dextrinas y a partir de esta maltosa, glucosa y oligosacáridos ramificados. Su punto de pH óptimo se encuentra en la mayoría de los casos en el intervalo claramente alcalino.

Las secuencias de tipo natural de la α-amilasa (madura) de Bacillus sp. n.º 707 o de la α-amilasa AA560 (madura) de Bacillus sp. están indicadas en las SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2.

"Distinto", tal como se usa en el presente documento con referencia a las enzimas, se refiere a enzimas que se diferencian en su secuencia de aminoácidos. En distintas formas de realización, enzimas distintas entre sí, proceden de distintas especies de organismos o se diferencian entre sí por, por ejemplo, mutaciones generadas artificialmente.

"Variante", tal como se usa en el presente documento en relación con enzimas, se refiere a variaciones naturales o generadas artificialmente de una enzima nativa, que presentan una secuencia de aminoácidos que se desvía de la forma de referencia. Una variante de este tipo puede presentar mutaciones puntuales individuales o varias mutaciones puntuales, es decir sustituciones de un aminoácido que aparece naturalmente en la posición correspondiente por otro, inserciones (introducciones de uno o varios aminoácidos) y/o deleciones, (eliminaciones de uno o varios aminoácidos), en particular una o varias mutaciones puntuales. Las variantes de este tipo tienen preferentemente al menos el 50, preferentemente el 60 o más, aún más preferentemente el 70, 80, 90, 100 % o más de la actividad enzimática de la forma de referencia. En distintas formas de realización una variante de este tipo tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia que sirve como referencia a lo largo de su longitud total en al menos el 70, preferentemente el 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 o el 99 %. Las variantes tienen preferentemente la misma longitud que la secuencia de referencia. Las variantes pueden caracterizarse con respecto a la forma de referencia por propiedades mejoradas, tales como por ejemplo mayor actividad enzimática, mayor estabilidad, especificidad de sustrato modificada, etc. Se emplean únicamente aquellas variantes que presenten actividad enzimática. "Actividad enzimática", tal como se usa en el presente contexto, significa en particular que las enzimas correspondientes presentan al menos el 50 %, preferentemente al menos el 90 % de la actividad catalítica de su enzima de referencia.

"Fragmento", tal como se usa en el presente documento en relación con enzimas, se refiere a polipéptidos acortados en cada caso uno o varios aminoácidos de manera N terminal y/o C terminal con respecto a la enzima de referencia. Se emplean solamente aquellos fragmentos que presentan actividad enzimática. "Actividad enzimática", tal como se usa en este contexto, significa en particular que las enzimas correspondientes presentan al menos el 50 %, preferentemente al menos el 90 % de la actividad catalítica de su enzima de referencia.

La determinación de la identidad secuencias de ácido nucleico o secuencias de aminoácidos tiene lugar mediante una comparación de secuencias. Esta comparación de secuencias se basa en el algoritmo BLAST establecido en el estado de la técnica y usado habitualmente (véase por ejemplo Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool." J. Mol. Biol. 215:403-410, y Altschul, Stephan F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Hheng Zhang, Webb Miller, y David J. Lipman (1997): "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs"; Nucleic Acids Res., 25, páginas 3389-3402) y tiene lugar principalmente porque se asocian entre sí las sucesiones similares de nucleótidos o aminoácidos en las secuencias de ácido nucleico o secuencias de aminoácidos. Una asociación tabulada de las posiciones en cuestión se denomina alineación. Otro algoritmo disponible en el estado de la técnica es el algoritmo FASTA.

Una comparación de este tipo permite también una predicción sobre la similitud de las secuencias comparadas entre sí. Esta se indica habitualmente en porcentaje de identidad, es decir el porcentaje de los nucleótidos idénticos o restos de aminoácido idénticos en la misma o en una alineación de posiciones correspondientes entre sí. El concepto más amplio de homología incluye en la consideración intercambios de aminoácidos conservados en las secuencias de aminoácidos, es decir aminoácidos con actividad química similar, dado que estos en la mayoría de los casos ejercen actividades químicas similares dentro de la proteína. Por lo tanto, la similitud de las secuencias comparadas puede estar indicada también en porcentaje de homología o porcentaje de similitud. Los datos de identidad y/u homología, pueden referirse a polipéptidos o genes completos o solo a zonas individuales. Zonas homólogas o idénticas de distintas secuencias de ácido nucleico o secuencias de aminoácidos están definidas por lo tanto por coincidencias en

las secuencias. Tales zonas presentan con frecuencia funciones idénticas. Estas pueden ser pequeñas y comprender solo algunos nucleótidos o aminoácidos. Con frecuencia tales pequeñas zonas ejercen funciones esenciales para la actividad total de la proteína. Por lo tanto puede ser útil referir las coincidencias de secuencia solo a zonas individuales, dado el caso pequeñas. Siempre que no se indique lo contrario, los datos de identidad u homología en la presente solicitud se refieren en cambio a la longitud total de la secuencia de ácido nucleico o de aminoácido indicada en cada caso.

Como primera amilasa en el sentido de la presente invención se emplea, en distintas formas de realización preferidas, una amilasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 80 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1 y presenta opcionalmente al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 172, 202, 208, 255 y 261 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO. 1, en particular seleccionada del grupo que consiste en M202L, M202V, M202S, M202T, M202I, M202Q, M202W, S255N y R172Q.

En formas de realización preferidas de la invención se emplea por lo tanto como primera amilasa una variante de la α-amilasa de Bacillus sp. n.º 707 con la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:1, que es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos el 80 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1 y presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 172, 202, 208, 255 y 261 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO. 1. Preferentemente se emplean amilasas, que en dos, preferentemente tres, de las posiciones mencionadas anteriormente, presentan una sustitución de aminoácido, en particular una sustitución en la posición 202 seleccionada de M202L, M202V, M202S, M202T, M202I, M202Q, M202W, una sustitución en la posición 255, en particular S255N, y una sustitución en la posición 172, en particular R172Q. Se prefieren muy especialmente los mutantes M202L y M202T.

Otras variantes empleables son aquellas que tienen una secuencia de aminoácidos que es idéntica al menos al 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1, estando sustituidas las posiciones 172, 202 y 255 preferentemente tal como se describe anteriormente. Variantes de este tipo pueden incluir por ejemplo un acortamiento del extremo C terminal, por ejemplo de 1-20 aminoácidos, o una deleción de uno o varios aminoácidos, en particular en las posiciones 181, 182, 183 y 184 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:1, manteniéndose no obstante la actividad enzimática, es decir la actividad de la variante asciende al menos al 60 % de la actividad de la enzima con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1. Amilasas adecuadas se describen también en el documento WO 2008/112459 A2, cuya divulgación completa está incluida por referencia en el presente documento.

La segunda amilasa es distinta de la primera amilasa, es decir una amilasa que entra tanto en la definición de la primera amilasa como en la de la segunda amilasa, no puede figurar al mismo tiempo como primera y como segunda amilasa.

Como segunda amilasa en el sentido de la presente invención se emplea, en distintas formas de realización preferidas, una amilasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 80 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 2 y opcionalmente presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 9, 26, 30, 33, 82, 37, 106, 118, 128, 133, 149, 150, 160, 178, 182, 186, 193, 195, 202, 203, 214, 231, 256, 257, 258, 269, 270, 272, 283, 295, 296, 298, 299, 303, 304, 305, 311, 314, 315, 318, 319, 320, 323, 339, 345, 361, 378, 383, 419, 421, 437, 441, 444, 445, 446, 447, 450, 458, 461, 471, 482 y 484 y/o una de las deleciones D183* y G184* en la numeración de acuerdo con las SEQ ID NO:2.

En distintas formas de realización preferidas, la segunda amilasa en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO: 2 presenta sustituciones de aminoácido en tres o más de las posiciones 9, 26, 149, 182, 186, 202, 257, 295, 299, 323, 339 y 345 y opcionalmente una o varias, preferentemente todas, las sustituciones y/o deleciones en las posiciones 118, 183, 184, 195, 320 y 458 de manera especialmente preferente R118K, D183*, G184*, N195F, R320K y/o R458K.

En formas de realización especialmente preferidas, la segunda amilasa en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:2 presenta las siguientes sustituciones de aminoácido y/o deleciones:

(i) M9L + M323T;
(ii) M9L + M202L/T/V/I + M323T;
(iii) M9L + N195F + M202L/T/V/I + M323T;
(iv) M9L + R118K + D183* + G184* + R320K + M323T + R458K;
(v) M9L + R118K + D183* + G184* + M202L/T/V/I + R320K + M323T + R458K;
(vi) M9L + G149A + G182T + G186A + M202L + T257I + Y295F + N299Y + M323T + A339S + E345R;
(vii) M9L + G149A + G182T + G186A + M202I + T257I + Y295F + N299Y + M323T + A339S + E345R;
(viii) M9L + R118K + G149A + G182T + D183* + G184* + G186A + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K;
(ix) M9L + R118K + G149A + G182T + D183* + G184* + G186A + N195F + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K;

(x) M9L + R118K + G149A + G182T + D183* + G184* + G186A + M202I + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K;
(xi) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202L + R320K + M323T + R458K;
(xii) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202T + R320K + M323T + R458K;
(xiii) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202I + R320K + M323T + R458K;
(xiv) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202V + R320K + M323T + R458K;
(xv) M9L + R118K + N150H + D183* + D184* + N195F + M202L + V214T + R320K + M323T + R458K; o
(xvi) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202L + V214T + R320K + M323T + E345N + R458K.

Una segunda amilasa especialmente preferida es la variante que se encuentra comercialmente disponible con el nombre comercial Stainzyme Plus™ (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca).

En el contexto de la presente invención se prefieren combinaciones de una primera amilasa que es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 80 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:1 y al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 172, 202, 208, 255 y 261 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:1, en particular una sustitución en la posición 202 seleccionada de M202L, M202V, M202S, M202T, M202I, M202Q, M202W, una sustitución en la posición 255 en particular S255N y una sustitución en la posición 172 en particular R172Q, y una segunda amilasa que es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 80 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:2 y presenta las siguientes sustituciones de aminoácido y/o deleciones

(i) M9L + M323T;
(ii) M9L + M202L/T/V/I + M323T;
(iii) M9L + N195F + M202L/T/V/I + M323T;
(iv) M9L + R118K + D183* + G184* + R320K + M323T + R458K;
(v) M9L + R118K + D183* + G184* + M202L/T/V/I + R320K + M323T + R458K;
(vi) M9L + G149A + G182T + G186A + M202L + T257I + Y295F + N299Y + M323T + A339S + E345R;
(vii) M9L + G149A + G182T + G186A + M202I + T257I + Y295F + N299Y + M323T + A339S + E345R;
(viii) M9L + R118K + G149A + G182T + D183* + G184* + G186A + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K;
(ix) M9L + R118K + G149A + G182T + D183* + G184* + G186A + N195F + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K;
(x) M9L + R118K + G149A + G182T + D183* + G184* + G186A + M202I + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K;
(xi) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202L + R320K + M323T + R458K;
(xii) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202T + R320K + M323T + R458K;
(xiii) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202I + R320K + M323T + R458K;
(xiv) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202V + R320K + M323T + R458K;
(xv) M9L + R118K + N150H + D183* + D184* + N195F + M202L + V214T + R320K + M323T + R458K; o
(xvi) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202L + V214T + R320K + M323T + E345N + R458K.

En distintas formas de realización, estas combinaciones de amilasas se emplean en la relación en masa de 50:1 a 1:50, preferentemente de 30:1 a 1:10 (en cada caso con respecto a la cantidad de proteína activa amilasa 1 con respecto a amilasa 2).

En particular se prefiere emplear una amilasa de acuerdo con 1) en la relación con respecto a una amilasa de acuerdo con 2) en una relación de 20:1 a 2:1, preferentemente de 15:1 a 3:1, de manera especialmente preferente de 12:1 a 5:1, por ejemplo 10:1. En particular, en este contexto es muy preferente emplear como primera amilasa una de las variantes i) a xvi) mencionadas anteriormente de la SeqID 1 y como segunda amilasa una de las variantes i) a xvi) mencionadas anteriormente de la SeqID 2 en una relación de 15:1 a 3:1, de manera especialmente preferente de 12:1 a 5:1, por ejemplo 10:1.

Los agentes de limpieza descritos en el presente documento contienen en formas de realización preferidas asimismo al menos una proteasa, en particular al menos una primera y al menos una segunda proteasa.

Las proteasas son en particular serina proteasas alcalinas. Estas actúan como endopeptidasas no específicas, es decir hidrolizan cualquier enlace de amida ácido, que se encuentra en el interior de péptidos o proteínas y provocan con ello la degradación de suciedades que contienen proteína sobre el artículo que va a limpiarse. Su valor óptimo de pH se encuentra en la mayoría de los casos en el intervalo claramente alcalino.

La al menos una proteasa se selecciona preferentemente del grupo que consiste en una subtilisina 309 de *Bacillus lentus* o un fragmento funcional o una variante de la misma y una proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483 o un fragmento funcional o una variante de la misma. Asimismo pueden emplearse combinaciones de varias de las enzimas mencionadas anteriormente.

Las secuencias de la proteasa madura subtilisina 309 de *Bacillus lentus* o de la proteasa alcalina madura de *Bacillus*

lentus DSM 5483 se indican en las SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4.

En distintas formas de realización de la invención, la al menos una proteasa comprende una subtilisina 309 de *Bacillus lentus* o un fragmento funcional o una variante de la misma, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a lo largo de su longitud en total al menos un 80 %, preferentemente en al menos un 90 %, en particular en un 100 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3 y presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:3. Se prefieren aquellas que en dos, preferentemente tres, en particular cuatro, de manera muy especialmente preferente cinco de las posiciones mencionadas anteriormente presentan una sustitución de aminoácido.

Otras variantes que pueden emplearse son aquellas que tienen una secuencia de aminoácidos que es idéntica al menos en un 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3, donde una o varias de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 están sustituidas, es decir el aminoácido en estas posiciones no corresponde al aminoácido correspondiente en la SEQ ID NO:3.

De manera especialmente preferente se usa una variante con al menos una, preferentemente dos en particular tres de manera especialmente preferente cuatro o de manera muy especialmente preferente cinco de las sustituciones de aminoácido seleccionadas de S9R, A15T, V66A, N212D y Q239R con respecto a la numeración según la SEQ ID NO:3. Se prefieren las siguientes combinaciones:
S9R+V66A+N212D+Q239R, S9R+A15T+N212D+Q239R, S9R+A15T+V66A+Q239R, S9R+A15T+V66A+N212D, A15T+V66A+N212D+Q239R; S9R+A15T+V66A, S9R+A15T+N212D, S9R+A15T+Q239R, S9R+N212D+Q239R, S9R+V66A+N212D, S9R +V66A+ Q239R, A15T+V66A+N212D, A15T+V66A+Q239R, A15T+N212D+Q239R, V66A+N212D+Q239R;
S9R+A15T, S9R+V66A, S9R+N212D, S9R+ Q239R, A15T+V66A, A15T+N212D, A15T+Q239R, V66A+N212D, V66A+Q239R, N212D+Q239R. Una variante que comprende todas las variaciones mencionadas anteriormente tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:5 (S9R+A15T+V66A+N212D+Q239R).

Asimismo se prefieren especialmente variantes de la proteasa con la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3, que representan una sustitución de aminoácido en la posición 99 y una inserción de un aminoácido entre los aminoácidos en las posiciones 99 y 100 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:3, preferentemente seleccionadas de S99A y/o S99_G100InsD. Otras variantes que pueden emplearse son aquellas que tienen una secuencia de aminoácidos que es idéntica en un 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3, presentando estas variantes una o dos de las mutaciones mencionadas anteriormente en las posiciones 99 y 100. Se prefieren aquellas que presentan ambas mutaciones. Una variante de este tipo tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:6.

En distintas formas de realización aún adicionales de la invención, la al menos una proteasa comprende una proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483 o un fragmento funcional o una variante de la misma, que presenta una secuencia de aminoácidos que es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 80 %, preferentemente en al menos un 90 %, en particular en un 100 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:4 y que opcionalmente presenta al menos una sustitución de aminoácido en una, dos, tres o cuatro de las siguientes posiciones 3, 4, 99 y 199 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:4. Preferentemente se emplean proteasas que en dos, preferentemente tres o más, en particular cuatro de las posiciones mencionadas anteriormente presentan una sustitución de aminoácido.

Otras variantes que pueden emplearse son aquellas que tienen una secuencia de aminoácidos que es idéntica al menos en un 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:4, y que presentan al menos una sustitución de aminoácido en una de las siguientes posiciones 3, 4, 99 y 199.

De manera especialmente preferente, una proteasa de este tipo presenta una secuencia de aminoácidos que es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 80 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:4 y que en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:4 presenta la sustitución de aminoácido R99E o R99D, así como, opcionalmente, de manera adicional, al menos una o dos, preferentemente las tres sustituciones de aminoácido S3T, V4I y V199I.

Preferentemente, una proteasa de este tipo presenta una secuencia de aminoácidos que en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:4 presenta al menos una, preferentemente varias, en particular cada una de las siguientes sustituciones de aminoácido R99E/R99D, S3T, V4I y/o V199I y en todas las otras posiciones es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 % y 99 % en particular en un 100 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:4. Se prefiere especialmente una proteasa que presenta una secuencia de aminoácidos que puede obtenerse a partir de la secuencia de aminoácidos con la SEQ ID NO:4 mediante una o varias de las sustituciones de aminoácido R99E/R99D, S3T, V4I y V199I de

acuerdo con la numeración según la SEQ ID NO:4. Una proteasa de este tipo puede presentar la secuencia de aminoácidos indicada en una de las SEQ ID NO:7-8.

De acuerdo con la invención se prefiere especialmente emplear una combinación con una primera y una segunda proteasa. Como primera proteasa se emplea a este respecto en particular una variante de la proteasa con la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO:3, preferentemente una variante tal como se describe anteriormente, que presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:3. En una forma de realización esta primera proteasa es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3 y comprende cuatro o de manera muy especialmente preferente 5 de las sustituciones de aminoácido seleccionadas de S9R, A15T, V66A, N212D y Q239R con respecto a la numeración según la SEQ ID NO:3. De manera muy especialmente preferente, la primera proteasa es una proteasa con la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO:5.

La segunda proteasa se selecciona de las restantes que se han descrito anteriormente. Combinaciones preferidas son aquellas de la proteasa con la SEQ ID NO:5 con una de las proteasas con las secuencias de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO. 6-8.

En distintas formas de realización se emplean combinaciones de dos proteasas en una relación en masa en cada caso con respecto a proteína activa de 10:1 a 1:10, preferentemente de 5:1 a 1:5, en particular de 3:1 a 1:1, por ejemplo 2:1.

Sorprendentemente, las combinaciones descritas en el presente documento de distintas amilasas y al menos una proteasa muestran la propiedad de mejorar el poder de los agentes de limpieza, preferentemente del agente para lavado de la vajilla llevando estas a un poder de limpieza mejorado sobre suciedades resistentes, por ejemplo quemadas. El aumento del borde de limpieza puede observarse también a bajas temperaturas, es decir temperaturas que son menores que las usadas habitualmente en procedimientos de lavado de la vajilla, tal como se define anteriormente. Esto permite llevar a cabo el procedimiento de limpieza, preferentemente el procedimiento de lavado de la vajilla automático a temperaturas más bajas, y a pesar de ello mantener un buen poder de limpieza.

A este respecto, por regla general por la mejora del poder de limpieza se entiende que en el caso del uso de los agentes de limpieza descritos en el presente documento, en particular de los agentes para el lavado de la vajilla, la eliminación de suciedades, en particular suciedades quemadas, sobre superficies duras, en particular vajilla, en los que la limpieza se ha mejorado considerablemente preferentemente en una máquina lavavajillas automática en comparación con el uso de agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla que no contienen las combinaciones de enzimas descritas en el presente documento.

Las enzimas que van a emplearse pueden estar confeccionadas asimismo junto con impurezas, por ejemplo de la fermentación, o con estabilizadores.

Los agentes de limpieza, en particular agentes para el lavado de la vajilla, contienen cualquier amilasa y dado el caso también cualquier proteasa preferentemente en cada caso en una cantidad de la proteína activa respectiva del 1×10^{-8} al 5 % en peso con respecto al peso total del agente. Preferentemente las enzimas están contenidas en cada caso del 0,001 al 2 % en peso, más preferentemente del 0,005 al 1,5 % en peso, aún más preferentemente del 0,0075 al 1 % en peso y de manera especialmente preferente del 0,01 al 0,6 % en peso de proteína activa en estos agentes.

En formas de realización especialmente preferidas, en los agentes descritos en el presente documento, la primera amilasa se emplea en una cantidad total de la proteína activa con respecto al peso total del agente de limpieza del 0,01 al 1 % en peso, preferentemente del 0,025 al 0,6 % en peso. De igual manera, preferentemente la segunda amilasa se emplea en una cantidad total de la proteína activa del 0,005 al 0,6 % en peso, preferentemente de 0,0075 al 0,2 % en peso.

Como primera amilasa se emplea preferentemente del 0,01 al 1 % en peso, preferentemente del 0,025 al 0,6 % en peso de una amilasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 80 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:1 y opcionalmente presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 172, 202, 208, 255 y 261 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:1, en particular seleccionada del grupo que consiste en M202L, M202V, M202S, M202T, M202I, M202Q, M202W, S255N y R172Q, y como segunda amilasa del 0,005 al 0,6 % en peso, preferentemente del 0,0075 al 0,2 % en peso de una amilasa, que presenta una secuencia de aminoácidos que es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos un 8 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:2 y en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:2 presenta sustituciones de aminoácido en tres o más de las posiciones 9, 26, 149, 182, 186, 202, 257, 295, 299, 323, 339 y 345 y opcionalmente una o varias, preferentemente todas, las sustituciones y/o deleciones en las posiciones 118, 183, 184, 195, 320 y 458, de manera especialmente preferente R118K, D183*, G184*, N195F, R320K y/o R458K y en todas las demás posiciones es idéntica a lo largo de su longitud total en un 100 % a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:2.

En la combinación descrita anteriormente de primera y segunda amilasa se emplea asimismo al menos una proteasa, aún más preferentemente una primera y una segunda proteasa. Como primera proteasa se emplea a este respecto en particular una variante de la proteasa con la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO:3, preferentemente una variante tal como se describe anteriormente que presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:3. En una forma de realización, esta primera proteasa es idéntica a lo largo de su longitud total en al menos el 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3 y comprende cuatro o de manera muy especialmente preferente 5 de las sustituciones de aminoácido seleccionadas de S9R, A15T, V66A, N212D y Q239R con respecto a la numeración según la SEQ ID NO:3. De manera muy especialmente preferente la primera proteasa es una proteasa con la secuencia de aminoácidos según la SEQ ID NO:5.

Siempre que esté contenida también una segunda proteasa, esta se selecciona preferentemente de las proteasas con las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEQ ID NO. 6-8.

En formulaciones líquidas las enzimas se emplean preferentemente como formulación/formulaciones líquida(s) de enzima.

La concentración de proteína puede determinarse con ayuda de métodos conocidos por ejemplo el procedimiento BCA (ácido bicinconínico; ácido 2,2'-biquinolil-4,4'-dicarboxílico) o el procedimiento de Biuret. La determinación de la concentración de proteína activa tiene lugar a este respecto a través de una titulación de los centros activos con el uso de un inhibidor irreversible adecuado (para proteasas por ejemplo fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF)) y determinación de la actividad residual (véase M. Bender *et al*., J. Am. Chem. Soc. 88, 24 (1966), páginas 5890-5913).

Las enzimas, en particular las amilasas y proteasas descritas en el presente documento, pueden protegerse especialmente durante el almacenamiento frente a daños tales como por ejemplo inactivación, desnaturalización o descomposición por ejemplo por influencias físicas, oxidación o escisión proteolítica. En el caso de una obtención microbiana se prefiere especialmente una inhibición de la proteólisis. Los medios descritos pueden contener para este fin estabilizadores.

Las enzimas activas en la limpieza no se proporcionan por regla general en forma de la proteína pura sino más bien en forma de preparaciones estabilizadas que pueden almacenarse y transportarse. Entre estas preparaciones preconfeccionadas figuran por ejemplo las preparaciones sólidas obtenidas mediante granulación, extrusión o liofilización o, en particular en el caso de agentes líquidos o en forma de gel, soluciones de las enzimas, de manera ventajosa lo más concentradas posible, de bajo contenido en agua y/o mezcladas con estabilizadores o coadyuvantes adicionales.

Como alternativa, las enzimas pueden encapsularse tanto para la forma de administración sólida como para la forma de administración líquida, por ejemplo mediante liofilización o extrusión de la solución de enzima junto con un polímero preferentemente natural o en forma de cápsulas, por ejemplo aquellas en las que las enzimas están incluidas como en un gel rígido o en aquellas de tipo núcleo envuelta, en las que un núcleo que contiene enzima está recubierto con una capa protectora impermeable al agua, aire y/o productos químicos. En capas superpuestas pueden aplicarse adicionalmente otros principios activos, por ejemplo estabilizadores, emulsionantes, pigmentos, blanqueantes o colorantes. Las cápsulas de este tipo se aplican según métodos en sí conocidos, por ejemplo mediante granulación por sacudida o rodadura o en procesos de lecho fluidizado. Ventajosamente los granulados de este tipo por ejemplo debido a la aplicación de agentes filmógenos poliméricos, tienen bajo contenido en polvo y son estables en almacenamiento debido al recubrimiento.

Además es posible confeccionar conjuntamente dos o varias enzimas, de modo que un granulado individual presenta varias actividades enzimáticas.

Tal como es evidente a partir de las realizaciones anteriores, la enzima-proteína forma solamente una fracción del peso total de las preparaciones de enzima habituales. Las preparaciones de enzima empleadas preferentemente contienen entre el 0,1 y el 40 % en peso, preferentemente entre el 0,2 y el 30 % en peso, de manera especialmente preferente entre el 0,4 y el 20 % en peso y en particular entre el 0,8 y el 15 % en peso de la proteína de enzima. Los agentes descritos contienen preparaciones de enzima de este tipo por lo tanto preferentemente en una cantidad de en cada caso el 0,1 al 10 % en peso, preferentemente del 0,2 al 5 % en peso con respecto al agente total.

Los agentes de limpieza descritos en el presente documento, en particular los agentes para el lavado de la vajilla a máquina preferidos pueden ser de naturaleza sólida o líquida y encontrarse en particular como sólidos en forma de polvo, en forma de partículas compactadas posteriormente, como soluciones o suspensiones homogéneas. En otra forma de realización preferida de la invención, el agente para el lavado de la vajilla a máquina se encuentra en una forma porcionada previamente. En otra forma de realización preferida de la invención, el agente para el lavado de la vajilla a máquina presenta varias composiciones separadas una de otra en el espacio, mediante lo cual es posible separar entre sí ingredientes no compatibles, u ofrecer composiciones en combinación que se emplean en diferentes momentos en la máquina lavavajillas. Esto es especialmente ventajoso cuando los agentes para el lavado de la vajilla

a máquina se encuentran en forma porcionada previamente. A este respecto, al menos una de las composiciones puede encontrarse sólida y/o al menos una de las composiciones puede encontrarse líquida, estando contenidas las amilasas y opcionalmente también proteasas en al menos una de las composiciones, pero pudiendo encontrarse también en varias composiciones.

Preferentemente los agentes que se describen en el presente documento contienen al menos un constituyente adicional, en particular al menos dos constituyentes adicionales, seleccionados del grupo que consiste en sustancias soporte, tensioactivos, polímeros, blanqueantes, catalizadores del blanqueo, activadores del blanqueo, enzimas no proteasa y no amilasa, inhibidores de la corrosión e inhibidores de la corrosión vítrea, adyuvantes de disgregación, sustancias olorosas y soportes de perfume.

A continuación se describen ingredientes posibles que pueden emplearse ventajosamente en los agentes de limpieza descritos en el presente documento, en particular agentes para el lavado de la vajilla, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla a máquina.

Ventajosamente pueden emplearse sustancias soporte. Entre estos adyuvantes figuran en particular las zeolitas, silicatos, carbonatos, coadyuvantes orgánicos y cuando no existan objeciones ecológicas contra su uso, también los fosfatos.

En los agentes descritos en el presente documento pueden emplearse silicatos en forma de capa cristalinos. Tales agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina contienen preferentemente un porcentaje en peso de silicato estratificado cristalino del 0,1 al 20 % en peso, preferentemente del 0,2 al 15 % en peso y en particular del 0,4 al 10 % en peso, en cada caso con respecto al peso total de estos agentes.

También es posible un uso de los fosfatos conocidos en general como sustancias adyuvantes, siempre que no deba evitarse un uso de este tipo por motivos ecológicos. Entre la multitud de los fosfatos comercialmente disponibles, los fosfatos de metal alcalino tienen la mayor importancia, en la industria de los agentes de lavado o de limpieza con especial preferencia de trifosfato de pentasodio o pentapotasio (polifosfato de sodio o potasio).

Fosfatos de metal alcalino es a este respecto la denominación conjunta para las sales de metal alcalino (en particular sodio y potasio) de los distintos ácidos fosfóricos, en los que pueden diferenciarse ácidos metafosfóricos $(HPO_3)_n$ y ácido ortofosfórico H_3PO_4 además de representantes de mayor peso molecular. Los fosfatos reúnen a este respecto varias ventajas: actúan como soporte alcalino, impiden depósitos de cal sobre las piezas de la máquina o incrustaciones de cal en tejidos y contribuyen sobre todo al poder de limpieza.

Los fosfatos especialmente importantes desde el punto de vista industrial son el trifosfato de pentasodio, $Na_5P_3O_{10}$ (tripolifosfato de sodio) así como la sal de potasio correspondiente trifosfato de pentapotasio $K_5P_3O_{10}$ (tripolifosfato de potasio). Preferentemente pueden emplearse los tripolifosfatos de sodio-potasio.

Si en el marco de la presente solicitud se emplean fosfatos como sustancias activas en el lavado o la limpieza en los agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular en agentes para el lavado de la vajilla a máquina, entonces los agentes preferidos contienen este fosfato, fosfatos, preferentemente fosfato fosfatos de metal alcalino, de manera especialmente preferente trifosfato de pentasodio o pentapotasio (tripolifosfato de sodio o potasio), en cantidades del 5 al 80 % en peso, preferentemente del 15 al 75 % en peso y en particular del 20 al 70 % en peso, en cada caso con respecto al peso del agente de limpieza, preferentemente agente para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina. No obstante se prefiere que los agentes de limpieza descritos en el presente documento estén esencialmente libres de fosfatos, en particular de los fosfatos mencionados anteriormente.

"Libre de fosfato" tal como se usa en el presente documento significa que la composición en cuestión está esencialmente libre de fosfatos, es decir en particular fosfatos en cantidades inferiores al 0,1 % en peso, preferentemente inferiores al 0,01 % en peso con respecto a la composición total. Siempre que, por el contrario, estén contenidos fosfatos, estos se emplean preferentemente en cantidades que no corresponden a más de 0,3 g/aplicación. La expresión g por aplicación (g/aplicación) significa la cantidad empleada del principio activo en relación con el peso total del agente empleado para un ciclo de limpieza completo (es decir para agentes para el lavado de la vajilla a máquina la cantidad total de agente de limpieza empleada en un programa de limpieza completo de una máquina lavavajillas. En el caso de los agentes de limpieza porcionados previamente (preferentemente agentes para el lavado de la vajilla a máquina) este dato es la cantidad de la sustancia activa en gramos con respecto al peso total del agente de limpieza porcionado previamente. El término "fosfatos" tal como se usa en este contexto, no incluye los fosfonatos descritos a continuación.

Otras sustancias soporte son los soportes alcalinos. Como soportes alcalinos sirven por ejemplo hidróxidos de metal alcalino, carbonatos de metal alcalino, hidrogenocarbonatos de metal alcalino, sesquicarbonatos de metal alcalino, los silicatos alcalinos mencionados, metasilicatos alcalino y mezclas de las sustancias mencionadas anteriormente, pudiendo emplearse en el sentido de esta invención preferentemente los carbonatos alcalinos, en particular carbonato

de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o sesquicarbonato de sodio. Se prefiere especialmente un sistema de adyuvante que contiene una mezcla de tripolifosfato y carbonato de sodio. Asimismo se prefiere especialmente un sistema de adyuvante que contiene una mezcla de tripolifosfato y carbonato de sodio y disilicato de sodio. Debido a su baja compatibilidad química en comparación con otras sustancias adyuvantes con los ingredientes restantes de los agentes de limpieza, en particular agentes para el lavado de la vajilla, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla a máquina, los hidróxidos de metal alcalino opcionales se emplean preferentemente solo en pequeñas cantidades o no se emplean en absoluto.

Se prefiere especialmente el uso de carbonato(s) y/o hidrogenocarbonato(s), preferentemente carbonato(s) de metal alcalino, de manera especialmente preferente carbonato de sodio, en cantidades del 2 al 50 % en peso, preferentemente del 5 al 40 % en peso y en particular del 7,5 al 30 % en peso, en cada caso con respecto al peso del agente, preferentemente del agente para el lavado de la vajilla a máquina. Se prefieren especialmente agentes que con respecto al peso del agente para el lavado de la vajilla a máquina contienen menos del 20 % en peso, preferentemente menos del 17 % en peso, preferentemente menos del 13 % en peso y en particular menos del 9 % en peso de carbonato(s) y/o hidrogenocarbonato(s), preferentemente carbonato(s) de metal alcalino, de manera especialmente preferente carbonato de sodio.

Como coadyuvantes orgánicos se mencionan en particular policarboxilatos/ácidos policarboxílicos, policarboxilatos polímeros, ácido aspártico, poliacetales, dextrinas, coadyuvantes orgánicos adicionales así como fosfonatos. Estas clases de sustancias se describen a continuación.

Sustancias de soporte orgánicas útiles son por ejemplo los ácidos policarboxílicos que pueden emplearse en forma del ácido libre y/o sus sales de sodio, entendiéndose por ácidos policarboxílicos aquellos ácidos carboxílicos que portan más de una función ácido. Estos son por ejemplo ácido cítrico, ácido adípico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido málico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido fumárico, ácidos sacáricos, ácido nitrilotriacético (NTA), siempre que no se rechace un uso de este tipo por motivos ecológicos, así como mezclas de los mismos. Los ácidos libres tienen además de su efecto adyuvante normalmente también la propiedad de un componente de acidificación y sirven por lo tanto también para el ajuste de una media del valor de pH bajo y medio. En particular se menciona en este sentido ácido cítrico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido glucónico y cualquier mezcla de los mismos.

Como agente especialmente ventajoso descrito en el presente documento para el poder de limpieza y de aclarado ha resultado el uso de ácido cítrico y/o citratos en estos agentes. Se prefieren por lo tanto agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular preferentemente agentes para el lavado de la vajilla a máquina, caracterizados porque el agente contiene ácido cítrico o una sal del ácido cítrico y que el porcentaje en peso del ácido cítrico o de la sal del ácido cítrico asciende preferentemente a más del 10 % en peso, preferentemente más del 15 % en peso y en particular entre el 20 y el 40 % en peso.

Una clase significativa opcional de las sustancias soporte la representan los ácidos aminocarboxílicos y/o sus sales. Representantes especialmente preferidos de esta clase son ácido metilglicidindiacético (MGDA) o sus sales así como ácido glutamindiacético (GLDA) o sus sales o ácido etilendiaminodiacético o sus sales (EDDS). Asimismo son adecuados ácido iminodisuccínico (IDS) y ácido iminodiacético (IDA). El contenido en estos ácidos aminocarboxílicos o sus sales pueden constituir por ejemplo entre el 0,1 y el 15 % en peso, preferentemente entre el 0,5 y el 10 % en peso y en particular entre el 0,5 y el 6 % en peso. Ácidos aminocarboxílicos y sus sales pueden emplearse junto con las sustancias soporte mencionadas anteriormente, en particular también con las sustancias soporte libres de fosfato.

De acuerdo con la invención se emplean como sustancias soporte preferentemente sustancias soporte libres de fosfato, en particular seleccionados de citrato, GLDA y/o MGDA así como dado el caso EDDS y/o IDS.

Como sustancias de soporte son adecuados policarboxilatos poliméricos adicionales, estos son por ejemplo las sales de metal alcalino de la poli(ácido acrílico) o del poli(ácido metacrílico), por ejemplo aquellas con una masa molecular relativa de 500 a 70000 g/mol así como por ejemplo poliaspartatos y/o glutamatos, en cada caso o bien en posición alfa o bien enlazados en cadena lateral o sus copolímeros. Polímeros adecuados son en particular poliacrilatos que presentan preferentemente una masa molecular de 2000 a 20000 g/mol. Debido a su excelente solubilidad de este grupo pueden preferirse a su vez los poliacrilatos de cadena corta que presentan masas moleculares de 2000 a 10000 g/mol y de manera especialmente preferente de 3000 a 5000 g/mol.

Son adecuados además policarboxilatos copoliméricos, en particular aquellos del ácido acrílico con ácido metacrílico y del ácido acrílico o ácido metacrílico con ácido maleico.

Los policarboxilatos (co)poliméricos pueden emplearse o bien como polvo o bien como solución acuosa. El contenido de los agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina en policarboxilatos (co)poliméricos asciende preferentemente a del 0,5 al 20 % en peso y en particular del 3 al 10 % en peso.

Para mejorar la solubilidad en agua, los polímeros pueden contener también ácidos arilsulfónicos, tales como por ejemplo ácido aliloxibencenosulfónico y ácido metalilsulfónico, como monómero. Copolímeros preferidos adicionales

son aquellos que como monómeros presentan acroleína y ácido acrílico/sales de ácido acrílico o acroleína y acetato de vinilo.

Los agentes de limpieza pueden contener como sustancia soporte en particular también fosfonatos. Como compuesto de fosfonato se emplea preferentemente un fosfonato de hidroxialcano y/o aminoalcano. Entre los fosfonatos de hidroxialcano es de particular importancia 1,1-difosfonato de 1-hidroxietano (HEDP). Como fosfonatos de aminoalcano se tienen en cuenta preferentemente fosfonato de etilendiaminotetrametileno (EDTMP), fosfonato de dietilentriaminopentametileno (DTPMP) así como sus homólogos superiores. Los fosfonatos están contenidos en los agentes preferentemente en cantidades del 0,1 al 10 % en peso, en particular en cantidades del 0,5 al 8 % en peso, en cada caso con respecto al peso total del agente de limpieza.

Además pueden emplearse todos los compuestos que pueden formar complejos con iones alcalinotérreos, como sustancias soporte.

Los agentes descritos en el presente documento pueden contener tensioactivos, perteneciendo al grupo de los tensioactivos los tensioactivos no iónicos, los aniónicos, los catiónicos y los anfóteros.

Como tensioactivos no iónicos pueden emplearse todos los tensioactivos no iónicos conocidos por el experto. Como tensioactivos no iónicos son adecuados por ejemplo alquilglicósidos de fórmula general $RO(G)_x$, en la que R corresponde a un resto alifático primario de cadena lineal o ramificado con metilo, en particular ramificado con metilo en posición 2 con 8 a 22, preferentemente 12 a 18 átomos de C y G es el símbolo que representa una unidad glicosídica con 5 o 6 átomos de C, preferentemente representa glucosa. El grado de oligomerización x que indica la distribución de monoglicósidos y oligoglicósidos, es un número cualquiera entre 1 y 10, preferentemente x es de 1,2 a 1,4.

Una clase adicional de tensioactivos no iónicos que pueden emplearse preferentemente, que pueden emplearse o bien como único tensioactivo no iónico o en combinación con otros tensioactivos no iónicos, son ésteres alquílicos de ácido graso alcoxilados, preferentemente etoxilados o etoxilados y propoxilados, preferentemente con 1 a 4 átomos de carbono en la cadena de alquilo.

También pueden ser adecuados tensioactivos no iónicos del tipo de los aminóxidos, por ejemplo N-cocoalquil-N,N-dimetilaminóxido y N-seboalquil-N,N-dihidroxietilaminóxido, y de las alcanolamidas de ácido graso. La cantidad de estos tensioactivos no iónicos asciende preferentemente a no más que la cantidad de los alcoholes grasos etoxilados, en particular a no más de la mitad de la misma.

Tensioactivos adecuados adicionales son las amidas de ácido polihidroxigraso conocidas como PHFA.

Como tensioactivos preferidos pueden emplearse tensioactivos no iónicos de espumación débil. Con especial preferencia los agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina contienen tensioactivos no iónicos del grupo de los alcoholes alcoxilados. Como tensioactivos no iónicos se emplean preferentemente alcoholes alcoxilados, ventajosamente etoxilados, en particular primarios con preferentemente 8 a 18 átomos de C y un promedio de 1 a 12 moles de óxido de etileno (OE) por mol de alcohol. En los que el resto alcohol puede ser lineal o preferentemente ramificado con metilo en posición 2 o puede contener restos lineales y ramificados con metilo en mezcla, tal como se encuentran habitualmente en los restos oxoalcohol. En particular se prefieren sin embargo etoxilatos de alcohol con restos lineales de alcoholes de origen nativo con 12 a 18 átomos de C, por ejemplo de alcohol de coco, de palma, de grasa de sebo u oleílico, y en promedio de 2 a 8 moles de OE por mol de alcohol. A los alcoholes etoxilados preferidos pertenecen por ejemplo alcoholes C_{12-14} con 3 OE o 4 OE, alcoholes C_{9-11} con 7 OE, alcohol C_{13-15} con 3 OE, 5 OE, 7 OE u 8 OE, alcoholes C_{12-18} con 3 OE, 5 OE o 7 OE y mezclas de los mismos tales como mezclas de alcohol C_{12-14} con 3 OE y alcohol C_{12-18} con 5 OE. Los grados de etoxilación indicados representan valores medios estadísticos que para un producto especial pueden corresponder a un número entero o un número fraccionario. Etoxilatos de alcohol preferidos presentan una distribución de homólogos estrecha (narrow range ethoxylates, NRE). Además de estos tensioactivos no iónicos pueden emplearse también alcoholes grasos con más de 12 OE. Ejemplos de ellos son alcohol de grasa de sebo con 14 OE, 25 OE, 30 OE o 40 OE.

En particular se prefieren tensioactivos no iónicos que presentan un punto de fusión por encima de temperatura ambiente. Tensioactivo(s) no iónico(s) con un punto de fusión por encima de 20 °C, preferentemente por encima de 25 °C, de manera especialmente preferente entre 25 y 60 °C y en particular entre 26,6 y 43,3 °C es/son especialmente preferido(s).

Los tensioactivos que van a emplearse preferentemente proceden de los grupos de los tensioactivos no iónicos alcoxilados, en particular de los alcoholes primarios etoxilados.

Tensioactivos aniónicos pueden emplearse asimismo como constituyente de agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular de agentes para el lavado de la vajilla a máquina. A estos pertenecen en particular alquilbencenosulfonatos, (grasa)alquilsulfatos, (grasa)alquiletersulfatos así como alcanosulfonatos. El contenido de los agentes en tensioactivos aniónicos asciende habitualmente a del 0 al 10 % en peso.

En lugar de los tensioactivos mencionados o en relación con los mismos pueden emplearse también tensioactivos catiónicos y/o anfóteros. En los agentes de limpieza, en particular agentes para el lavado de la vajilla, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla a máquina, el contenido en tensioactivos catiónicos y/o anfóteros asciende preferentemente a menos del 6 % en peso, preferentemente menos del 4 % en peso, de manera muy especialmente preferente menos del 2 % en peso y en particular menos del 1 % en peso. Agentes que no contienen ningún tensioactivo catiónico o anfótero se prefieren especialmente.

Al grupo de los polímeros pertenecen en particular los polímeros activos en el lavado o la limpieza, por ejemplo los polímeros de aclarado y/o polímeros que actúan como ablandadores. En general, en agentes para el lavado de la vajilla a máquina pueden emplearse además de polímeros no iónicos también polímeros catiónicos, aniónicos y anfóteros.

"Polímeros catiónicos" en el sentido de la presente invención son polímeros que portan una carga positiva en la molécula de polímero. Esto puede realizarse por ejemplo mediante agrupaciones de (alquil)amonio presentes en la cadena de polímero u otros grupos con carga positiva. Polímeros catiónicos especialmente preferidos proceden de los grupos de los derivados de celulosa cuaternizados, de los polisiloxanos con grupos cuaternarios, de los derivados de guar catiónicos, de las sales de dimetildialilamonio poliméricas y sus copolímeros con ésteres y amidas de ácido acrílico y ácido metacrílico, de los copolímeros de la vinilpirrolidona con derivados cuaternizados del acrilato y metacrilato de dialquilamino, de los copolímeros de vinilpirrolidona-cloruro de metoimidazolinio, de los poli(alcoholes vinílicos) cuaternizados o de los polímeros indicados con las denominaciones INCI Polyquaternium 2, Polyquaternium 17, Polyquaternium 18 y Polyquaternium 27.

"Polímeros anfóteros" en el sentido de la presente invención presentan además de un grupo con carga positiva en la cadena de polímero además también grupos o unidades monoméricas con carga negativa. En el caso de estos grupos puede tratarse por ejemplo de ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos o ácidos fosfónicos.

Polímeros anfóteros que pueden emplearse preferidos proceden del grupo de los copolímeros de alquilacrilamida/ácido acrílico, de los copolímeros de alquilacrilamida/ácido metacrílico, de los copolímeros de alquilacrilamida/ácido metilmetacrílico, de los copolímeros de alquilacrilamida/ácido acrílico/ácido alquilaminoalquil(met)acrílico, de los copolímeros de alquilacrilamida/ácido metacrílico/ácido alquilaminoalquil(met)acrílico, de los copolímeros de alquilacrilamida/ácido metilmetacrílico/ácido alquilaminoalquil(met)acrílico, de los copolímeros de alquilacrilamida/metacrilato de alquilo/metacrilato de alquilaminoetilo/metacrilato de alquilo así como de los copolímeros de ácidos carboxílicos insaturados, ácidos carboxílicos insaturados derivatizados de manera catiónica y dado el caso monómeros iónicos o no iónicos adicionales.

Los polímeros zwiteriónicos que pueden emplearse preferentemente proceden del grupo de los copolímeros de cloruro de acrilamidoalquiltrialquilamonio/ácido acrílico así como sus sales de metal alcalino y amonio, de los copolímeros de cloruro de acrilamidoalquiltrialquilamonio/ácido metacrílico así como sus sales de metal alcalino y amonio y de los copolímeros de metacroiletilbetaína/metacrilato.

Los agentes de limpieza, en particular agentes para el lavado de la vajilla, preferentemente agentes para lavado de la vajilla a máquina, contienen los polímeros catiónicos y/o anfóteros mencionados anteriormente preferentemente en cantidades entre el 0,01 y el 10 % en peso en cada caso con respecto al peso total del agente para el lavado de la vajilla a máquina. En el contexto de la presente solicitud se prefieren sin embargo aquellos agentes para el lavado de la vajilla a máquina en los que el porcentaje en peso de los polímeros catiónicos y/o anfóteros asciende a entre el 0,01 y el 8 % en peso, preferentemente entre el 0,01 y el 6 % en peso, preferentemente entre el 0,01 y el 4 % en peso, de manera especialmente preferente entre el 0,01 y el 2 % en peso y en particular entre el 0,01 y el 1 % en peso en cada caso con respecto al peso total del agente para el lavado de la vajilla a máquina.

En los agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina, pueden emplearse asimismo blanqueantes. Entre los compuestos que sirven como blanqueante, que proporcionan H_2O_2 en agua, tienen especial importancia el percarbonato de sodio, el tetrahidrato de perborato de sodio y el monohidrato de perborato de sodio. Otros blanqueantes útiles son por ejemplo peroxipirofosfatos, perhidratos de citrato así como sales perácidas que proporcionan H_2O_2 o perácidos tales como perbenzoatos, peroxoftalatos, ácido diperazelaico, ftaloiminoperácido o ácido diperdodecanodioico. Pueden emplearse además todos los blanqueantes de peroxi inorgánicos u orgánicos conocidos adicionales por el experto en la materia por el estado de la técnica.

Como blanqueantes pueden emplearse también sustancias que liberan cloro o bromo. Entre los materiales que liberan cloro o bromo adecuados se tienen en cuenta por ejemplo N-bromo y N-cloramidas heterocíclicas, por ejemplo ácido tricloroisocianúrico, ácido tribromoisocianúrico, ácido dibromoisocianúrico y/o ácido dicloroisocianúrico (DICA) y/o sus sales con cationes tales como potasio y sodio. Compuestos de hidantoína tales como 1,3-dicloro-5,5-dimetilhidantoína son igualmente adecuados.

Se prefieren agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina que contienen del 1 al 35 % en peso, preferentemente del 2,5 al 30 % en peso, de manera especialmente preferente del 3,5 al 20 % en peso y en particular del 5 al 15 % en peso de blanqueante, preferentemente percarbonato de sodio.

Asimismo los agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes pera el lavado de la vajilla a máquina, pueden contener catalizadores del blanqueo. Los catalizadores del blanqueo que pueden emplearse incluyen pero sin limitarse al grupo de las sales de metal de transición que refuercen el blanqueo y complejos de metal de transición, preferentemente de los complejos de Mn, Fe, Co, Ru o Mo, de manera especialmente preferente del grupo del manganeso y/o sales y/o complejos de cobalto, en particular de los complejos de cobalto(amina), de los complejos de cobalto(acetato), de los complejos de cobalto(carbonilo), de los cloruros del cobalto o manganeso, del sulfato de manganeso y de los complejos del manganeso con 1,4,7-trimetil-1,4,7-triazaciclononano (Mn_3-TACN) o 1,2,4,7-tetrametil-1,4,7-triazaciclononano (Mn_4-TACN).

Se prefieren agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina, que contienen del 0,001 al 1 % en peso, preferentemente del 0,01 al 0,1 % en peso de catalizador de blanqueo, preferentemente un complejo de Mn, en particular un complejo del manganeso con 1,4,7-trimetil-1,4,7-triazaciclononano (Mn_3-TACN) o 1,2,4,7-tetrametil-1,4,7-triazaciclononano (Mn_4-TACN).

En distintas formas de realización de la invención, los agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina, contienen adicionalmente al menos un activador del blanqueo. Como activadores del blanqueo pueden emplearse compuestos que en condiciones de perhidrólisis proporcionan ácidos peroxocarboxílicos alifáticos con preferentemente 1 a 10 átomos de C, en particular de 2 a 4 átomos de C, y/o dado el caso ácido perbenzoico sustituido. De todos los activadores del blanqueo conocidos por el experto en la materia por el estado de la técnica se emplean de manera especialmente preferente alquilendiaminas poliaciladas, en particular tetraacetiletilendiamina (TAED), derivados de triazina acilados, en particular 1,5-diacetil-2,4-dioxohexahidro-1,3,5-triazina (DADHT), glicolurilos acilados, en particular tetraacetilglicolurilo (TAGU), N-acilimidas, en particular N-nonanoilsuccinimida (NOSI), fenolsulfonatos acilados, en particular n-nonanoil- o isononanoiloxibencenosulfonato (n- o iso-NOBS). También pueden emplearse combinaciones de activadores del blanqueo convencionales. Estos activadores del blanqueo se emplean preferentemente en cantidades hasta el 10 % en peso, en particular del 0,1 % en peso al 8 % en peso, especialmente del 2 al 8 % en peso y de manera especialmente preferente del 2 al 6 % en peso, en cada caso con respecto al peso total de los agentes que contienen activador del blanqueo.

Preferentemente los agentes de la presente invención contienen al menos una preparación de enzima adicional o composición de enzima, que contiene una o varias enzimas no amilasa y no proteasa. Tales enzimas comprenden sin limitarse a esto, lipasas, celulasas, hemicelulasas, manasas, enzimas de escisión de pectina, tanasas, xilanasas, xantanasas, β-glucosidasas, carragenasas, perhidrolasas, oxidasas, oxidorreductasas así como sus mezclas. Las enzimas preferidas comprenden en particular celulosas, lipasas, hemicelulasas, en particular pectinasas, mananasas, β-glucanasas así como sus mezclas. Se prefieren especialmente lipasas. Estas enzimas son en principio de origen natural; partiendo de las moléculas naturales se encuentran disponibles para el uso en los agentes de lavado o de limpieza variantes mejoradas que se emplean preferentemente de manera correspondiente.

Los datos con respecto a cantidades y formas de formulación dados en relación con las amilasas y proteasas empleadas son aplicables mutatis mutandis también a todas las otras enzimas descritas anteriormente.

Los inhibidores de la corrosión vítrea impiden la aparición de turbiedades, estrías y arañazos pero también el irisado de la superficie de vidrio de los vidrios lavados a máquina. Los inhibidores de la corrosión vítrea preferidos proceden del grupo de las sales de magnesio y zinc así como de los complejos de magnesio y zinc. En el contexto de la presente invención el contenido en sal de zinc en los agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina, preferentemente asciende a entre el 0,1 al 5 % en peso, preferentemente entre el 0,2 y el 4 % en peso y en particular entre el 0,4 y el 3 % en peso, o el contenido en zinc en forma oxidada (calculado como Zn^{2+}) a entre el 0,01 y el 1 % en peso preferentemente entre el 0,02 y el 0,5 % en peso y en particular entre el 0,04 y el 0,2 % en peso, en cada caso con respecto al peso total del agente que contiene inhibidor de la corrosión vítrea.

Para facilitar la descomposición de los cuerpos moldeados previamente fabricados, es posible incorporar agentes auxiliares de disgregación, los denominados adyuvantes de disolución de pastillas, para acortar los tiempos de descomposición. Por adyuvantes de disolución de pastillas o aceleradores de la descomposición se entienden sustancias auxiliares que proporcionan la rápida descomposición de las pastillas en agua u otros medios y proporcionan la liberación rápida de los principios activos. Los agentes auxiliares de disgregación pueden emplearse preferentemente en cantidades del 0,5 al 10 % en peso, preferentemente del 3 al 7 % en peso y en particular del 4 al 6 % en peso, en cada caso con respecto al peso total del agente que contiene agente auxiliar de disgregación.

Como aceites perfumados o sustancias olorosas pueden utilizarse en el contexto de la presente invención compuestos odoríferos individuales por ejemplo los productos sintéticos del tipo de los ésteres, éteres, aldehídos, acetonas,

alcoholes e hidrocarburos. Preferentemente se usan sin embargo mezclas de distintas sustancias odoríferas, que generan conjuntamente una nota de olor agradable. Tales aceites perfumados pueden contener también mezclas de sustancias odoríferas naturales, tal como se encuentran accesibles a partir de fuentes vegetales, por ejemplo aceite de pino, aceite cítrico, aceite de jazmín, aceite de pachuli, aceite de rosa o aceite de Ylang-Ylang.

La confección de agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina descritos en el presente documento puede tener lugar de diferente manera. Los agentes pueden encontrarse en formas de presentación sólida o líquida así como combinación de sólida y líquida. Como formas de presentación sólidas son adecuados en particular polvos, granulados, extruidos, compactados, en particular pastillas. Las formas de presentación líquidas a base de agua y/o disolventes orgánicos pueden encontrarse de manera espesa, en forma de geles. Los agentes que se describen en el presente documento pueden confeccionarse en forma de productos monofásicos o polifásicos.

Los agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina descritos en el presente documento se preconfeccionan preferentemente formando unidades de dosis. Estas unidades de dosis comprenden preferentemente la cantidad necesaria de sustancias activas en el lavado o la limpieza para un proceso de limpieza.

Los agentes de limpieza, preferentemente agentes para el lavado de la vajilla, en particular agentes para el lavado de la vajilla a máquina, en particular las unidades de dosis prefabricadas que se describen en el presente documento presentan con especial preferencia una envoltura soluble en agua.

La envoltura soluble en agua se forma preferentemente a partir de un material de lámina soluble en agua, que se selecciona del grupo que consiste en polímeros o mezclas de polímeros. La envoltura puede formarse por uno o por dos o más capas del material de lámina soluble en agua. El material de lámina soluble en agua de la primera capa y de las otras capas, en caso de que estén presentes, puede ser igual o diferente. Se prefieren especialmente láminas que pueden pegarse y/o sellarse por ejemplo para formar embalajes tales como tubos flexibles o almohadillas, después de haberse cargado con un agente.

Se prefiere que la envoltura soluble en agua contenga poli(alcohol vinílico) o un copolímero de poli(alcohol vinílico). Las envolturas solubles en agua que contienen poli(alcohol vinílico) o un copolímero de poli(alcohol vinílico), presentan una estabilidad adecuada con una solubilidad en agua suficientemente alta, en particular solubilidad en agua fría.

De manera especialmente preferente las unidades de dosis prefabricadas se forman por una envoltura soluble en agua de una cantidad de porción correspondiente de composición de acuerdo con la invención, la unidad de dosis prefabricada comprende por lo tanto preferentemente un agente de acuerdo con la invención así como una envoltura, embalaje soluble en agua.

En el caso de las envolturas/embalajes solubles en agua se trata preferentemente de cuerpos sometidos a embutición profunda o cuerpos sometidos a fundición inyectada.

Los recipientes/envolturas/embalajes solubles en agua pueden producirse también mediante fundición inyectada. Fundición inyectada designa a este respecto la conformación de una masa de moldeo de tal manera que la masa contenida en un cilindro de masa para más de un proceso de fundición inyectada se reblandece de manera plástica bajo la opción de calor y bajo presión entra a través de una boquilla en la cavidad de una herramienta cerrada previamente. El procedimiento se emplea principalmente en masas de moldeo no endurecibles, que solidifican la herramienta mediante enfriamiento. La función inyectada es un procedimiento moderno muy económico para la producción de objetos conformados sin virutas y es adecuado especialmente para la fabricación en masa automatizada. En el funcionamiento práctico se calientan las masas de moldeo termoplásticas (polvos, granos, dados, pastas, entre otros) hasta la licuefacción (a 180 °C) y se inyecta entonces bajo alta presión (hasta 140 MPa) en moldes huecos cerrados, de dos piezas, es decir que se componen de estampa (anteriormente matriz) y núcleo (anteriormente punzón), preferentemente enfriados con agua, donde se enfrían y solidifican. Pueden emplearse máquinas de fundición inyectada de pistón y de husillo.

Tales cuerpos moldeados pueden presentar asimismo una, dos, tres o varias cámaras y estar cargados con composiciones líquidas y/o sólidas, de las que una de las composiciones es una de las composiciones de acuerdo con la invención. Es por ejemplo posible cerrar las cámaras por el lado abierto o bien con un segundo cuerpo moldeado por inyección o con una o varias láminas solubles en agua (en particular tal como se describe en el presente documento). De este modo puede controlarse la liberación de las composiciones que se encuentran en la cámara de cualquier forma después del punto de liberación deseado. O bien todo el agente puede liberarse de una sola vez (o bien directamente al comienzo del ciclo de limpieza o bien en un instante determinado en el transcurso del ciclo de limpieza) o bien mediante una variación de la composición de lámina para determinar, desde distintos instantes entre sí dentro del ciclo de la máquina lavavajillas (por ejemplo en función de la temperatura del agua de lavado).

Las láminas solubles en agua adecuadas para la producción de la envoltura soluble en agua se basan preferentemente en un poli(alcohol vinílico) o un copolímero de poli(alcohol vinílico), cuyo peso molecular se encuentra en el intervalo

de 10.000 a 1.000.000 $gmol^{-1}$, preferentemente de 20.000 a 500.000 $gmol^{-1}$, de manera especialmente preferente de 30.000 a 100.000 $gmol^{-1}$ y en particular de 40.000 a 80.000 $gmol^{-1}$.

La producción de poli(alcohol vinílico) tiene lugar habitualmente mediante hidrólisis de poli(acetato de vinilo), dado que la ruta de síntesis directa no es posible. Algo similar es válido para copolímeros de poli(alcohol vinílico), que se producen a partir de copolímeros de poli(acetato de vinilo) correspondientemente. Se prefiere cuando al menos una capa de la envoltura soluble en agua comprende poli(alcohol vinílico), cuyo grado de hidrólisis constituye del 70 al 100 % en moles, preferentemente del 80 al 90 % en moles, de manera especialmente preferente del 81 al 89 % en moles y en particular del 82 al 88 % en moles.

A un material de lámina que contiene poli(alcohol vinílico) adecuado para la producción de la envoltura soluble en agua puede añadirse un polímero seleccionado del grupo que comprende (co)polímeros que contienen ácido (met)acrílico, poliacrilamidas, polímeros de oxazolina, poli(sulfonatos de estireno), poliuretanos, poliésteres, poliéteres, poli(ácido láctico) o mezclas de los polímeros anteriores. Un polímero adicional preferido son poli(ácidos lácticos).

Los copolímeros de poli(alcohol vinílico) preferidos comprenden, además de alcohol vinílico ácidos dicarboxílicos como monómeros adicionales. Ácidos dicarboxílicos adecuados son ácido itacónico, ácido malónico, ácido succínico y mezclas de los mismos, prefiriéndose ácido itacónico.

Los copolímeros de poli(alcohol vinílico) asimismo preferidos comprenden además de alcohol vinílico un ácido carboxílico etilénicamente insaturado, su sal o sus ésteres. De manera especialmente preferente, los copolímeros de poli(alcohol vinílico) de este tipo contiene, además de alcohol vinílico ácido acrílico, ácido metacrílico, éster de ácido acrílico, éster de ácido metacrílico o mezclas de los mismos.

Puede preferirse que el material de lámina contenga aditivos adicionales. El material de lámina puede contener por ejemplo plastificantes tales como dipropilenglicol, etilenglicol, dietilenglicol, propilenglicol, glicerol, sorbitol, manitol o mezclas de los mismos. Otros aditivos comprenden por ejemplo agentes auxiliares de liberación, agentes de relleno, agentes de reticulación, tensioactivos, agentes antioxidantes, absorbedores UV, agentes antibloqueo, agentes antiadhesivos o mezclas de los mismos.

Láminas solubles en agua adecuadas para su uso en las envolturas solubles en agua de los embalajes solubles en agua de acuerdo con la invención son láminas que se comercializan por la empresa MonoSol LLC por ejemplo con el nombre M8630, C8400 o M8900. Otras láminas adecuadas comprenden láminas con el nombre Solublon® PT, Solublon® GA, Solublon® KC o Solublon® KL de Aicello Chemical Europe GmbH o las láminas VF-HP de Kuraray.

El uso correspondiente de los agentes que se describen en el presente documento es asimismo objeto de la invención. Asimismo, la invención se refiere a un procedimiento para el lavado de la vajilla, en particular procedimiento para el lavado de la vajilla a máquina, en el que se emplea un agente de acuerdo con la invención. Por lo tanto, es objeto de la presente solicitud además un procedimiento para la limpieza de vajilla en una máquina lavavajillas, en el que el agente durante el transcurso de un programa de lavado de la vajilla se dosifica antes del comienzo del paso de lavado principal o en el transcurso del paso de lavado principal en el espacio interior de una máquina lavavajillas. La dosificación o la entrada del agente en el espacio interior de la máquina lavavajillas puede tener lugar manualmente, preferentemente, el agente se dosifica sin embargo por medio de la cámara de dosificación en el espacio interior de la máquina lavavajillas. En distintas formas de realización de la invención, en los procedimientos de lavado de la vajilla de este tipo, la temperatura (de lavado) es preferentemente de 50 °C o inferior, de manera especialmente preferente de 45 °C o inferior, aún más preferentemente de 40°C o inferior.

Por último, la invención se refiere también al uso de las combinaciones de enzimas que se describen en el presente documento para la mejora del poder de limpieza, en particular del poder de limpieza sobre suciedades sensibles a enzimas, de un agente de limpieza, en particular de un agente para el lavado de la vajilla, preferentemente de un agente para el lavado de la vajilla a máquina. Todas las combinaciones de enzimas descritas en el presente documento en relación con los agentes de limpieza divulgados en el presente documento como formas de realización particulares pueden emplearse asimismo en los procedimientos y usos descritos.

Una formulación básica típica para un agente para el lavado de la vajilla a máquina que puede emplearse preferentemente, por ejemplo en forma de pastilla, comprende las siguientes sustancias:

tripolifosfato de Na	20-50 % en peso
carbonato de sodio	10-30 % en peso
percarbonato de sodio	5-18 % en peso
activador del blanqueo	0,5-5 % en peso
catalizador del blanqueo	0,01-1 % en peso
sulfopolímero	2,5-15 % en peso
policarboxilato	0,1-10 % en peso
tensioactivo no iónico	0,5-10 % en peso
fosfonato	0,5-5 % en peso

proteasas	0,1-5 % en peso
amilasas	0,1-5 % en peso,

refiriéndose los datos en % en peso en cada caso al agente total. En lugar de una parte del tripolifosfato, en la formulación puede emplearse en particular también el 10-50 % en peso de citrato o MGDA o GLDA o EDDS o mezclas de dos o tres de estas sustancias.

Ejemplos

Ejemplo 1: Mejora del poder de amilasa en el lavado de la vajilla automático

Tabla 1: Composición del agente para el lavado de la vajilla a máquina

	Base
Tripolifosfato (% en peso)	35,9
Carbonato de sodio (% en peso)	12,2
Fosfonato (% en peso)	2,4
Polímero que contiene grupos ácido sulfónico (% en peso)	7,9
Poliacrilato (% en peso)	4,6
Tensioactivos no iónicos (% en peso)	6,1
Percarbonato (% en peso)	14,6
TAED (% en peso)	2,3
Catalizador del blanqueo (% en peso)	1,0
Policarboxilato (% en peso)	1,5
Silicato de sodio/policarboxilato (% en peso)	3,9
Acetato de zinc (% en peso)	0,2
Resto (perfume, colorantes, proteasa o mezcla de proteasas, etc.) (% en peso)	hasta 100

Poder de limpieza sobre suciedades de espaguetis

En una máquina lavavajillas Bosch se lavaron a 40 °C (programa "normal") y 21°dH de dureza del agua, platos de porcelana con una suciedad de espaguetis con una pastilla de agente para el lavado de la vajilla sólida (20 g; composición, véase la Tabla 1) con dos amilasas individuales (Ensayos comparativos C1, C2) o combinación de amilasas (M1).

Después de cada ciclo de lavado se determinó el poder de limpieza visualmente según IKW (valoración de 1-10, cuanto mayor es el valor, mejor es el rendimiento, diferencias de al menos 1 son significativas). Los resultados para las formulaciones sometidas a prueba están enumerados en la Tabla 2 como valores de media aritmética de 3 determinaciones.

Para la formulación de acuerdo con la Tabla 1 se añadieron (en cada caso con respecto a la cantidad de la proteína de enzima) o bien 50 mg/aplicación de amilasa 1 (C1) o 5 mg/aplicación o amilasa 2 (C2) o su mezcla (M1, 25 mg/aplicación de amilasa 1 y 2,5 mg/aplicación de amilasa 2).

Tabla 2: Poder de limpieza sobre espaguetis

Amilasa/combinación de amilasas	Espaguetis
M1:	3,8
C1:	2,8
C2:	2,2
C1: base + 50 mg/aplicación de 1ª amilasa (enzima de acuerdo con la SEQ ID NO:1 con las sustituciones de aminoácido M202L, S255N y R172Q) C2: base + 5 mg/aplicación de 2ª amilasa con respecto a proteína activa (Stainzyme Plus™) M1: base + mezcla de las enzimas de acuerdo con C1 y C2 (25 mg/aplicación de amilasa 1 y 2,5 mg/aplicación de amilasa 2, en cada caso con respecto a la cantidad de proteína activa).	

De la Tabla 2 se desprende de manera inequívoca que la combinación de las dos amilasas distintas lleva a una clara mejora del poder de limpieza (M1).

Ejemplo 2: Poder de limpieza en agentes para el lavado de la vajilla libres de fosfato

En una máquina lavavajillas Miele GSL se lavaron a 50 °C (programa "normal") y 21°dH y en una máquina lavavajillas Bosch SMS68M62 a 40 °C (programa "suave 40") y 21°dH, platos de porcelana con una suciedad de té (Assam, BOP, Lipton), carne picada, yema de huevo, espaguetis, almidón y *Creme Brûlée* con una pastilla de agente para el lavado de la vajilla sólida. Para la formulación de acuerdo con la Tabla 3 se añadieron distintas enzimas en las cantidades indicadas (mg de proteína activa/aplicación) (C1-c6: Ensayos comparativos; I1-I3: de acuerdo con la invención):

	mg de proteasa 1	mg de proteasa 2	mg de amilasa 1	mg de amilasa 2
C1	50	25	0	5
C2	80	0	0	5
C3	0	80	0	5
C4	80	0	50	0
C5	0	80	50	0
C6	50	25	50	0
I1	80	0	25	2,5
I2	50	25	25	2,5
I3	0	80	25	2,5
Proteasa 1: enzima de acuerdo con la SEQ ID NO:6 Proteasa 2: enzima de acuerdo con la SEQ ID NO:7 Amilasa 1: enzima de acuerdo con la SEQ ID NO:1 con las sustituciones de aminoácido M202L, S255N y R172Q Amilasa 2: Stainzyme Plus™				

Tabla 3: Composición del agente para el lavado de la vajilla a máquina en % en peso de sustancia activa

	Base
Citrato de Na	20
MGDA	16
Fosfonato	5
Sosa	15
Percarbonato de Na	15
Polímero que contiene grupos ácido sulfónico	8
Poliacrilato	0,5
Tensioactivos no iónicos	7
TAED	3
Catalizador del blanqueo	1
Acetato de zinc	0,2
Sulfato de Na	0,5
PEG 4000	0,5
Resto (agente de ajuste de pH, perfume, colorantes etc.)	hasta 100

El poder de limpieza se determinó visualmente según IKW (valoración de 1-10, cuanto mayor es el valor, mejor es el rendimiento, diferencias de al menos 1 son significativas). Los resultados para las formulaciones sometidas a prueba están enumerados en la Tabla 4 como valores medios aritméticos. Valores más altos significan un mejor poder de limpieza.

Tabla 4: Suma del poder de limpieza de distintas suciedades:

Combinaciones de enzimas (50°C)	
C1	65,1
C2	62,3
C3	61,3
C4	66,2
C5	66,2
C6	67,1
I1	68,6
I2	70,5
I3	68,5

La Tabla 4 muestra claramente que las combinaciones de acuerdo con la invención llevan a un aumento del poder de limpieza.

Combinaciones de enzimas (40°C)	
C1	63,6
C2	62,5
C3	59
C4	65
C5	63,5
C6	66,3
I1	64,4
I2	66,2
I3	63,9

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Henkel AG & Co. KGaA

<120> Agente de limpieza que contiene amilasas

<130> PT032540PCT

<150> 102014212640,1
<151> 30/06/2014

<160> 8

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 485
<212> PRT
<213> Bacillus sp. No.707

<400> 1

His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr
1 5 10 15

Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Asn Ser Asp Ala Ser
20 25 30

Asn Leu Lys Ser Lys Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp
35 40 45

Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr
50 55 60

Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly
65 70 75 80

Thr Arg Ser Gln Leu Gln Ala Ala Val Thr Ser Leu Lys Asn Asn Gly
85 90 95

Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp
100 105 110

Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn
115 120 125

Gln Glu Val Thr Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Arg Phe Asp
130 135 140

Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Ser Phe Lys Trp Arg Trp Tyr
145 150 155 160

His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Arg Leu Asn Asn Arg

165 170 175

Ile Tyr Lys Phe Arg Gly His Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp
180 185 190

Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met
195 200 205

Asp His Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr
210 215 220

Thr Asn Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His
225 230 235 240

Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala
245 250 255

Thr Gly Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu
260 265 270

Gly Ala Ile Glu Asn Tyr Leu Gln Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val
275 280 285

Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly
290 295 300

Gly Asn Tyr Asp Met Arg Asn Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg
305 310 315 320

His Pro Ser His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro
325 330 335

Glu Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala
340 345 350

Tyr Ala Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr
355 360 365

Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Arg Ser
370 375 380

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

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

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

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

Gln Val Trp Ser Asp Ile Thr Gly Asn Arg Thr Gly Thr Val Thr Ile
450 455 460

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

Ile Trp Val Asn Lys
485

<210> 2
<211> 485
<212> PRT
<213> Bacillus sp.

<400> 2

His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr
1 5 10 15

Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Arg Ser Asp Ala Ser
20 25 30

Asn Leu Lys Asp Lys Gly Ile Ser Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp
35 40 45

Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr
50 55 60

Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Ile Arg Thr Lys Tyr Gly
65 70 75 80

Thr Arg Asn Gln Leu Gln Ala Ala Val Asn Ala Leu Lys Ser Asn Gly
85 90 95

Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp
100 105 110

Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn
115 120 125

Gln Glu Val Ser Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp
130 135 140

Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Asn Phe Lys Trp Arg Trp Tyr
145 150 155 160

His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Lys Leu Asn Asn Arg
165 170 175

Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Asp Gly Lys Gly Trp Asp Trp Glu Val Asp
180 185 190

Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met
195 200 205

Asp His Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr
210 215 220

Thr Asn Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His
225 230 235 240

Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala
245 250 255

Thr Gly Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu
260 265 270

Gly Ala Ile Glu Asn Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val
275 280 285

Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly
290 295 300

Gly Asn Tyr Asp Met Arg Gln Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg
305 310 315 320

His Pro Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro
325 330 335

Glu Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala
340 345 350

Tyr Ala Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr
355 360 365

Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Lys Ser
370 375 380

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

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

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

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

Gln Val Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ala Gly Thr Val Thr Ile
450 455 460

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

Ile Trp Val Asn Lys
485

<210> 3
<211> 269
<212> PRT
<213> Bacillus lentus

<400> 3

Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
1 5 10 15

His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
20 25 30

Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
35 40 45

Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
50 55 60

His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
65 70 75 80

Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
85 90 95

Ser Gly Ser Gly Ser Val Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
100 105 110

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

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

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

Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
165 170 175

Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
180 185 190

Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
195 200 205

Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
210 215 220

Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
225 230 235 240

Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
245 250 255

Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
260 265

<210> 4
<211> 269
<212> PRT
<213> Bacillus lentus

<400> 4

Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
1 5 10 15

His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
20 25 30

Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
35 40 45

Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
50 55 60

His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
65 70 75 80

Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
85 90 95

Asp Gly Arg Gly Ala Ile Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
100 105 110

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

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

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

Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
165 170 175

Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
180 185 190

Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
195 200 205

Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
210 215 220

Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
225 230 235 240

Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
245 250 255

Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
260 265

<210> 5
<211> 269
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Variante de subtilisina de B. lentus 309 optimizada

<400> 5

Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Arg Arg Val Gln Ala Pro Thr Ala
1 5 10 15

His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
20 25 30

Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
35 40 45

Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
50 55 60

His Ala Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
65 70 75 80

Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
85 90 95

Ser Gly Ser Gly Ser Val Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
100 105 110

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

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

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

Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
165 170 175

Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
180 185 190

Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
195 200 205

Ala Ser Leu Asp Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
210 215 220

Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Arg Ile
225 230 235 240

Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
245 250 255

Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
260 265

<210> 6

<211> 270
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Variante de subtilisina de B. lentus 309 optimizada

<400> 6

```
Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
1               5                   10                  15

His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
            20                  25                  30

Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
        35                  40                  45

Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
    50                  55                  60

His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
65                  70                  75                  80

Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
                85                  90                  95

Ser Gly Ala Asp Gly Ser Val Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp
            100                 105                 110

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

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

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

Ser Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp
                165                 170                 175

Gln Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp
            180                 185                 190

Ile Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr
        195                 200                 205
```

Tyr Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly
210 215 220

Ala Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln
225 230 235 240

Ile Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn
245 250 255

Leu Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
260 265 270

<210> 7
<211> 269
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Variante de proteasa alcalina de B. lentus optimizada

<400> 7

Ala Gln Ser Val Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
1 5 10 15

His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
20 25 30

Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
35 40 45

Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
50 55 60

His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
65 70 75 80

Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
85 90 95

Asp Gly Glu Gly Ala Ile Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
100 105 110

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

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

Val Leu Val Val Ala Ala Ser Gly Asn Ser Gly Ala Ser Ser Ile Ser

145 150 155 160

Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
165 170 175

Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
180 185 190

Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
195 200 205

Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
210 215 220

Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
225 230 235 240

Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
245 250 255

Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
260 265

<210> 8
<211> 269
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Variante de proteasa alcalina de B. lentus optimizada

<400> 8

Ala Gln Thr Ile Pro Trp Gly Ile Ser Arg Val Gln Ala Pro Ala Ala
1 5 10 15

His Asn Arg Gly Leu Thr Gly Ser Gly Val Lys Val Ala Val Leu Asp
20 25 30

Thr Gly Ile Ser Thr His Pro Asp Leu Asn Ile Arg Gly Gly Ala Ser
35 40 45

Phe Val Pro Gly Glu Pro Ser Thr Gln Asp Gly Asn Gly His Gly Thr
50 55 60

His Val Ala Gly Thr Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu
65 70 75 80

Gly Val Ala Pro Ser Ala Glu Leu Tyr Ala Val Lys Val Leu Gly Ala
85 90 95

Asp Gly Glu Gly Ala Ile Ser Ser Ile Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ala
100 105 110

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

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

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

Tyr Pro Ala Arg Tyr Ala Asn Ala Met Ala Val Gly Ala Thr Asp Gln
165 170 175

Asn Asn Asn Arg Ala Ser Phe Ser Gln Tyr Gly Ala Gly Leu Asp Ile
180 185 190

Val Ala Pro Gly Val Asn Ile Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr
195 200 205

Ala Ser Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala
210 215 220

Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile
225 230 235 240

Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu
245 250 255

Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg
260 265

REIVINDICACIONES

1. Agente de limpieza para superficies duras, en particular un agente para el lavado de la vajilla, preferentemente un agente para el lavado de la vajilla a máquina, caracterizado por que

- comprende al menos una primera y una segunda amilasa, en el que

a) la primera amilasa es una α-amilasa de Bacillus sp. n.º 707 o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma,
b) la segunda amilasa es una α-amilasa AA560 de Bacillus sp. o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma, y

- contiene asimismo al menos una proteasa, en el que la al menos una proteasa

(a) comprende una subtilisina 309 de *Bacillus lentus* o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma, en particular una que comprende una secuencia de aminoácidos, que es idéntica a lo largo de su longitud total a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3 en al menos el 80 %, preferentemente en al menos el 90 %, en particular en el 100 % y presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:3, preferentemente seleccionada del grupo que consiste en S9R, A15T, V66A, N212D y Q239R; y/o
(b) comprende una subtilisina 309 de *Bacillus lentus* o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma, en particular una que comprende una secuencia de aminoácidos, que es idéntica a lo largo de su longitud total a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3 en al menos el 80 %, preferentemente en al menos el 90 %, en particular en el 100 % y una sustitución de aminoácido en la posición 99 y una inserción de un aminoácido entre los aminoácidos en las posiciones 99 y 100 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:3, preferentemente seleccionada de S99A y/o S99_G100lnsD; y/o
(c) comprende una proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483 o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma, en particular una que presenta una secuencia de aminoácidos, que es idéntica a lo largo de su longitud total a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:4 en al menos el 80 %, preferentemente en al menos el 90 %, en particular en el 100 % y que opcionalmente presenta al menos una sustitución de aminoácido en una, dos, tres o cuatro de las siguientes posiciones 3, 4, 99 y 199 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:4, en particular la sustitución de aminoácido R99E o R99D, así como opcionalmente de manera adicional al menos una o dos, preferentemente las tres sustituciones de aminoácido S3T, V4I y V199I; y/o
(d) presenta una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una de las SEQ ID NO: 5-8.

2. Agente de limpieza según la reivindicación 1, caracterizado por que la primera amilasa comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a lo largo de su longitud total a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:1 en al menos el 80 % y opcionalmente presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 172, 202, 208, 255 y 261 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO. 1, en particular seleccionada del grupo que consiste en M202L, M202V, M202S, M202T, M202I, M202Q, M202W, S255N y R172Q.

3. Agente de limpieza según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que la segunda amilasa comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a lo largo de su longitud total a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:2 en al menos el 80 % y opcionalmente presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 9, 26, 30, 33, 82, 37, 106, 118, 128, 133, 149, 150, 160, 178, 182, 186, 193, 195, 202, 203, 214, 231, 256, 257, 258, 269, 270, 272, 283, 295, 296, 298, 299, 303, 304, 305, 311, 314, 315, 318, 319, 320, 323, 339, 345, 361, 378, 383, 419, 421, 437, 441, 444, 445, 446, 447, 450, 458, 461, 471, 482 y 484 y/o una de las deleciones D183* y G184* en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:2.

4. Agente de limpieza según la reivindicación 3, caracterizado por que la segunda amilasa en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:2 presenta sustituciones de aminoácido en tres o más de las posiciones 9, 26, 149, 182, 186, 202, 257, 295, 299, 323, 339 y 345 y opcionalmente una o varias de, preferentemente todas, las sustituciones y/o deleciones en las posiciones: 118, 183, 184, 195, 320 y 458, de manera especialmente preferente R118K, D183*, G184*, N195F, R320K y/o R458K.

5. Agente de limpieza según la reivindicación 3 o 4, caracterizado por que la segunda amilasa en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:2 presenta las siguientes sustituciones de aminoácido y/o deleciones:

(i) M9L + M323T;
(ii) M9L + M202L/T/V/I + M323T;
(iii) M9L + N195F + M202L/T/V/I + M323T;
(iv) M9L + R118K + D183* + G184* + R320K + M323T + R458K;
(v) M9L + R118K + D183* + G184* + M202L/T/V/I + R320K + M323T + R458K;
(vi) M9L + G149A + G182T + G186A + M202L + T257I + Y295F + N299Y + M323T + A339S + E345R;
(vii) M9L + G149A + G182T + G186A + M202I + T257I + Y295F + N299Y + M323T + A339S + E345R;

(viii) M9L + R118K + G149A + G182T + D183* + G184* + G186A + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K;
(ix) M9L + R118K + G149A + G182T + D183* + G184* + G186A + N195F + M202L + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K;
(x) M9L + R118K + G149A + G182T + D183* + G184* + G186A + M202I + T257I + Y295F + N299Y + R320K + M323T + A339S + E345R + R458K;
(xi) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202L + R320K + M323T + R458K;
(xii) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202T + R320K + M323T + R458K;
(xiii) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202I + R320K + M323T + R458K;
(xiv) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202V + R320K + M323T + R458K;
(xv) M9L + R118K + N150H + D183* + D184* + N195F + M202L + V214T + R320K + M323T + R458K; o
(xvi) M9L + R118K + D183* + D184* + N195F + M202L + V214T + R320K + M323T + E345N + R458K.

6. Agente de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que la al menos una proteasa comprende dos o más proteasas de acuerdo con la reivindicación 1, en particular una combinación de la proteasa de acuerdo con la reivindicación 1 (a) con una proteasa adicional de acuerdo con la reivindicación 1 (b) - (c).

7. Agente de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que contiene una primera amilasa y una segunda amilasa en una relación en masa de 50:1 a 1:50, preferentemente de 30:1 a 1:10, en particular de 20:1 a 2:1, preferentemente de 15:1 a 3:1, de manera especialmente preferente de 12:1 a 5:1, por ejemplo 10:1 (en cada caso con respecto a la cantidad de proteína activa amilasa 1 con respecto a amilasa 2).

8. Agente de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que el porcentaje en peso de cada una de las amilasas y opcionalmente de cada una de las proteasas, con respecto a la proteína activa correspondiente, en el peso total del agente, asciende en cada caso a del 1 x 10^{-8} al 5 % en peso, preferentemente del 0,001 al 2 % en peso, más preferentemente del 0,005 al 1,5 % en peso, aún más preferentemente del 0,0075 al 1 % en peso, por ejemplo del 0,01 al 0,6 % en peso.

9. Agente de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado por que contiene al menos un constituyente adicional, preferentemente al menos dos constituyentes adicionales, seleccionados del grupo que consiste en sustancias soporte, tensioactivos, polímeros, blanqueantes, catalizadores del blanqueo, activadores del blanqueo, enzimas no proteasas y no amilasas, inhibidores de la corrosión, inhibidores de la corrosión vítrea, adyuvantes de disgregación, sustancias olorosas y soportes de perfume.

10. Agente de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado por que el agente de limpieza es un agente para el lavado de la vajilla a máquina y el

(1) agente para el lavado de la vajilla a máquina se encuentra en forma sólida; y/o
(2) agente para el lavado de la vajilla a máquina se encuentra en forma porcionada previamente; y/o
(3) agente para el lavado de la vajilla a máquina presenta varias composiciones separadas una de otra en el espacio.

11. Uso de un agente de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 10 en un procedimiento para el lavado de la vajilla a máquina.

12. Procedimiento para la limpieza de vajilla en una máquina lavavajillas automática, caracterizado por que un agente de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 10 durante el transcurso de un programa de lavado de la vajilla se dosifica antes del comienzo del paso de lavado principal o en el transcurso del paso de lavado principal en el espacio interior de una máquina lavavajillas.

13. Uso de una combinación de una primera y una segunda amilasa para la mejora del poder de limpieza, en particular del poder de limpieza sobre suciedades enzimáticas, de un agente de limpieza, en particular de un agente para el lavado de la vajilla, preferentemente de un agente para el lavado de la vajilla a máquina, caracterizado por que

a) la primera amilasa es una α-amilasa de Bacillus sp. n.º 707 o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma,
b) la segunda amilasa es una α-amilasa AA560 de Bacillus sp. o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma, y

el agente de limpieza contiene asimismo al menos una proteasa, en el que la al menos una proteasa

(a) comprende una subtilisina 309 de *Bacillus lentus* o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma, en particular una que comprende una secuencia de aminoácidos, que es idéntica a lo largo de su longitud total a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3 en al menos el 80 %, preferentemente en al menos el 90 %, en particular en el 100 % y presenta al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:3, preferentemente seleccionada del grupo que

consiste en S9R, A15T, V66A, N212D y Q239R; y/o
(b) comprende una subtilisina 309 de *Bacillus lentus* o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma, en particular una que comprende una secuencia de aminoácidos, que es idéntica a lo largo de su longitud total a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:3 en al menos el 80 % preferentemente en al menos el 90 %, en particular en el 100 % y presenta una sustitución de aminoácido en la posición 99 y una inserción de un aminoácido entre los aminoácidos en las posiciones 99 y 100 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:3, preferentemente seleccionada de S99A y/o S99_G100InsD; y/o
(c) comprende una proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483 o un fragmento funcional o una variante funcional de la misma, en particular una que presenta una secuencia de aminoácidos, que es idéntica a lo largo de su longitud total a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:4 en al menos el 80 %, preferentemente en al menos el 90 %, en particular en el 100 % y que opcionalmente presenta al menos una sustitución de aminoácido en una, dos, tres o cuatro de las siguientes posiciones 3, 4, 99 y 199 en la numeración de acuerdo con la SEQ ID NO:4, en particular la sustitución de aminoácido R99E o R99D, así como opcionalmente de manera adicional al menos una o dos, preferentemente las tres sustituciones de aminoácido S3T, V4I y V199I; y/o
(d) presenta una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una de las SEQ ID NO: 5-8.