

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 788 325**

51 Int. Cl.:

C12N 9/54 (2006.01)

C11D 3/16 (2006.01)

C11D 3/386 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.09.2013 PCT/EP2013/068179**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.03.2014 WO14037345**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.09.2013 E 13753894 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2020 EP 2893011**

54 Título: **Agente de lavado o de limpieza con rendimiento enzimático mejorado**

30 Prioridad:

04.09.2012 DE 102012215642

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

21.10.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MUSSMANN, NINA;
EITING, THOMAS;
BASTIGKEIT, THORSTEN;
BENDA, KONSTANTIN y
HELLMUTH, HENDRIK**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 788 325 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 lavado o de limpieza con rendimiento enzimático mejorado

5 La solicitud se refiere a agentes de limpieza que contienen enzimas y procedimientos de limpieza con el uso de estos agentes. Son objetos de esta solicitud en particular agentes de limpieza que contienen proteasas específicas en combinación con ácido 4-formilfenilborónico y al menos otra enzima y procedimientos de limpieza en cuyo desarrollo se usan estos agentes.

10 Los agentes de limpieza, en particular agentes de limpieza para el lavado de la vajilla a máquina y la limpieza en seco, contienen por regla general, además de las sustancias soporte y tensioactivos, como otra sustancia activa con actividad de limpieza una o varias enzimas. Son enzimas con actividad de limpieza típicas las proteasas, las amilasas así como lipasas y celulasas.

15 Una desventaja de agentes de limpieza que contienen proteasa y amilasa del estado de la técnica es su insuficiente estabilidad de almacenamiento y su falta de actividad amilolítica. A menudo, la presencia de proteasa conduce a la pérdida de actividad amilolítica, dado que la proteasa inactiva la amilasa. El agente de lavado o de limpieza ya no muestra, por tanto, un rendimiento de limpieza óptimo.

20 La presente solicitud tiene por objetivo superar la desventaja mencionada y proporcionar agentes de limpieza que contienen proteasa y amilasa, que sean suficientemente estables en almacenamiento y presenten una actividad amilolítica mejorada.

25 De manera sorprendente se determinó que los agentes de limpieza que contienen proteasas específicas en combinación con ácido 4-formilfenilborónico y al menos otra enzima presentan, en comparación con agentes de limpieza a base de proteasas habituales, un rendimiento de limpieza mejorado. El ácido 4-formilfenilborónico es un inhibidor de proteasa conocido por el estado de la técnica, cuyo efecto inhibidor se describe en la patente europea concedida EP 832 174 B1 (Novozymes). Los agentes de limpieza que contienen proteasa, amilasa así como ácido 4-formilfenilborónico se desvelan, por ejemplo, en la solicitud internacional WO 2010/034736 A1 (Unilever). El documento WO 2012/080202 A1 desvela agentes de lavado o de limpieza líquidos que contienen una proteasa con una sustitución de posición 99E en combinación con al menos una sustitución de aminoácidos adicional, tal como por ejemplo 3T, 4I, y 199I, y una amilasa.

35 El documento WO 2010/092066 A1 desvela agentes de lavado o de limpieza líquidos que contienen una proteasa y/o amilasa, y ácido 4-formilfenilborónico.

Un primer objeto de la presente solicitud es, por tanto, un agente de limpieza, que contiene

40 a) al menos una proteasa del grupo que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1 a lo largo de toda su longitud en al menos el 95 % y en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 presenta la sustitución de aminoácidos R99E en combinación con S3T, V4I y V199I;

b) ácido 4-formilfenilbórico

45 c) al menos otra enzima del grupo de las amilasas distinta de la proteasa a).

Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención, que contienen la combinación mencionada antes de una proteasa específica con ácido 4-formilfenilborónico y otra enzima, no solo son estables en almacenamiento, sino que en comparación con agentes de limpieza del estado de la técnica con el mismo contenido de proteasa (con respecto a enzima activa), no obstante de diferente proteasa, se caracterizan por un rendimiento de limpieza enzimático mayor de la otra enzima c).

50 Un primer constituyente esencial de agentes de limpieza de acuerdo con la invención es la proteasa a).

55 Con preferencia, la proteasa a) comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1 a lo largo de toda su longitud en al menos el 95 % y más preferentemente en al menos el 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 % y 98,8 % y en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 presenta la sustitución de aminoácidos R99E en combinación con S3T, V4I y V199I. Una proteasa muy especialmente preferente a este respecto está indicada en la SEQ ID NO. 4.

60 Otras proteasas preferentes son proteasas tal como se describió antes, que presentan, además, en la posición 211 en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 el aminoácido leucina (L).

65 La SEQ ID NO. 1 es la secuencia de la proteasa alcalina madura (*mature*) de *Bacillus lentus* DSM 5483, que se desvela en la solicitud de patente internacional WO 92/21760, y a cuya divulgación se hace referencia expresamente en el presente documento. La SEQ ID NO. 2 es la secuencia de la proteasa madura (*mature*) subtilisina 309 de *Bacillus lentus*.

Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención preferentes están caracterizados por que la proteasa a) comprende una secuencia de aminoácidos, que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1 a lo largo de toda su longitud en al menos el 98 % y en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 presenta sustituciones de aminoácidos R99E, S3T, V4I y V199I. De manera muy especialmente preferente, la proteasa a) presenta una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 con las sustituciones de aminoácidos R99E, S3T, V4I y V199I en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1. Una proteasa de este tipo se indica en la SEQ ID NO. 4.

La determinación de la identidad de secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos se efectúa 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 (compárese, por ejemplo, con 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, pág. 3389-3402) y tiene lugar en principio al asignarse sucesiones similares de nucleótidos o aminoácidos en las secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos unas a otras. Una asignación tabulada de las posiciones en cuestión se denomina alineamiento. Otro algoritmo disponible en el estado de la técnica es el algoritmo FASTA. Se elaboran comparaciones de secuencias (alineamientos), en particular múltiples comparaciones de secuencias, con programas informáticos. A menudo se usa por ejemplo la serie Clustal (compárese, por ejemplo, con Chenna *et al.* (2003): Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. Nucleic Acid Research 31, 3497-3500), T-Coffee (compárese, por ejemplo, con Notredame *et al.* (2000): T-Coffee: A novel method for multiple sequence alignments. J. Mol. Biol. 302, 205-217) o programas que se basan en estos programas o algoritmos. En la presente solicitud de patente se crearon todas las comparaciones de secuencias (alineamientos) con el programa informático Vector NTI@ Suite 10.3 (Invitrogen Corporation, 1600 Faraday Avenue, Carlsbad, California, EE. UU.) con los parámetros convencionales predefinidos, cuyo módulo AlignX para las comparaciones de secuencia se basa en ClustalW.

Una comparación de este tipo permite también realizar una afirmación acerca de la similitud de las secuencias comparadas entre sí. Se indica habitualmente en porcentaje de identidad, es decir, la proporción de los nucleótidos o restos aminoacídicos idénticos en las mismas posiciones o en posiciones correspondientes entre sí en un alineamiento. El término más amplio de la homología incluye sustituciones de aminoácidos conservadoras en secuencias de aminoácidos, es decir, aminoácidos con actividad química similar, ya que las mismas dentro de la proteína ejercen la mayoría de las veces actividades químicas similares. Por tanto, la similitud de las secuencias comparadas también puede estar indicada como porcentaje de homología o porcentaje de similitud. Las indicaciones de identidad y/u homología se pueden realizar acerca de polipéptidos o genes completos o solo acerca de regiones individuales. Las regiones homólogas o idénticas de distintas secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos, por tanto, están definidas por coincidencias en las secuencias. Tales regiones presentan con frecuencia funciones idénticas. Pueden ser pequeñas y comprender solo pocos nucleótidos o aminoácidos. Con frecuencia, regiones tan pequeñas ejercen funciones esenciales para la actividad global de la proteína. Por tanto, puede ser útil relacionar las coincidencias de secuencias solo con áreas individuales, dado el caso pequeñas. Siempre que no se indique otra cosa, las indicaciones de identidad u homología en la presente solicitud se refieren, no obstante, a la longitud total de la secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos indicada en cada caso.

La proporción en peso de la proteasa a) referida a proteína activa en el peso total de agentes de limpieza preferentes de acuerdo con la invención asciende con preferencia a del 0,005 al 1,0 % en peso, preferentemente del 0,01 al 0,5 % en peso y en particular del 0,02 al 0,2 % en peso. La concentración de proteína puede determinarse con ayuda de métodos conocidos, por ejemplo el procedimiento de BCA (ácido bicinónico; ácido 2,2'-biquinilil-4,4'-dicarboxílico) o el procedimiento de biuret (A. G. Gornall, C. S. Bardawill y M.M. David, J. Biol. Chem., 177 (1948), pág. 751-766). La determinación de la concentración de proteína activa se efectuó 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 (compárese con M. Bender *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 88, 24 (1966), pág. 5890-5913).

Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención contienen como segundo constituyente esencial ácido 4-formilfenilborónico (4-FPBA). La proporción en peso del ácido 4-formilfenilborónico en el peso total del agente de limpieza asciende con preferencia a del 0,0005 al 2,0 % en peso, preferentemente del 0,001 al 1,0 % en peso y en particular del 0,01 al 0,1 % en peso.

Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención contienen como constituyente esencial adicional c) al menos otra enzima. Como enzima c) se pueden usar, por ejemplo, lipasas o cutinasas, en particular debido a sus actividades de división de triglicéridos, aunque también para generar perácidos a partir de precursores adecuados *in situ*. A ellas pertenecen por ejemplo las lipasas que se pueden obtener originalmente a partir de *Humicola lanuginosa* (*Thermomyces lanuginosus*), o desarrolladas posteriormente, en particular aquellas con el intercambio de aminoácidos D96L. A ellas pertenecen por ejemplo las lipasas que se pueden obtener originalmente a partir de *Humicola lanuginosa* (*Thermomyces lanuginosus*), o desarrolladas posteriormente, en particular aquellas con una o varias de las siguientes sustituciones de aminoácidos partiendo de la lipasa mencionada en las posiciones D96L,

T213R y/o N233R., de manera especialmente preferente T213R y N233R. Además, por ejemplo, se pueden usar las cutinasas, que originalmente se habían aislado a partir de *Fusarium solani pisi* y *Humicola insolens*. Se pueden usar, además, lipasas, o cutinasas, cuyas enzimas de partida se habían aislado originalmente a partir de *Pseudomonas mendocina* y *Fusarium solanii*.

5 Los agentes de acuerdo con la invención pueden contener también celulasas o hemicelulasas tales como mananasas, xantanoliasas, pectinliasas (=pectinasas), pectinesterasas, pectatliasas, xiloglucanasas (=xilanasas), pululananas o β -glucanasas.

10 Para aumentar el efecto blanqueador se pueden usar de acuerdo con la invención oxidorreductasas, por ejemplo oxidasas, oxigenasas, catalasas, peroxidadas, tales como halo-, cloro-, bromo-, lignina-, glucosa- o mangan-peroxidadas, dioxigenasas o lacasas (fenoloxidasas, polifenoloxidasas). De manera ventajosa se añaden adicionalmente con preferencia compuestos orgánicos, de manera especialmente preferente aromáticos, que interactúan con las enzimas, para intensificar la actividad de las oxidorreductasas en cuestión (potenciadores) o para garantizar, en caso de potenciales redox fuertemente diferenciados, entre las enzimas oxidantes y las impurezas el flujo de electrones (mediadores).

15 Con especial preferencia, los agentes de limpieza de acuerdo con la invención contienen como enzima c) al menos una amilasa. Una amilasa es una enzima como se describió al principio. Para amilasas pueden usarse términos sinónimos, por ejemplo 1,4-alfa-D-glucan-glucanohidrolasa o glicogenasa. Son amilasas preferentes de acuerdo con la invención las α -amilasas. Es decisivo para determinar si una enzima es una α -amilasa en el sentido de la invención su capacidad para hidrolizar enlaces $\alpha(1-4)$ -glicósidos en la amilosa del almidón.

20 Son amilasas a modo de ejemplo las α -amilasas de *Bacillus licheniformis*, de *Bacillus amyloliquefaciens* o de *Bacillus stearothermophilus* así como en particular también sus desarrollos posteriores mejorados para el uso en agentes de lavado o de limpieza. La enzima de *Bacillus licheniformis* se puede obtener de la empresa Novozymes con el nombre Termamyl® y de la empresa Danisco/Genencor con el nombre Purastar®ST. Los productos de desarrollo posterior de esta α -amilasa se pueden obtener de la empresa Novozymes con el nombre comercial Duramyl® y Termamyl®ultra, De la empresa Danisco/Genencor con el nombre Purastar®OxAm y de la empresa Daiwa Seiko Inc., Tokio, Japón, como Keistase®. La α -amilasa de *Bacillus amyloliquefaciens* se comercializa por la empresa Novozymes con el nombre BAN®, y variantes derivadas de la α -amilasa de *Bacillus stearothermophilus* con el nombre BSG® y Novamyl®, también por la empresa Novozymes. Además, deben destacarse para este fin la α -amilasa de *Bacillus sp. A 7-7* (DSM 12368) y la ciclodextrina glucanotransferasa (CGTasa) de *Bacillus agaradherens* (DSM 9948). Asimismo, se pueden usar productos de fusión de todas las moléculas mencionadas. Además, los desarrollos posteriores de la α -amilasa, que se pueden obtener con el nombre comercial Fungamyl® de la empresa Novozymes, de *Aspergillus niger* y *A. oryzae* son adecuados. Otros productos comerciales que se pueden usar de manera ventajosa son, por ejemplo, la amilasa-LT® y Stainzyme® o Stainzyme ultra® o Stainzyme plus®, el último también de la empresa Novozymes. También las variantes de estas enzimas que se pueden obtener mediante mutaciones puntuales se pueden usar de acuerdo con la invención. Se desvelan amilasas especialmente preferentes en los documentos internacionales abiertos a la inspección pública WO 00/60060, WO 03/002711, WO 03/054177 y WO07/079938, a cuya divulgación se remite, por tanto, expresamente o cuyo contenido de divulgación se incluye, por tanto, expresamente en la presente solicitud de patente.

45 En resumen, los agentes de limpieza de acuerdo con la invención preferentes están caracterizados por que como otra enzima c) se usa al menos una enzima del grupo de las amilasas, celulasas, hemicelulasas, mananasas, tanasas, xilanasas, xantananas, xiloglucanasas, β -glucosidasas, pectinasas, carragenasas, perhidrolasas, oxidasas, oxidoreductasas o una lipasa, así como sus mezclas, con preferencia del grupo de las amilasas. La proporción en peso de la enzima c) referida a proteína activa en el peso total de agentes de limpieza preferentes asciende con preferencia a del 0,0005 al 1,0 % en peso, preferentemente del 0,001 al 0,5 % en peso y en particular del 0,002 al 0,2 % en peso.

50 Los agentes de limpieza pueden contener, además de los ingredientes descritos antes, sustancias con actividad de limpieza, siendo preferentes sustancias del grupo de los tensioactivos, sustancias soporte, polímeros, inhibidores de la corrosión de vidrio, inhibidores de la corrosión, sustancias aromáticas y vehiculos de perfume. Estos ingredientes preferentes se describen en más detalle en lo sucesivo.

55 Un constituyente preferente de los agentes de limpieza de acuerdo con la invención, son los tensioactivos no iónicos, siendo preferentes tensioactivos no iónicos de fórmula general $R^1-CH(OH)CH_2O-(AO)_w-(A'O)_x-(A''O)_y-(A'''O)_z-R^2$, en la que

- 60
- R^1 se refiere a un resto alquilo o alqueno C_{6-24} de cadena lineal o ramificado, saturado o mono- o poliinsaturado;
 - R^2 se refiere a un resto hidrocarburo lineal o ramificado con de 2 a 26 átomos de carbono;
 - A, A', A'' y A''' se refieren independientemente entre sí a un resto del grupo $-CH_2CH_2$, $-CH_2CH_2-CH_2$, $-CH_2-CH(CH_3)$, $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2$, $-CH_2CH(CH_3)-CH_2$, $-CH_2-CH(CH_2-CH_3)$,
 - 65 - w, x, y y z se refieren a valores entre 0,5 y 120, donde x, y y/o z también pueden ser 0.

Mediante la adición de los tensioactivos no iónicos mencionados antes de fórmula general $R^1-CH(OH)CH_2O-(AO)_w-(A'O)_x-(A''O)_y-(A'''O)_z-R^2$, a continuación denominados también "hidroxiéteres mixtos", puede mejorarse significativamente de manera sorprendente el rendimiento de limpieza de preparaciones que contienen enzimas de acuerdo con la invención y en concreto tanto en comparación con un sistema libre de tensioactivos así como en comparación con sistemas que contienen tensioactivos no iónicos alternativos, por ejemplo del grupo de los alcoholes grasos polialcoxilados.

Mediante el uso de estos tensioactivos no iónicos con uno o varios grupos hidroxilo libres en uno o ambos restos alquilo terminales puede mejorarse significativamente la estabilidad de las enzimas contenidas en las preparaciones de agentes de lavado o de limpieza de acuerdo con la invención.

Se prefieren en particular los tensioactivos no iónicos poli(oxialquilados) protegidos con grupo terminal que, de acuerdo con la fórmula $R^1O[CH_2CH_2O]_xCH_2CH(OH)R^2$, aparte de un resto R^1 , que se refiere a restos hidrocarburo lineales o ramificados, saturados o insaturados, alifáticos o aromáticos con de 2 a 30 átomos de carbono, con preferencia con de 4 a 22 átomos de carbono, además presenta un resto hidrocarburo R^2 lineal o ramificado, saturado o insaturado, alifático o aromático con de 1 a 30 átomos de carbono, refiriéndose x a valores entre 1 y 90, con preferencia a valores entre 30 y 80 y en particular a valores entre 30 y 60.

Son especialmente preferentes los tensioactivos de fórmula $R^1O[CH_2CH(CH_3)O]_x[CH_2CH_2O]_yCH_2CH(OH)R^2$, en la que R^1 se refiere a un resto hidrocarburo alifático, lineal o ramificado, con de 4 a 18 átomos de carbono o mezclas de los mismos, R^2 se refiere a un resto hidrocarburo lineal o ramificado con de 2 a 26 átomos de carbono o mezclas de los mismos y x se refiere a valores entre 0,5 y 1,5 así como y a un valor de al menos 15.

Al grupo de estos tensioactivos no iónicos pertenecen, por ejemplo, los éteres de alcohol graso $C_{2-26}-(OP)_1-(OE)_{15-40}$ -2-hidroxiálquilo, en particular también los éteres de alcohol graso $C_{8-10}-(OP)_1-(OE)_{22-2}$ -hidroxidecilo.

Se prefieren especialmente, además, los tensioactivos no iónicos poli(oxialquilados) protegidos con grupo terminal de fórmula $R^1O[CH_2CH_2O]_x[CH_2CH(R^3)O]_yCH_2CH(OH)R^2$, en la que R^1 y R^2 se refieren independientemente entre sí a un resto hidrocarburo lineal o ramificado, saturado o poliinsaturado con de 2 a 26 átomos de carbono, R^3 independientemente entre sí está seleccionado de $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2-CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, con preferencia, no obstante, se refiere a $-CH_3$, así como x e y independientemente entre sí se refieren a valores entre 1 y 32, siendo muy especialmente preferentes tensioactivos no iónicos con $R^3 = -CH_3$ y valores para x de 15 a 32 e y de 0,5 y 1,5.

Son otros tensioactivos no iónicos que pueden usarse de manera preferente los tensioactivos no iónicos poli(oxialquilados) protegidos con grupo terminal de fórmula $R^1O[CH_2CH(R^3)O]_x[CH_2]_kCH(OH)[CH_2]_jOR^2$, en la que R^1 y R^2 se refieren a restos hidrocarburo lineales o ramificados, saturados o insaturados, alifáticos o aromáticos, con de 1 a 30 átomos de carbono, R^3 se refiere a H o a un resto metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, 2-butilo o 2-metil-2-butilo, x se refiere a valores entre 1 y 30, k y j se refieren a valores entre 1 y 12, con preferencia entre 1 y 5. Cuando el valor x es ≥ 2 , cada R^3 en la fórmula anterior $R^1O[CH_2CH(R^3)O]_x[CH_2]_kCH(OH)[CH_2]_jOR^2$ puede ser diferente. R^1 y R^2 son con preferencia restos hidrocarburo lineales o ramificados, saturados o insaturados, alifáticos o aromáticos, con de 6 a 22 átomos de carbono, siendo especialmente preferentes restos con de 8 a 18 átomos de C. Para el resto R^3 son especialmente preferentes en particular H, $-CH_3$ o $-CH_2CH_3$. Los valores especialmente preferentes para x se sitúan en el intervalo de 1 a 20, en particular de 6 a 15.

Como se describió anteriormente, cada R^3 en la fórmula anterior puede ser diferente en caso de que x sea ≥ 2 .

En este sentido, la unidad de óxido de alqueno puede variar en los corchetes. Si x se refiere, por ejemplo, a 3, el resto R^3 puede seleccionarse para formar unidades de óxido de etileno ($R^3 = H$) u óxido de propileno ($R^3 = CH_3$), que se pueden unir en cualquier orden, por ejemplo (OE)(OP)(OE), (OE)(OE)(OP), (OE)(OE)(OE), (OP)(OE)(OP), (OP)(OP)(OE) y (OP)(OP)(OP). El valor 3 para x se ha seleccionado en este caso a modo de ejemplo y puede ser bastante mayor, aumentando la anchura de variación con valores crecientes de x e incluyendo por ejemplo una gran cantidad de grupos (OE) en combinación en una reducida cantidad de grupos (OP) o viceversa.

Los alcoholes poli(oxialquilados) protegidos con grupo terminal especialmente preferentes de la fórmula anterior presentan valores de $k = 1$ y $j = 1$, de modo que se simplifica la fórmula anterior a $R^1O[CH_2CH(R^3)O]_xCH_2CH(OH)CH_2OR^2$. En la fórmula mencionada en último lugar, R^1 , R^2 y R^3 son como se ha definido anteriormente y x se refiere a números del 1 al 30, con preferencia del 1 al 20 y en particular del 6 al 18. Son especialmente preferentes tensioactivos en los que los restos R^1 y R^2 presentan de 9 a 14 átomos de C, R^3 se refiere a H y x adopta valores de 6 a 15.

Finalmente, han demostrado ser especialmente eficaces los tensioactivos no iónicos de fórmula general $R^1-CH(OH)CH_2O-(AO)_w-R^2$, en la que

- R^1 se refiere a un resto alquilo o alqueno C_{6-24} de cadena lineal o ramificado, saturado o mono- o poliinsaturado;
- R^2 se refiere a un resto hidrocarburo lineal o ramificado con de 2 a 26 átomos de carbono;
- A se refiere a un resto del grupo CH_2CH_2 , $-CH_2CH_2-CH_2$, $-CH_2-CH(CH_3)$, y
- w se refiere a valores entre 1 y 120, con preferencia de 10 a 80, en particular 20 a 40. Al grupo de estos tensioactivos no iónicos pertenecen por ejemplo los éteres de alcohol graso $C_{4-22}-(OE)_{10-80}$ -2-hidroxiálquilo, en

particular también los éteres de alcohol graso C₈₋₁₂-(OE)₂₂-2-hidrodecilo y los éteres de alcohol graso C₄₋₂₂-(OE)₄₀₋₈₀-2-hidroalquilo.

5 Los agentes de limpieza preferentes están caracterizados por que el agente de limpieza contiene al menos un tensioactivo no iónico, con preferencia un tensioactivo no iónico del grupo de los hidroéteres mixtos, ascendiendo la proporción en peso del tensioactivo no iónico en el peso total del agente de limpieza preferentemente a del 0,2 al 10 % en peso, preferentemente del 0,4 al 7,0 % en peso y en particular del 0,6 al 6,0 % en peso.

10 Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención preferentes para el uso en procedimientos de lavado de la vajilla a máquina contienen, además de los tensioactivos no iónicos descritos anteriormente, otros tensioactivos, en particular contienen tensioactivos anfóteros. No obstante, la proporción de tensioactivos no iónicos en el peso total de estos agentes de limpieza está con preferencia limitada. Por tanto, los agentes de lavado de la vajilla a máquina preferentes están caracterizados por que contienen con respecto a su peso total menos del 5,0 % en peso, con preferencia menos del 3,0 % en peso, de manera especialmente preferente menos del 2,0 % en peso de tensioactivo aniónico. Se prescinde del uso de tensioactivos aniónicos en mayor cantidad a este respecto, en particular para evitar un desarrollo de espuma excesivo.

Un constituyente preferente adicional de agentes de limpieza de acuerdo con la invención son agentes complejantes. Son agentes complejantes especialmente preferentes los fosfonatos. Los fosfonatos complejantes comprenden, además del ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico, una serie de diferentes compuestos tales como por ejemplo ácido dietilentriaminpenta(metilenfosfónico) (DTPMP). En esta solicitud son preferentes en particular fosfonatos de hidroxialcano o de aminoalcano. Entre los fosfonatos de hidroxialcano tiene especial importancia el 1,1-difosfonato de 1-hidroxietano (HEDP) como coayudante. Se usa con preferencia como sal sódica, reaccionando la sal disódica de manera neutral y la sal tetrasódica de manera alcalina (pH 9). Como fosfonatos de aminoalcano se consideran con preferencia fosfonato de etilendiamintetrametileno (EDTMP), fosfonato de dietilentriaminpentametileno (DTPMP) así como sus homólogos superiores. Se usan con preferencia en forma de las sales sódicas que reaccionan de manera neutral, por ejemplo como sal hexasódica del EDTMP o como sal hepta- y octasódica del DTPMP. Como ayudante se usa a este respecto de la clase de los fosfonatos preferentemente HEDP. Los aminoalcanofosfonatos poseen, además, una pronunciada capacidad de enlace de metales pesados. Por tanto, puede ser preferente, en particular cuando los agentes también contienen blanqueamientos, usar aminoalcanofosfonatos, en particular DTPMP, o usar mezclas de los fosfonatos mencionados.

Un agente de limpieza preferente en el marco de esta solicitud contiene uno o varios fosfonato/s del grupo

- 35 a) ácido aminotrimetilenfosfónico (ATMP) y/o sus sales;
 b) ácido etilendiamintetra(metilenfosfónico) (EDTMP) y/o sus sales;
 c) ácido dietilentriaminpenta(metilenfosfónico) (DTPMP) y/o sus sales;
 d) ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico (HEDP) y/o sus sales;
 e) ácido 2-fosfonobutano-1,2,4-tricarboxílico (PBTC) y/o sus sales;
 40 f) ácido hexametilendiamintetra(metilenfosfónico) (HDTMP) y/o sus sales;
 g) ácido nitrilotri(metilenfosfónico) (NTMP) y/o sus sales.

45 Son especialmente preferentes los agentes de limpieza que contienen como fosfonatos ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico (HEDP) o ácido dietilentriaminpenta(metilenfosfónico) (DTPMP). Evidentemente, los agentes de limpieza de acuerdo con la invención pueden contener dos o más fosfonatos diferentes. Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención preferentes están caracterizados por que el agente de limpieza contiene al menos un agente complejante del grupo de los fosfonatos, con preferencia 1,1-difosfonato 1-hidroxietano, ascendiendo la proporción en peso del fosfonato en el peso total del agente de limpieza con preferencia a del 0,1 al 8,0 % en peso, preferentemente del 0,2 al 5,0 % en peso y en particular del 0,5 al 3,0 % en peso.

50 Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención contienen, además, con preferencia sustancia soporte. A las sustancias soporte pertenecen, a este respecto, en particular los silicatos, carbonatos, coayudantes orgánicos y, si no existen prejuicios ecológicos contra su uso, también los fosfonatos.

55 Entre la pluralidad de los fosfatos que pueden obtenerse comercialmente, los fosfatos de metal alcalino con una preferencia especial por el trifosfato de pentasodio, Na₅P₃O₁₀ (tripolifosfato sódico) o trifosfato de pentapotasio, K₅P₃O₁₀ (tripolifosfato potásico) tienen la mayor importancia para los agentes de acuerdo con la invención. Si se usan en el marco de la presente solicitud fosfatos como sustancias con actividad de limpieza en el agente de limpieza, los agentes preferentes contienen este/estos fosfato/s con preferencia trifosfato de pentapotasio, ascendiendo la proporción en peso del fosfato en el peso total del agente de limpieza con preferencia a del 5,0 al 40 % en peso, preferentemente del 10 al 30 % en peso y en particular del 12 al 25 % en peso.

60 Como coayudantes orgánicos caben mencionarse en particular policarboxilatos/ácidos policarboxílicos, policarboxilatos poliméricos, ácido aspártico, poliacetales, dextrinas, otros coayudantes orgánicos así como fosfonatos. Estas clases de sustancia se describen a continuación.

Las sustancias soporte orgánicas que pueden usarse son, por ejemplo, los ácidos policarboxílicos que pueden usarse en forma de ácido libre y/o sus sales sódicas, entendiéndose por los ácidos policarboxílicos los ácidos carboxílicos que portan más de una función ácido. Por ejemplo, estos son ácido cítrico, ácido adípico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido málico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido fumárico, ácidos sacáricos, ácidos aminocarboxílicos, ácido nitrilotriacético (NTA), siempre y cuando un uso de este tipo no sea objetable por razones ecológicas, así como mezclas de los mismos. Los ácidos libres tienen, además de su efecto de ayudante, típicamente también la propiedad de un componente acidificante y sirven, por tanto, también para el ajuste de un valor de pH más bajo y más suave de los agentes de lavado o de limpieza. En particular cabe mencionarse en este caso ácido cítrico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido glucónico y mezclas discrecionales de los mismos. Con una preferencia especial se usa como sustancia soporte el ácido cítrico o sales del ácido cítrico. Otra sustancia soporte especialmente preferente es el ácido metilglucindiacético (MGDA).

Como sustancias soporte son adecuados, además, policarboxilatos poliméricos, estos son, por ejemplo, las sales de metal alcalino del poli(ácido acrílico) o del poli(ácido metacrílico), por ejemplo aquellos con una masa molecular relativa de 500 a 70000 g/mol.

En el caso de las masas molares indicadas para policarboxilatos poliméricos se trata en el sentido de este documento de masas molares de peso medio M_w de la respectiva forma ácida, que se determinaron en principio por medio de cromatografía por permeación de gel (GPC), habiéndose usado un detector de UV. La medición se efectuó, a este respecto, contra un estándar externo de ácido poliacrílico, que debido a su afinidad estructural con los polímeros investigados proporciona valores de peso molar realistas. Estos datos difieren claramente de los datos de peso molar, en los que se usan ácidos poliestirenosulfónicos como estándar. Las masas molares medidas contra ácidos poliestirenosulfónicos son, por regla general, claramente más altas que las masas molares indicadas en este documento.

Los polímeros adecuados son en particular poliacrilatos, que presentan preferentemente una masa molecular de 2000 a 20000 g/mol. A causa de su mayor solubilidad pueden ser preferentes de este grupo a su vez los poliacrilatos de cadena corta, que presentan masas molares 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. Han resultado ser especialmente adecuados copolímeros del ácido acrílico con ácido maleico, que contienen del 50 al 90 % en peso de ácido acrílico y del 50 al 10 % en peso de ácido maleico. Su masa molecular relativa, con respecto a ácidos libres, en general asciende a de 2000 a 70000 g/mol, con preferencia de 20000 a 50000 g/mol y en particular de 30000 a 40000 g/mol.

También oxidisuccinatos y otros derivados de disuccinatos, con preferencia disuccinato de etilendiamina, son otros coayudantes adecuados. A este respecto, se usa etilendiamina-N,N'-disuccinato (EDDS) preferentemente en forma de sus sales de sodio o magnesio. Además, son preferentes en este contexto también disuccinatos de glicerol y trisuccinatos de glicerol.

Para mejorar el rendimiento de limpieza y/o para ajustar la viscosidad, los agentes de limpieza preferentes contienen al menos un polímero modificado hidrófobamente, con preferencia un polímero que contiene grupos ácido carboxílico modificado hidrófobamente, ascendiendo la proporción en peso del polímero modificado hidrófobamente en el peso total del agente de limpieza con preferencia a del 0,1 al 10 % en peso, preferentemente entre el 0,2 y el 8,0 % en peso y en particular del 0,4 al 6,0 % en peso.

Como complemento a las sustancias soporte descritas antes pueden estar contenidos en el agente de limpieza polímeros con actividad de limpieza. La proporción en peso de los polímeros con actividad de limpieza en el peso total de agentes de limpieza a máquina de acuerdo con la invención asciende con preferencia a del 0,1 al 20 % en peso, con preferencia del 1,0 al 15 % en peso y en particular del 2,0 al 12 % en peso.

Como polímeros con actividad de limpieza se usan con preferencia polímeros que contienen grupos ácido sulfónico, en particular del grupo de los polisulfonatos copoliméricos. Estos polisulfonatos copoliméricos contienen, además de monómero/s que contiene/n grupos del ácido sulfónico, al menos un monómero del grupo de los ácidos carboxílicos insaturados.

Como ácido/s carboxílico/s insaturado/s se usa/n con especial preferencia ácidos carboxílicos insaturados de fórmula $R^1(R^2)C=C(R^3)COOH$, en la que R^1 a R^3 independientemente entre sí se refieren a -H, -CH₃, un resto alquilo saturado de cadena lineal o ramificado con de 2 a 12 átomos de carbono, un resto alqueno de cadena lineal o ramificado, mono- o poliinsaturado con de 2 a 12 átomos de carbono, restos alquilo o alqueno sustituidos con -NH₂, -OH o -COOH tal como se ha definido anteriormente o -COOH o -COOR⁴, en la que R⁴ es un resto hidrocarburo saturado o insaturado, de cadena lineal o ramificado con de 1 a 12 átomos de carbono.

Son ácidos carboxílicos insaturados en particular preferentes ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido etacrílico, ácido α -cloroacrílico, ácido α -cianoacrílico, ácido crotónico, ácido α -fenil-acrílico, ácido maleico, anhídrido de ácido

maleico, ácido fumárico, ácido itacónico, ácido citracónico, ácido metilmalónico, ácido sórbico, ácido cinámico o sus mezclas. Pueden usarse evidentemente también los ácidos dicarboxílicos insaturados.

5 En los monómeros que contienen grupos del ácido sulfónico son preferentes los de fórmula $R^5(R^6)C=C(R^7)-X-SO_3H$, en la que R^5 a R^7 independientemente entre sí se refieren a -H, -CH₃, un resto alquilo saturado de cadena lineal o ramificado con de 2 a 12 átomos de carbono, un resto alqueno de cadena lineal o ramificado, mono- o poliinsaturado con de 2 a 12 átomos de carbono, restos alquilo o alqueno sustituidos con -NH₂, -OH o -COOH o a -COOH o -COOR⁴, siendo R⁴ un resto hidrocarburo saturado o insaturado, de cadena lineal o ramificado con de 1 a 12 átomos de carbono, y refiriéndose X a un grupo espaciador presente opcionalmente, que está seleccionado de -
10 (CH₂)_n- con n = 0 a 4, -COO-(CH₂)_k- con k = 1 a 6, -C(O)-NH-C(CH₃)₂-, -C(O)-NH-C(CH₃)₂-CH₂- y -C(O)-NH-CH(CH₂CH₃)-

15 Entre estos monómeros son preferentes los de fórmulas $H_2C=CH-X-SO_3H$, $H_2C=C(CH_3)-X-SO_3H$ y $HO_3S-X-(R^6)C=C(R^7)-X-SO_3H$, en las que R^6 y R^7 independientemente entre sí están seleccionados de -H, -CH₃, -CH₂CH₃, -CH₂CH₂CH₃, -CH(CH₃)₂ y X se refiere a un grupo espaciador presente opcionalmente, que está seleccionado de - (CH₂)_n- con n = 0 a 4, -COO-(CH₂)_k- con k = 1 a 6, -C(O)-NH-C(CH₃)₂-, -C(O)-NH-C(CH₃)₂-CH₂- y -C(O)-NH-CH(CH₂CH₃)-

20 Son monómeros que contienen grupos del ácido sulfónico en particular preferentes, a este respecto, ácido 1-acrilamido-1-propanosulfónico, ácido 2-acrilamido-2-propanosulfónico, ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propanosulfónico, ácido 2-metacrilamido-2-metil-1-propanosulfónico, ácido 3-metacrilamido-2-hidroxi-propanosulfónico, ácido alilsulfónico, ácido metililsulfónico, ácido aliloxibencenosulfónico, ácido metaliloxibencenosulfónico, ácido 2-hidroxi-3-(2-propeniloxi)propanosulfónico, ácido 2-metil-2-propen-1-sulfónico, ácido estirenosulfónico, ácido vinilsulfónico, acrilato de 3-sulfopropilo, metacrilato de 3-sulfopropilo,
25 sulfometacrilamida, sulfometilmetacrilamida así como mezclas de los ácidos mencionados o sus sales solubles en agua.

30 En los polímeros pueden estar presentes los grupos ácido sulfónico completamente o parcialmente en forma neutralizada. El uso de copolímeros que contienen grupos ácido sulfónico parcialmente o completamente neutralizados es preferente de acuerdo con la invención.

35 La masa molar de los copolímeros sulfónicos usados preferentemente de acuerdo con la invención puede variarse para adaptar las propiedades de los polímeros al fin de uso deseado. Los agentes de limpieza de la vajilla a máquina preferentes están caracterizados por que los copolímeros presentan masas molares de 2000 a 200.000 g mol⁻¹, preferentemente de 4000 a 25.000 g mol⁻¹ y en particular de 5000 a 15.000 g mol⁻¹.

40 En otra forma de realización preferente, los copolímeros comprenden, aparte de monómero que contiene grupos carboxílicos y monómero que contiene grupos del ácido sulfónico, además al menos un monómero no iónico, con preferencia hidrófobo. Mediante el uso de estos polímeros modificados hidrófobamente pudo mejorarse en particular el rendimiento de aclarado de agentes de lavado a máquina de la vajilla de acuerdo con la invención.

Se prefieren de acuerdo con la invención agentes de limpieza que contienen un copolímero, que comprende

- 45 i) monómero/s que contiene/n grupos ácido carboxílico
ii) monómero/s que contiene/n grupos ácido sulfónico
iii) monómero/s no iónico/s.

50 Mediante el uso de estos terpolímeros pudo mejorarse el rendimiento de enjuague de agentes de lavado de la vajilla a máquina de acuerdo con la invención en comparación con agentes de lavado de la vajilla comparables, que contienen sulfopolímeros sin la adición de monómeros no iónicos.

55 Como monómeros no iónicos se usan con preferencia monómeros de fórmula general $R^1(R^2)C=C(R^3)-X-R^4$, en la que R^1 a R^3 independientemente entre sí se refieren a -H, -CH₃ o -C₂H₅, X se refiere a un grupo espaciador presente opcionalmente, que está seleccionado de -CH₂-, -C(O)O- y -C(O)-NH-, y R^4 se refiere a un resto alquilo saturado de cadena lineal o ramificado con de 2 a 22 átomos de carbono o un resto insaturado, con preferencia aromático, con de 6 a 22 átomos de carbono.

60 Son monómeros no iónicos especialmente preferentes buteno, isobuteno, penteno, 3-metilbuteno, 2-metilbuteno, ciclopenteno, hexeno, hexen-1,2-metilpenten-1,3-metilpenteno-1, ciclohexeno, metilciclopenteno, ciclohepteno, metilciclohexeno, 2,4,4-trimetilpenteno-1, 2,4,4-trimetilpenteno-2, 2,3-dimetilhexeno-1, 2,4-dimetilhexeno-1, 2,5-dimetilhexeno-1,3,5-dimetilhexeno-1,4,4-dimetilhexano-1, etilcilcohexina, 1-octeno, α-olefinas con 10 o más átomos de carbono tal como por ejemplo 1-deceno, 1-dodeceno, 1-hexadeceno, 1-octadeceno y C22-α-olefina, 2-estireno, α-metilestireno, 3-metilestireno, 4-propilestireno, 4-ciclohexilestireno, 4-dodecilestireno, 2-etil-4-bencilestireno, 1-vinilnaftalina, 2-vinilnaftalina, éster metílico del ácido acrílico, éster etílico del ácido acrílico, éster propílico del ácido acrílico, éster butílico del ácido acrílico, éster pentílico del ácido acrílico, éster hexílico del ácido acrílico, éster

metílico del ácido metacrílico, N-(metil)acrilamida, éster 2-etilhexílico del ácido acrílico, éster 2-etilhexílico del ácido metacrílico, N-(2-etilhexil)acrilamida, éster octílico del ácido acrílico, éster octílico del ácido metacrílico, N-(octil)acrilamida, éster laurílico del ácido acrílico, éster laurílico del ácido metacrílico, N-(lauril)acrilamida, éster estearílico del ácido acrílico, éster estearílico del ácido metacrílico, N-(estearil)acrilamida, éster behenílico del ácido acrílico, éster behenílico del ácido metacrílico y N-(behenil)acrilamida o sus mezclas.

La proporción en peso de los copolímeros que contienen grupos ácido sulfónico en el peso total de agentes de limpieza de acuerdo con la invención asciende con preferencia a del 0,1 al 15 % en peso, con preferencia del 1,0 al 12 % en peso y en particular del 2,0 al 10 % en peso.

Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención pueden estar presentes en las formas de confección conocidas para el experto en la materia, es decir, por ejemplo en forma sólida o líquida, aunque también como combinación de formas de presentación sólidas y líquidas. Como formas de presentación sólidas son adecuados en particular polvos, granulados, extruidos o compactados, en particular comprimidos. Las formas de presentación líquidas a base de agua y/o disolventes orgánicos pueden estar presentes espesas, en forma de geles.

Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención están presentes con preferencia en forma líquida. Los agentes de limpieza preferentes contienen con respecto a su peso total más del 40 % en peso, con preferencia entre el 50 y el 90 % en peso y en particular entre el 60 y el 80 % en peso de agua.

Como otro constituyente pueden contener los agentes de limpieza de acuerdo con la invención un disolvente orgánico. La adición de disolventes orgánicos repercute de manera ventajosa en la estabilidad enzimática y el rendimiento de limpieza de estos agentes. Los disolventes orgánicos preferentes procedían del grupo alcoholes mono- o polivalentes, alcanolaminas o glicoléteres. Con preferencia, los disolventes se seleccionan de etanol, n- o i-propanol, butanol, glicol, propano- o butanodiol, glicerol, glicol, propil- o butildiglicol, hexilenglicol, éter de etilenglicolmetilo, éter de etilenglicoletilo, éter de etilenglicolpropilo, éter de etilenglicolmono-butilo, éter de dietilenglicolmetilo, éter de di-etilenglicoletilo, éter de propilenglicolmetilo, de propilenglicoletilo o propilenglicolpropilo, éter de dipropilenglicolmetilo, o de dipropilenglicoletilo, metoxi-, etoxi- o butoxitriglicol, 1-butoxi-2-propanol, 3-metil-3-metoxibutanol, éter de propilen-glicol-t-butilo así como mezclas de estos disolventes. La proporción en peso de estos disolventes orgánicos en el peso total de agentes de limpieza de acuerdo con la invención asciende con preferencia a del 0,1 al 10 % en peso, preferentemente del 0,2 al 8,0 % en peso y en particular del 0,5 al 5,0 % en peso. Un disolvente orgánico especialmente preferente y especialmente eficaz con respecto a la estabilización de los agentes de limpieza es la glicerina así como el 1,2-propilenglicol. Son preferentes de acuerdo con la invención los agentes de limpieza líquidos que contienen al menos un poliol, con preferencia del grupo glicerina y 1,2-propilenglicol, ascendiendo la proporción en peso del poliol en el peso total del agente de limpieza con preferencia a del 0,1 al 10 % en peso, preferentemente del 0,2 al 8,0 % en peso y en particular del 0,5 al 5,0 % en peso. Otros disolventes orgánicos preferentes son las aminas orgánicas y alcanolaminas. Los agentes de limpieza de acuerdo con la invención contienen estas aminas con preferencia en cantidades del 0,1 al 10 % en peso, preferentemente del 0,2 al 8,0 % en peso y en particular del 0,5 al 5,0 % en peso, en cada caso con respecto a su peso total. Una alcanolamina especialmente preferente es la etanolamina.

Otro constituyente adicional de los agentes de limpieza de acuerdo con la invención es un alcohol de azúcar (alditol). El grupo de los alditoles comprende polioles no cíclicos de fórmula HOCH₂[CH(OH)]_nCH₂OH. A los alditoles pertenecen, por ejemplo, manitol, isomalt, lactitol, sorbitol y xilitol, treitol, eritritol y arabitol. Ha resultado ser especialmente ventajoso con respecto a la estabilidad enzimática el sorbitol. La proporción en peso del alcohol de azúcar en el peso total del agente de limpieza asciende con preferencia a del 1,0 al 10 % en peso, preferentemente del 2,0 al 8,0 % en peso y en particular del 3,0 al 6,0 % en peso.

Los agentes de limpieza líquidos de acuerdo con la invención se confeccionan con preferencia en forma multifásica, es decir, mediante la combinación de dos o más agentes de limpieza diferentes separados entre sí. Este tipo de confección aumenta la estabilidad del agente de limpieza y mejora su rendimiento de limpieza. Un agente de limpieza preferente de acuerdo con la invención está caracterizado por que comprende un medio de envasado y dos agentes de limpieza A y B líquidos separados que se encuentran en este medio de envasado, conteniendo la composición A

- a) al menos una proteasa del grupo, que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1 a lo largo de toda su longitud en al menos el 95 % y en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 presenta la sustitución de aminoácidos R99E en combinación con S3T, V4I y V199I;
- b) ácido 4-formilfenilbórico,
- c) al menos otra enzima del grupo de las amilasas distinta de la proteasa a),
- d) del 10 al 84,9 % en peso de sustancia/s soporte;
- e) del 15 al 89,9 % en peso de agua;
- y conteniendo la composición B
- m) del 10 al 75 % en peso de sustancia/s soporte;
- n) del 25 al 90 % en peso de agua.

ES 2 788 325 T3

La composición de algunos agentes de limpieza preferentes puede desprenderse de las siguientes tablas (datos en % en peso con respecto al peso total del agente de limpieza siempre y cuando no se indique lo contrario).

	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4	Fórmula 5
Proteasa a) *	de 0,005 a 1,0	de 0,01 a 0,5	de 0,02 a 0,2	0,06	0,17
4-FPBA	de 0,0005 a 2,0	de 0,001 a 1,0	de 0,01 a 0,1	0,02	0,04
Enzima c) **	de 0,0005 a 1,0	de 0,001 a 0,5	de 0,002 a 0,2	0,004	0,012
Mezcla	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100

* Proteasa de acuerdo con la reivindicación 1, característica a)

** Enzima distinta de la proteasa a)

	Fórmula 36	Fórmula 37	Fórmula 38	Fórmula 39	Fórmula 40
Proteasa a) *	de 0,005 a 1,0	de 0,01 a 0,5	de 0,02 a 0,2	0,06	0,17
4-FPBA	de 0,0005 a 2,0	de 0,001 a 1,0	de 0,01 a 0,1	0,02	0,04
Amilasa	de 0,0005 a 1,0	de 0,001 a 0,5	de 0,002 a 0,2	0,004	0,012
Mezcla	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100

* Proteasa de acuerdo con la reivindicación 2

5

	Fórmula 41	Fórmula 42	Fórmula 43	Fórmula 44	Fórmula 45
Proteasa a) *	de 0,005 a 1,0	de 0,01 a 0,5	de 0,02 a 0,2	0,06	0,17
4-FPBA	de 0,0005 a 2,0	de 0,001 a 1,0	de 0,01 a 0,1	0,02	0,04
Amilasa	de 0,0005 a 1,0	de 0,001 a 0,5	de 0,002 a 0,2	0,004	0,012
Agua	> 40	de 50 a 85	de 60 a 80	64	71
Mezcla	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100

* Proteasa de acuerdo con la reivindicación 2

	Fórmula 46	Fórmula 47	Fórmula 48	Fórmula 49	Fórmula 50
Proteasa a) *	de 0,005 a 1,0	de 0,01 a 0,5	de 0,02 a 0,2	0,06	0,17
4-FPBA	de 0,0005 a 2,0	de 0,001 a 1,0	de 0,01 a 0,1	0,02	0,04
Amilasa	de 0,0005 a 1,0	de 0,001 a 0,5	de 0,002 a 0,2	0,004	0,012
Sustancia soporte	de 5,0 a 40	de 10 a 30	de 12 a 25	26	18
Agua	> 40	de 50 a 85	de 60 a 80	64	71
Mezcla	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100

* Proteasa de acuerdo con la reivindicación 2

	Fórmula 51	Fórmula 52	Fórmula 53	Fórmula 54	Fórmula 55
Proteasa a) *	de 0,005 a 1,0	de 0,01 a 0,5	de 0,02 a 0,2	0,06	0,17
4-FPBA	de 0,0005 a 2,0	de 0,001 a 1,0	de 0,01 a 0,1	0,02	0,04
Amilasa	de 0,0005 a 1,0	de 0,001 a 0,5	de 0,002 a 0,2	0,004	0,012
Tensioactivo no iónico	de 0,2 a 10	de 0,4 a 7,0	de 0,6 a 6,0	4,0	2,0
Agua	> 40	de 50 a 85	de 60 a 80	64	71
Mezcla	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100

* Proteasa de acuerdo con la reivindicación 2

	Fórmula 56	Fórmula 57	Fórmula 58	Fórmula 59	Fórmula 60
Proteasa a) *	de 0,005 a 1,0	de 0,01 a 0,5	de 0,02 a 0,2	0,06	0,17
4-FPBA	de 0,0005 a 2,0	de 0,001 a 1,0	de 0,01 a 0,1	0,02	0,04
Amilasa	de 0,0005 a 1,0	de 0,001 a 0,5	de 0,002 a 0,2	0,004	0,012
Sustancia soporte	de 5,0 a 40	de 10 a 30	de 12 a 25	26	18
Tensioactivo no iónico	de 0,2 a 10	de 0,4 a 7,0	de 0,6 a 6,0	4,0	2,0
Agua	> 40	de 50 a 85	de 60 a 80	64	71
Mezcla	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100

* Proteasa de acuerdo con la reivindicación 2

ES 2 788 325 T3

	fórmula 61	fórmula 62	fórmula 63	fórmula 64	fórmula 65
Proteasa a) *	de 0,005 a 1,0	de 0,01 a 0,5	de 0,02 a 0,2	0,06	0,17
4-FPBA	de 0,0005 a 2,0	de 0,001 a 1,0	de 0,01 a 0,1	0,02	0,04
Amilasa	de 0,0005 a 1,0	de 0,001 a 0,5	de 0,002 a 0,2	0,004	0,012
Trifosfato de pentapotasio de 5,0 a 40		de 10 a 30	de 12 a 25	18	12
HEDP	de 0,1 a 8,0	de 0,2 a 5,0	de 0,5 a 3,0	3,0	2,0
Sulfo-copolímero	de 0,1 a 15	de 1,0 a 12	de 2,0 a 10	4,0	6,0
Hidroxiéteres mixtos	de 0,2 a 10	de 0,4 a 7,0	de 0,6 a 6,0	4,0	2,0
Agua	> 40	de 50 a 85	de 60 a 80	64	71
Mezcla	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100

* Proteasa de acuerdo con la reivindicación 2

5 Un segundo objeto de la presente solicitud es un procedimiento de limpieza con el uso de uno de los agentes de limpieza de acuerdo con la invención descritos antes. En una forma de realización preferente de procedimientos de acuerdo con la invención se introduce el agente de limpieza en el desarrollo del procedimiento en un baño de limpieza acuoso.

10 Un procedimiento de limpieza preferente es un procedimiento para el lavado de la vajilla a máquina. La dosificación del agente de limpieza de acuerdo con la invención en el baño de limpieza puede efectuarse en un procedimiento de este tipo por ejemplo por medio de la cámara de dosificación en la puerta o por medio de un recipiente de dosificación adicional en el espacio interior del lavavajillas. Como alternativa, el agente de limpieza puede aplicarse también directamente sobre la vajilla sucia o sobre una de las paredes interiores del lavavajillas, por ejemplo el lado interior de la puerta.

15 La ejecución del procedimiento de acuerdo con la invención se efectúa en el espacio interior de un lavavajillas habitual en el mercado. El programa de limpieza puede seleccionarse y establecerse en un lavavajillas por regla general antes de la ejecución del procedimiento para el lavado de la vajilla por el usuario. El programa de limpieza, usado en el procedimiento de acuerdo con la invención, del lavavajillas comprende, a este respecto, al menos un ciclo de enjuague previo y un ciclo de limpieza. De acuerdo con la invención, son preferentes programas de limpieza que comprenden ciclos adicionales de limpieza o enjuague, por ejemplo un ciclo de aclarado. El procedimiento de acuerdo con la invención es con preferencia especial constituyente de un programa de limpieza, que comprende un ciclo de enjuague previo, un ciclo de limpieza, así como un ciclo de aclarado. El procedimiento de acuerdo con la invención se usa preferentemente en relación con programas de limpieza de este tipo, en los que el baño de lavado se calienta durante el desarrollo del ciclo de limpieza. En una forma de realización preferente del procedimiento de acuerdo con la invención, el ciclo de limpieza, en cuyo desarrollo se introduce mediante dosificación el agente de limpieza de acuerdo con la invención en el espacio interior del lavavajillas, está caracterizado por que en su desarrollo la temperatura del baño de limpieza sube hasta valores por encima de 30 °C, con preferencia por encima de 40 °C y en particular por encima de 50 °C.

30 Se desprenden formas de realización preferentes del procedimiento para el lavado de la vajilla a máquina de acuerdo con la invención cambiando lo que haya que cambiar a partir de la descripción de formas de realización preferentes del agente de limpieza de acuerdo con la invención, a la cual se remite para evitar repeticiones en este punto.

35 Un tercer objeto de la presente solicitud es el uso de ácido 4-formilfenilborónico en agentes de limpieza, que contienen

40 a) al menos una proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1 a lo largo de toda su longitud en al menos el 95 % y en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 presenta la sustitución de aminoácidos R99E en combinación con S3T, V4I y V199I; así como

45 b) al menos otra enzima distinta de la proteasa a), siendo la al menos otra enzima al menos una amilasa, para aumentar el rendimiento de limpieza enzimático, con preferencia el rendimiento de limpieza amilolítico del agente de limpieza.

50 El uso de acuerdo con la invención se efectúa con preferencia para eliminar suciedades sensibles a la amilasa sobre productos textiles o superficies duras. Es especialmente preferente usar los agentes de limpieza de acuerdo con la invención como agentes de lavado de la vajilla a máquina. Ejemplo: Determinación del rendimiento de limpieza de agentes de lavado de la vajilla a máquina de acuerdo con la invención.

Como formulación básica sirvió un agente de lavado de la vajilla a máquina líquido bifásico de la siguiente composición (todos los datos en porcentaje en peso):

(a) Fase enzimática:

Ayudante	18,0
Alcohol de azúcar	12,0
Tensioactivo no iónico (C8-C10 etoxilato de alcohol graso con 22 OE)	5,0
Compuesto alcalino (base)	3,5
Ácido bórico	3,0
Fosfonato (HEDP)	1,5
Preparación de amilasa	1,5
Preparación de proteasa	3,5
4-FPBA	0,02
Sal de Ca	1,2
Sal de Zn	0,2
Espesante	1,0
Colorante, perfume, conservante	0,3
Agua	hasta 100

5

(b) Fase alcalina:

Ayudante	12,0
Carbonato de sodio	10,0
Sulfopolímero	7,0
Compuesto alcalino (base)	4,0
Monoetanolamina	3,5
Fosfonato (HEDP)	4,0
Espesante	1,0
Colorante, perfume, conservante	0,3
Agua	hasta 100

10 La fase enzimática de la formulación básica se mezcló para los distintos enfoques experimentales en cada caso con el 3,5 % en peso de preparaciones de las siguientes proteasas:

V1: Savinase Ultra 16 L (Novozymes)

E1: proteasa que presenta una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 con las sustituciones de aminoácidos R99E, S3T, V4I y V199I en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1;

15 E2: proteasa que presenta una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO. 2 con la sustitución de aminoácidos S99A en combinación con una inserción del aminoácido Asp (D) entre las posiciones 99 y 100, en cada caso en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 2.

20 Para determinar el rendimiento de limpieza se dosificaron ambas fases en partes iguales (en cada caso 20 g por fase). Se lavó en un índice de valores de pH entre pH 9 y pH 10 en un lavavajillas G698SC de la empresa Miele en un volumen de 5 litros en una duración de 60 minutos a una temperatura de 50 °C. Se usó vajilla con manchas de copos de avena.

25 La evaluación del rendimiento de limpieza se efectuó de acuerdo con el método IKW estándar visualmente mediante una escala de 1 a 10, siendo el valor 10 la mejor nota (no se reconocen residuos). Los resultados se resumen en la siguiente tabla 1:

Tabla 1:

	Nota IKW
V1	6,5
E1	7,5
E2	7,5

30 La serie de ensayos muestra que las composiciones E1 y E2 de acuerdo con la invención presentan en comparación con la formulación comparativa del estado de la técnica un rendimiento de limpieza amilolítico mejorado claramente.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Henkel AG & Co. KGaA
- 5 <120> Detergentes o agentes de limpieza con un rendimiento enzimático mejorado
- <130> PT031510PCT(2)
- <150> 102012215642
- 10 <151> 04-09-2012
- <160> 4
- <170> PatentIn versión 3.5
- 15 <210> 1
- <211> 269
- <212> PRT
- <213> Bacillus lentus
- 20 <400> 1

```

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

```

ES 2 788 325 T3

				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> Bacillus lentus

10

<400> 2

ES 2 788 325 T3

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

ES 2 788 325 T3

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

ES 2 788 325 T3

			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, que contiene
- 5 a) al menos una proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1 a lo largo de toda su longitud en al menos el 95 % y en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 presenta la sustitución de aminoácidos R99E en combinación con S3T, V4I y V199I,
- 10 b) ácido 4-formilfenilbórico,
c) al menos otra enzima del grupo de las amilasas distinta de la proteasa a).
2. Agente de limpieza según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la proteasa a) presenta una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 con las sustituciones de aminoácidos R99E, S3T, V4I y V199I en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1.
- 15 3. Agente de limpieza según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la proporción en peso de la proteasa en el peso total del agente de limpieza con respecto a la proteína activa asciende a del 0,005 al 1,0 % en peso, preferentemente del 0,01 al 0,5 % en peso y en particular del 0,02 al 0,2 % en peso.
- 20 4. Agente de limpieza según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la proporción en peso del ácido 4-formilfenilborónico en el peso total del agente de limpieza asciende a del 0,0005 al 2,0 % en peso, con preferencia del 0,001 al 1,0 % en peso y en particular del 0,01 al 0,1 % en peso.
- 25 5. Agente de limpieza según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la proporción en peso de la enzima c) en el peso total del agente de limpieza con respecto a la proteína activa asciende a del 0,0005 al 1,0 % en peso, preferentemente del 0,001 al 0,5 % en peso y en particular del 0,002 al 0,2 % en peso.
- 30 6. Procedimiento de limpieza con el uso de un agente de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 5.
7. Uso de ácido 4-formilfenilborónico en agentes de limpieza, que contienen
- 35 a) al menos una proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO. 1 a lo largo de toda su longitud en al menos el 95 % y en el recuento de acuerdo con la SEQ ID NO. 1 presenta la sustitución de aminoácidos R99E en combinación con S3T, V4I y V199I;
así como
b) al menos otra enzima distinta de la proteasa a), siendo la al menos otra enzima al menos una amilasa, para aumentar el rendimiento de limpieza amilolítico del agente de limpieza.