

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 788 601**

51 Int. Cl.:

C12N 9/54 (2006.01)

C11D 3/386 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.04.2014 PCT/EP2014/058176**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.11.2014 WO14177430**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.04.2014 E 14720548 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2020 EP 2992093**

54 Título: **Productos de limpieza que contienen proteasas**

30 Prioridad:

30.04.2013 DE 102013207933

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

22.10.2020

73 Titular/es:

HENKEL AG & CO. KGAA (100.0%)

Henkelstrasse 67

40589 Düsseldorf, DE

72 Inventor/es:

EITING, THOMAS;

MUSSMANN, NINA;

BASTIGKEIT, THORSTEN y

WRUBBEL, NOELLE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 788 601 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

Productos de limpieza que contienen proteasas

5 La presente solicitud está dirigida a un producto de limpieza, preferiblemente un producto para lavado de vajilla, preferiblemente un producto para lavado automático de vajilla, que contiene al menos dos proteasas, y al uso de dicho producto de limpieza.

10 El criterio más importante al limpiar textiles, superficies duras, como principalmente al lavar vajillas, principalmente en el caso de lavavajillas automáticos, es el rendimiento de limpieza en una amplia variedad de suciedades, que se introducen principalmente en forma de residuos de alimentos. Incluso si el rendimiento de limpieza de los detergentes para lavavajillas utilizados en la actualidad es generalmente alto, no obstante, se presenta el problema de que, incluso debido a la tendencia general en el lavado automático de vajillas de utilizar cada vez más programas de baja temperatura, muchos de los detergentes para lavavajillas automáticos habituales tienen un rendimiento de limpieza inadecuado en el caso de la suciedad persistente y quemada. Tal rendimiento de limpieza inadecuado y la limpieza inadecuada de las vajillas, asociada con este, conducen a la insatisfacción del consumidor y al hecho de que el consumidor trata previamente las manchas rebeldes, lo que a su vez aumenta el consumo de agua y energía. Por ejemplo, por las publicaciones EP2216393A1, WO2011072117A1, EP2551335A1 y WO2009021867A2 se conocen se conocen composiciones de productos de limpieza con enzimas, principalmente, por ejemplo, una o dos proteasas, en cuyo caso el uso de enzimas sirve para eliminar manchas especiales. Sin embargo, existe una necesidad general de detergentes mejorados para el lavado de vajilla a máquina que todavía tengan un buen rendimiento de limpieza incluso en suciedad persistente, principalmente quemada, sin reducir el buen rendimiento de limpieza existente en otras suciedades.

25 Por lo tanto, el objeto de la presente invención era proporcionar un producto de limpieza, preferiblemente un producto para lavado de vajillas, preferiblemente un producto para lavado de vajillas a máquina, que tiene un mayor rendimiento de limpieza en el caso de dicha suciedad, sin que se reduzca el rendimiento de limpieza en otra suciedad.

30 Sorprendentemente, ahora se ha descubierto que el uso de una combinación de diferentes proteasas mejora considerablemente el rendimiento de limpieza de los productos de limpieza correspondientes, preferiblemente un producto para lavar vajillas, preferiblemente un producto para lavar vajillas a máquina, en el caso de suciedad sensible a la proteasa, principalmente en suciedad asociada a alimentos quemados, principalmente a alimentos quemados que contienen azúcar.

35 Por lo tanto, en un primer aspecto, la presente invención se dirige a un producto de limpieza para superficies duras, principalmente un producto para lavar vajillas, preferiblemente un producto para lavar vajillas en máquina, el cual comprende una primera y una segunda proteasa, en cuyo caso

40 a) la primera proteasa comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 80% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y presenta al menos una sustitución de aminoácidos en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en el recuento de acuerdo con Seq ID NO. 1, y

b) la segunda proteasa se selecciona del grupo formado por

45 b1) proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 80% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud total y en el recuento según Seq ID NO. 2 tiene el aminoácido ácido glutámico (E) en la posición 99;

50 b2) proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud y en el recuento según Seq ID NO. 2 tiene la sustitución de aminoácidos R99E en combinación con al menos otras dos sustituciones de aminoácidos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en S3T, V4I y V199I; y

55 b3) proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y tiene la sustitución de aminoácidos S99A en combinación con una inserción entre las posiciones 99 y 100 en el recuento según BPN', y el aminoácido insertado es ácido aspártico (D);

60 Al emplear el producto, dicha combinación de varias proteasas provoca un rendimiento de limpieza significativamente mayor sobre la suciedad pertinaz.

65 Otro objeto de la presente invención es el uso de dicho producto de limpieza, preferiblemente un producto para lavar vajillas, preferiblemente un producto para lavar vajillas a máquina en un procedimiento de limpieza, preferiblemente un procedimiento para lavar vajillas, principalmente en un procedimiento para lavar vajillas a máquina, preferiblemente el uso para mejorar el rendimiento de limpieza, principalmente, el rendimiento de limpieza en suciedad sensible a proteasas, en superficies duras, principalmente vajillas al lavarlas, preferiblemente en una máquina lavavajillas

automática, principalmente suciedad pertinaz, quemada, etc., incluso a temperaturas inferiores a las temperaturas usadas habitualmente.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento de limpieza, preferiblemente un procedimiento para lavar vajillas, preferiblemente un procedimiento para lavar vajillas a máquina, en el que se usa dicho producto de limpieza, preferiblemente un producto para lavar vajillas, preferiblemente un producto para lavar vajillas, principalmente con el propósito de mejorar el rendimiento de limpieza en suciedad quemada, sensible a la proteasa. En diversas formas de realización de la invención, en el procedimiento de lavado de vajillas se usan temperaturas que son más bajas que las temperaturas comúnmente usadas.

"Temperaturas bajas" o "temperaturas que son más bajas que las temperaturas comúnmente usadas", como se usa en el presente documento en relación con los procedimientos de lavado de vajillas, se refieren preferiblemente a temperaturas inferiores a 60°C, principalmente inferiores a 55°C, más preferiblemente 50°C o inferiores, más preferiblemente 45°C o inferiores, y del modo más preferible 40°C o inferiores. Estas especificaciones de temperatura se refieren a las temperaturas utilizadas en los pasos de enjuague.

Estos y otros aspectos, características y ventajas de la invención serán evidentes para los expertos en la materia al estudiar la siguiente descripción detallada y las reivindicaciones. Cada característica de un aspecto de la invención puede usarse en cualquier otro aspecto de la invención. Además, se sobreentiende que los ejemplos aquí contenidos están destinados a describir e ilustrar la invención, pero no a limitarla, y principalmente la invención no se limita a estos ejemplos. A menos que se indique lo contrario, todos los porcentajes son % en peso. Los intervalos numéricos que se especifican en el formato "de x a y" incluyen los valores mencionados. Si se especifican varios intervalos numéricos preferidos en este formato, se sobreentiende que también están cubiertos todos los intervalos que resultan de la combinación de los diferentes puntos finales.

Las proteasas utilizadas son serina-proteasas alcalinas. Actúan como endopeptidasas no específicas, lo que significa que hidrolizan cualesquiera enlaces de amida ácida que están dentro de péptidos o proteínas y, por lo tanto, causan la degradación de la suciedad que contiene proteínas en los objetos que se van a limpiar. Su pH óptimo generalmente está en el intervalo claramente alcalino.

Las secuencias de la proteasa (madura) Subtilisina 309 de *Bacillus lentus*, que se vende bajo el nombre comercial Savinase® por Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca, y la proteasa alcalina madura de *Bacillus lentus* DSM 5483 (tipo silvestre) están especificados en Seq ID NO. 1 o Seq ID NO. 2.

"Diversos", como se usa en el presente documento con respecto a las proteasas, se refiere a proteasas que difieren en su secuencia de aminoácidos. En diferentes formas de realización, diferentes proteasas provienen de diferentes tipos de organismos o difieren entre sí en, por ejemplo, mutaciones producidas artificialmente.

"Variante", como se usa en el presente documento en relación con proteasas, se refiere a variaciones naturales o generadas artificialmente de una proteasa nativa que tiene una secuencia de aminoácidos modificada en comparación con la forma de referencia. Tal variante puede tener mutaciones puntuales simples o múltiples; es decir, sustituciones de un aminoácido, que se produce naturalmente en la posición correspondiente, por otro, inserciones (inserción de uno o más aminoácidos) y/o supresiones (eliminación de uno o más aminoácidos), principalmente una o más mutaciones puntuales. Variantes de este tipo tienen preferiblemente al menos 50, preferiblemente 60 o más, más preferiblemente 70, 80, 90, 100% o más de la actividad enzimática de la forma de referencia. En diversas formas de realización, una variante de este tipo tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 70, preferiblemente 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 o 99% en toda su longitud a la secuencia que sirve como referencia. Las variantes tienen preferiblemente la misma longitud que la secuencia de referencia. Las variantes se pueden distinguir de la forma de referencia por propiedades mejoradas como, por ejemplo, mayor actividad enzimática, mayor estabilidad, especificidad de sustrato modificada, etc. Solo se usan aquellas variantes que tienen actividad de proteasa.

La identidad de las secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos se determina mediante una comparación de secuencias. Esta comparación de secuencias se basa en el algoritmo BLAST establecido y comúnmente utilizado en el estado de la técnica (véase, por ejemplo, Altschul, SF, Gish, W., Miller, W., Myers, EW & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool" ["Herramienta de búsqueda de alineación local básica"] *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" ["Gapped BLAST y PSIBLAST: una nueva generación de programas de búsqueda de bases de datos de proteínas"]; *Nucleic Acids Res.*, 25, pp.3389-3402) y ocurre en principio asignando entre sí secuencias similares de nucleótidos o aminoácidos en las secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos. Una asignación tabular de las posiciones relevantes se llama alineación. Otro algoritmo disponible en el estado de la técnica es el algoritmo FASTA.

Tal comparación también permite una declaración sobre la similitud de las secuencias comparadas entre sí. Habitualmente se indica en porcentaje de identidad, es decir, en la fracción de nucleótidos idénticos o residuos de aminoácidos en las mismas posiciones o en una alineación en las posiciones correspondientes entre sí. El concepto

más amplio de homología contempla intercambios de aminoácidos conservados en secuencias de aminoácidos, es decir, aminoácidos con actividad química similar, ya que estos generalmente ejercen actividades químicas similares dentro de la proteína. Por lo tanto, la similitud de las secuencias comparadas también se puede dar como porcentaje de homología o porcentaje de similitud. Por lo tanto, las regiones homólogas o idénticas de diferentes secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos se definen mediante coincidencias en las secuencias. Tales regiones a menudo tienen funciones idénticas. Pueden ser pequeñas y comprender solo unos pocos nucleótidos o aminoácidos. Tales regiones pequeñas a menudo tienen funciones esenciales para la actividad total de la proteína. Por lo tanto, puede tener sentido relacionar coincidencias de secuencia solo con áreas individuales, opcionalmente pequeñas. Sin embargo, a menos que se indique lo contrario, la información de identidad u homología en la presente solicitud se refiere a la longitud total de la secuencia de ácido nucleico o de aminoácidos especificada respectivamente.

Como primera proteasa en el sentido de la presente invención se emplea una proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y tiene al menos una sustitución de aminoácidos en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en el recuento según Seq ID NO. 1.

Por lo tanto, como una primera proteasa puede emplearse una variante de subtilisina 309 de *Bacillus lentus* con la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1, que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y tiene al menos una sustitución de aminoácido en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en el recuento según Seq ID NO. 1. Se usan preferiblemente proteasas que tienen una sustitución de aminoácidos en dos, preferiblemente tres, principalmente cuatro, de modo muy particularmente preferible cinco de las posiciones mencionadas anteriormente.

Se usa de modo particularmente preferido una variante con al menos uno, preferiblemente dos, principalmente tres, de modo particularmente preferible cuatro o de modo muy particularmente preferible 5, de las sustituciones de aminoácidos seleccionadas de S9R, A15T, V66A, N212D y Q239R con respecto al recuento según Seq ID NO. 1. Dicha variante tiene la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 3.

Otras variantes que se pueden usar son aquellas que tienen una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 3, en cuyo caso las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 son invariables; es decir, el aminoácido en estas posiciones corresponde al aminoácido correspondiente en Seq ID NO. 3.

La segunda proteasa es diferente de la primera proteasa, es decir, una proteasa que se ajusta a la definición tanto de la primera proteasa como también de la segunda proteasa no puede contarse como la primera y la segunda proteasa al mismo tiempo.

La segunda proteasa b) se selecciona del grupo de

b1) proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud y que tiene el aminoácido ácido glutámico (E) en la posición 99 en el recuento según Seq ID NO. 2;

b2) proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud y en el recuento según Seq ID NO. 2 tiene la sustitución de aminoácidos R99E en combinación con al menos dos otras sustituciones de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en S3T, V4I y V199I;

b3) proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y que en el recuento de BPN' tiene la sustitución de aminoácidos S99A en combinación con una inserción entre las posiciones 99 y 100, en cuyo caso el aminoácido insertado es ácido aspártico (D);

Un segundo componente esencial de los productos de limpieza según la invención es la proteasa b), seleccionada entre las proteasas b1), b2) y b3).

La proteasa b1) comprende preferiblemente una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en al menos 95% y cada vez más preferiblemente en al menos 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5% y 99% en toda su longitud y tiene el aminoácido ácido glutámico (E) en la posición 99 en el recuento según Seq ID NO. 2. Una proteasa particularmente preferida a este respecto se indica en Seq ID NO. 4.

La proteasa b2) comprende preferiblemente una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% y cada vez más preferiblemente en al menos 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5% y 98,8% en toda su longitud a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 y, en el recuento según Seq ID NO. 2, tiene la sustitución de aminoácido R99E en combinación con al menos dos sustituciones de aminoácidos adicionales que se seleccionan del

grupo que consiste en S3T, V4I y V199I. Una proteasa particularmente preferida a este respecto se indica en Seq ID NO. 5.

5 La proteasa b3) comprende preferiblemente una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% y cada vez más preferiblemente en al menos 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5% y 99% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y tiene la sustitución de aminoácidos S99A en combinación con una inserción entre las posiciones 99 y 100 en el recuento según BPN', en cuyo caso el aminoácido insertado es ácido aspártico (D). Una proteasa particularmente preferida a este respecto se indica en Seq ID NO. 6.

10 Otras proteasas preferidas adicionales son proteasas como se describen anteriormente que tienen, además, el aminoácido leucina (L) en la posición 211 en el recuento según Seq ID NO. 2.

15 Los productos de limpieza particularmente preferidos según la invención se caracterizan porque la proteasa b1) comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 99% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud y en la posición 99 en el recuento según Seq ID NO. 2 tiene el aminoácido ácido glutámico (E). De manera muy particularmente preferible la proteasa b1) tiene una secuencia de aminoácidos que, en el recuento según Seq ID NO. 2, en las posiciones 1-98 y 100-269, corresponde a Seq ID NO. 2 y tiene el aminoácido ácido glutámico (E) en la posición 99. Una proteasa de este tipo se indica en Seq ID NO. 4.

20 Otros productos de limpieza preferidos según la invención se caracterizan porque la proteasa b2) comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 98% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud y en el recuento según Seq ID NO. 2 tiene las sustituciones de aminoácidos R99E, S3T, V4I y V199I. De manera muy particularmente preferible, la proteasa b2) tiene una secuencia de aminoácidos según Seq ID NO. 2 con las sustituciones de aminoácidos R99E, S3T, V4I y V199I en el recuento según Seq ID NO. 2. Una proteasa de este tipo se indica en Seq ID NO. 5.

30 Los productos de limpieza preferidos según la invención se caracterizan además porque la proteasa b3) comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 98% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y en el recuento según BPN' tiene la sustitución de aminoácidos S99A en combinación con una inserción entre las posiciones 99 y 100, en cuyo caso el aminoácido insertado es Asp (D). De modo muy particularmente preferido, la proteasa b3) tiene una secuencia de aminoácidos según Seq ID NO. 1 con la sustitución de aminoácido S99A en combinación con una inserción del aminoácido Asp (D) entre las posiciones 99 y 100, respectivamente en el recuento según BPN'.

35 Las combinaciones preferidas de proteasas son principalmente la combinación de la proteasa que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO: 3 con una proteasa que tiene una de las secuencias de aminoácidos indicada en Seq ID NO: 4, Seq ID NO: 5 o Seq ID NO: 6.

40 En diversas formas de realización, estas combinaciones de proteasas se usan en una relación de masa con respecto a la proteína activa de 10:1 a 1:10, preferiblemente 5:1 a 1:5. La proteasa con la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO: 3 se usa de manera particularmente preferida con la proteasa con la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO: 4 en una relación de masa de 10:1 a 1:10, preferiblemente 5:1 a 1:5, principalmente de 2:1 a 1:2, de modo particularmente preferible en partes iguales. Además, la proteasa con la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO: 3 se usa de manera particularmente preferida con la proteasa que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO: 5 en una relación de masa de 10:1 a 1:10, preferiblemente 5:1 a 1:5, principalmente de 2:1 a 1:2, de modo particularmente preferible en partes iguales. Según otra forma de realización particularmente preferida, la proteasa con la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO: 3 se usa con la proteasa que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO: 6 en una relación de masa de 10:1 a 1:10, preferiblemente 5:1 a 1:5, principalmente de 2:1 a 1:2, de modo particularmente preferible en partes iguales.

50 Sorprendentemente, las combinaciones de diferentes proteasas, descritas en el presente documento, muestran la propiedad de mejorar el rendimiento de los productos de limpieza, preferiblemente del producto para lavado de vajillas, conduciendo a un rendimiento de limpieza mejorado en las manchas quemadas, pertinaces. El aumento en el rendimiento de limpieza también puede observarse a bajas temperaturas, es decir temperaturas, que son más bajas que las usadas habitualmente en los procedimientos de lavado de vajillas como se definió anteriormente. Esto permite que el procedimiento de limpieza, preferiblemente el procedimiento de lavado automático de vajilla, se realice a temperaturas más bajas y, a pesar de esto, mantenga un buen rendimiento de limpieza.

60 Como regla general, la mejora en el rendimiento de limpieza significa que al usar los productos de limpieza descritos aquí, principalmente los productos para lavar vajillas, se mejora notablemente la eliminación de la suciedad, principalmente la suciedad quemada, de las superficies duras, principalmente los vajillas, al lavarlas preferiblemente en un lavavajillas automático, en comparación con el uso de detergentes, preferiblemente detergentes para lavavajillas, que no contienen las combinaciones de enzimas descritas en este documento.

65 Las enzimas a emplearse también pueden prepararse junto con sustancias acompañantes, por ejemplo, procedentes de fermentación, o con estabilizadores.

Los productos de limpieza, principalmente los productos para lavar vajillas, contienen cada proteasa preferiblemente en una cantidad de 1×10^{-8} a 5% en peso, con respecto a la proteína activa respectiva. Las enzimas están contenidas en cada caso preferiblemente de 0,001 a 2% en peso, más preferiblemente de 0,005 a 1,5% en peso, aún más preferiblemente de 0,01 a 1% en peso y de modo particularmente preferible de 0,01 a 0,5% en peso en estos productos.

En formas de realización particularmente preferidas, la primera proteasa se usa en los productos descritos aquí en una cantidad total de 0,01 a 1% en peso, preferiblemente de 0,025 a 0,5% en peso, con respecto a la proteína activa. De la misma manera, la segunda proteasa se usa preferiblemente en una cantidad total de 0,005 a 0,75% en peso, preferiblemente de 0,01 a 0,5% en peso, con respecto a la proteína activa. Como primera proteasa se emplea preferiblemente 0,025 a 0,5% en peso de la proteasa que tiene la secuencia de Seq ID NO: 3 y como segunda proteasa se emplea 0,01 a 0,5% en peso de la proteasa que tiene la secuencia de Seq ID NO: 4. En otra forma preferida de realización, como primera proteasa se emplea preferiblemente 0,025 a 0,5% en peso de la proteasa que tiene la secuencia de Seq ID NO: 3 y como segunda proteasa se emplea 0,01 a 0,5% en peso de la proteasa que tiene la secuencia de Seq ID NO: 5. Según otra forma de realización, igualmente preferida, como primera proteasa se emplea preferiblemente 0,025 a 0,5% en peso de la proteasa que tiene la secuencia de Seq ID NO: 3 y como segunda proteasa se emplea 0,01 a 0,5% en peso de la proteasa que tiene la secuencia de Seq ID NO: 6.

En formulaciones líquidas, las enzimas se usan preferiblemente en forma de formulación o formulaciones líquidas enzimáticas.

La concentración de proteína se puede determinar utilizando procedimientos conocidos, por ejemplo, el procedimiento BCA (ácido bicinonínico; ácido 2,2'-bicinolil-4,4'-dicarboxílico) o el procedimiento de Biuret. A este respecto, la concentración de proteína activa se determina titulando los centros activos usando un inhibidor irreversible adecuado (para proteasas, por ejemplo, fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF)) y determinando la actividad residual (cf. M. Bender y col., J. Am. Chem Soc. 88, 24 (1966), páginas 5890-5913).

Las proteasas pueden protegerse contra daños, tales como inactivación, desnaturalización o descomposición, por ejemplo, por influencias físicas, oxidación o disociación proteolítica, especialmente durante el almacenamiento. En el caso de la obtención microbiana, se prefiere particularmente la inhibición de la proteólisis. Para este propósito, los productos descritos pueden contener estabilizadores.

Las proteasas activas para la limpieza generalmente no se proporcionan en forma de proteína pura sino más bien en forma de preparaciones estabilizadas, almacenables y transportables. Estas preparaciones prefabricadas incluyen, por ejemplo, las preparaciones sólidas obtenidas por granulación, extrusión o liofilización o, particularmente en el caso de productos en forma líquida o de gel, soluciones de las enzimas, ventajosamente tan concentradas como sea posible, bajas en agua y/o con estabilizadores u otros auxiliares.

Alternativamente, las enzimas pueden encapsularse tanto para la forma de administración sólida, como para la líquida, por ejemplo mediante secado por pulverización o extrusión de la solución enzimática junto con un polímero preferiblemente natural o en forma de cápsulas, por ejemplo aquellas en las que las enzimas están encerradas como en un gel solidificado o aquellas del tipo núcleo-cáscara, en el que un núcleo que contiene enzima está recubierto con una capa protectora impermeable al agua, al aire y/o a los productos químicos. Otros ingredientes activos, por ejemplo, estabilizadores, emulsionantes, pigmentos, productos blanqueadores o colorantes, se pueden aplicar adicionalmente en capas soportadas. Las cápsulas de este tipo se aplican mediante procedimientos conocidos per se, por ejemplo, por agitación o granulación con rodillo o en procedimientos de lecho fluido. Dichos gránulos son ventajosamente bajos en polvo, por ejemplo, por la aplicación de formadores de película polimérica, y son estables durante el almacenamiento debido al recubrimiento.

Además, es posible embalar dos o más enzimas juntas, de modo que un solo granulado presente varias actividades enzimáticas.

Como se puede ver en las formas de realización anteriores, la proteína enzima forma solo una fracción del peso total de las preparaciones enzimáticas convencionales. Las preparaciones de proteasa usadas con preferencia contienen entre 0,1 y 40% en peso, preferiblemente entre 0,2 y 30% en peso, de modo particularmente preferible entre 0,4 y 20% en peso y principalmente entre 0,8 y 15% en peso de la proteína enzima. Por lo tanto, los productos descritos contienen tales preparaciones enzimáticas preferiblemente en una cantidad respectivamente de 0,1 a 10% en peso, preferiblemente de 0,2 a 5% en peso, con respecto al producto total.

Los productos de limpieza descritos aquí, principalmente los productos lavavajillas automáticos preferidos, pueden ser de naturaleza sólida o líquida y principalmente pueden estar presentes como sólidos en polvo, en forma de partículas post-compactadas, como soluciones o suspensiones homogéneas. En otra forma preferida de realización de la invención, el detergente para lavavajillas automático está en forma de porciones. En otra forma preferida de realización de la invención, el detergente para lavavajillas automático tiene una pluralidad de composiciones separadas espacialmente, lo que hace posible separar ingredientes incompatibles entre sí u ofrecer composiciones en

combinación que se usan en el lavavajillas en diferentes momentos. Esto es particularmente ventajoso si los detergentes para lavavajillas automáticos están en forma de porciones. Al menos una de las composiciones puede ser sólida y/o al menos una de las composiciones puede ser líquida; en tal caso, las proteasas están contenidas en al menos una de las composiciones, pero también pueden estar en varias composiciones.

5 Los productos descritos en el presente documento contienen preferiblemente al menos un constituyente más, principalmente al menos dos constituyentes más, seleccionados del grupo que consiste en secuestrantes (ablandadores de agua), tensioactivos, polímeros, productos blanqueadores, catalizadores de blanqueo, activadores de blanqueo, enzimas no proteasas, inhibidores de corrosión e inhibidores de corrosión de vidrio, adyuvantes de desintegración, fragancias y portadores de perfume.

A continuación, se describen posibles ingredientes que pueden usarse ventajosamente en los productos de limpieza descritos aquí, principalmente los productos para lavar vajillas, preferiblemente los productos para lavar vajillas a máquina.

15 Los secuestrantes se pueden usar ventajosamente. Los secuestrantes incluyen, principalmente, zeolitas, silicatos, carbonatos, co-secuestrantes orgánicos y, donde no hay prejuicios ecológicos contra su uso, también los fosfatos.

20 Los silicatos cristalinos en capas se pueden usar en los productos descritos aquí. Dichos productos de limpieza, preferiblemente productos para lavar vajillas, principalmente productos para lavar vajillas a máquina, contienen preferiblemente una fracción en peso de silicato cristalino en capas de 0,1 a 20% en peso, preferiblemente de 0,2 a 15% en peso y principalmente de 0,4 a 10% en peso, cada caso con respecto al peso total de estos productos.

25 También es posible usar los fosfatos generalmente conocidos como sustancias secuestrantes siempre que dicho uso no deba evitarse por razones ecológicas. Del gran número de fosfatos disponibles comercialmente, los fosfatos de metales alcalinos, con especial preferencia por el trifosfato de pentasodio o pentapotasio (tripolifosfato de sodio o potasio), son de la mayor importancia en la industria de los detergentes o productos de limpieza.

30 Fosfatos de metales alcalinos es el término general para las sales de metales alcalinos (especialmente sodio y potasio) de los diversos ácidos fosfóricos, en los que se puede distinguir entre los ácidos metafosfóricos (HPO_3)_n y el ácido ortofosfórico H_3PO_4 además de los representantes de mayor peso molecular. Los fosfatos reúnen en sí varias ventajas: actúan como portadores alcalinos, impiden los depósitos de cal en las piezas de la máquina o las incrustaciones de cal en tejidos y también contribuyen al rendimiento de la limpieza.

35 Los fosfatos particularmente importantes en la industria son el trifosfato de pentasodio, $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (Tripolifosfato de sodio) y la sal correspondiente de potasio, el trifosfato pentapotásico, $\text{K}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (tripolifosfato de potasio). Los tripolifosfatos de sodio y potasio se pueden usar preferiblemente.

40 En el contexto de la presente solicitud, los fosfatos se usan como sustancias activas de lavado o limpieza en los productos de limpieza, preferiblemente productos para lavar vajillas, especialmente en productos para lavar vajillas a máquina, de modo que los detergentes preferidos contienen esto(s) fosfato(s), preferiblemente fosfato(s) de metal alcalino, de modo particularmente preferible trifosfato pentasódico o pentapotásico (tripolifosfato de sodio o potasio), en cantidades de 5 a 80% en peso, preferiblemente de 15 a 75% en peso y principalmente de 20 a 70% en peso, cada caso con respecto al peso del detergente, preferiblemente detergente para lavavajillas, especialmente detergente para lavavajillas automático.

45 Otros secuestrantes son los portadores alcalinos. Como portadores alcalinos son válidos, por ejemplo, hidróxidos de metales alcalinos, carbonatos de metales alcalinos, hidrogenocarbonatos de metales alcalinos, sesquicarbonatos de metales alcalinos, los silicatos alcalinos mencionados, silicatos de metales alcalinos y mezclas de las sustancias mencionadas anteriormente; para los fines de esta invención pueden usarse preferiblemente los carbonatos de metales alcalinos, principalmente carbonato de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o sesquicarbonato de sodio. Se prefiere particularmente un sistema mejorador que contiene una mezcla de tripolifosfato y carbonato de sodio. También se prefiere particularmente un sistema secuestrante que contiene una mezcla de tripolifosfato y carbonato de sodio y disilicato de sodio. Debido a su baja compatibilidad química con los otros ingredientes de los productos de limpieza, principalmente los productos para lavar vajillas, preferiblemente los productos para lavar vajillas a máquina, en comparación con otras sustancias secuestrantes, los hidróxidos de metales alcalinos opcionales se prefieren solo en pequeñas cantidades o no se usan en absoluto.

50 Se prefiere particularmente usar carbonato (s) y/o hidrógeno-carbonato(s), preferiblemente carbonato(s) de metal(es) alcalino(s), de modo particularmente preferible carbonato de sodio, en cantidades de 2 a 50% en peso, preferiblemente de 5 a 40% en peso y principalmente del 7,5 al 30% en peso, en cada caso con respecto al peso del detergente, preferiblemente del detergente para lavavajillas automático. Particularmente preferidos son los productos que, con respecto al peso del detergente para lavavajillas automáticos, están contenidos en menos de 20% en peso, preferiblemente menos de 17% en peso, preferiblemente menos de 13% en peso y principalmente menos de 9% en peso de carbonato (s) y/o hidrógeno-carbonato(s), preferiblemente carbonato(s) de metal alcalino, de modo particularmente preferible carbonato de sodio.

Como co-secuestrantes orgánicos pueden mencionarse, principalmente, policarboxilatos/ácidos policarboxílicos, policarboxilatos poliméricos, ácido aspártico, poliacetales, dextrinas, otros co-secuestrantes orgánicos y fosfonatos. Estas clases de sustancias se describen a continuación.

5 Las sustancias secuestrantes orgánicas utilizables son, por ejemplo, los ácidos policarboxílicos que se pueden usar en forma del ácido libre y/o sus sales de sodio, y por ácidos policarboxílicos se entienden aquellos ácidos carboxílicos que tienen más de una función ácida. Por ejemplo, estos son ácido cítrico, ácido adípico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido málico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido fumárico, ácidos de azúcar, ácido nitrilotriacético (NTA),
10 siempre que dicho uso no sea objetable por razones ecológicas, y mezclas de estos. Además de su efecto secuestrante, los ácidos libres también suelen tener la propiedad de un componente acidificante y también sirven, por lo tanto, para ajustar un valor de pH más bajo y más suave del producto. Principalmente pueden mencionarse ácido cítrico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido glucónico y cualquier mezcla de estos.

15 El uso de ácido cítrico y/o de citratos en estos productos ha demostrado ser particularmente ventajoso para el rendimiento de limpieza y enjuague descrito aquí. Por lo tanto, se prefieren los productos de limpieza, preferiblemente los productos para lavar vajillas, de modo particularmente preferible los productos para lavar vajillas a máquina, caracterizados porque el producto contiene ácido cítrico o una sal de ácido cítrico y porque la fracción en peso de ácido cítrico o la sal de ácido cítrico es preferiblemente de más de 10% en peso, preferiblemente de más de 15% en peso y principalmente se encuentra entre 20 y 40% en peso.

Otra clase importante de secuestrantes libres de fosfato son los ácidos aminocarboxílicos y/o sus sales. Los representantes particularmente preferidos de esta clase son el ácido metilglicinadiacético (MGDA) o sus sales y el ácido glutaminadiacético (GLDA) o sus sales, o ácido etilendiaminadiacético o sus sales (EDDS). El contenido de
25 estos ácidos aminocarboxílicos o sus sales puede constituir, por ejemplo, entre 0,1 y 15% en peso, preferiblemente entre 0,5 y 10% en peso y principalmente entre 0,5 y 6% en peso. Los ácidos aminocarboxílicos y sus sales se pueden usar junto con los secuestrantes mencionados anteriormente, principalmente también con los secuestrantes libres de fosfato.

30 Los policarboxilatos poliméricos también son adecuados como secuestrantes; estos son, por ejemplo, las sales de metales alcalinos de ácido poliacrílico o ácido polimetacrílico, por ejemplo, aquellas con una masa molecular relativa de 500 a 70000 g/mol. Los polímeros adecuados son, principalmente, los poliacrilatos que preferiblemente tienen una masa molecular de 2000 a 20000 g/mol. Debido a su solubilidad superior, de este grupo a su vez pueden ser preferidos los poliacrilatos de cadena corta que tienen masas molares de 2000 a 10000 g/mol, y de modo particularmente
35 preferible de 3000 a 5000 g/mol.

También son adecuados los policarboxilatos copoliméricos, principalmente los del ácido acrílico con ácido metacrílico y del ácido acrílico o ácido metacrílico con ácido maleico.

40 Los policarboxilatos (co)poliméricos se pueden usar en forma de polvo o de solución acuosa. El contenido de policarboxilatos (co)poliméricos en los productos de limpieza, preferiblemente productos para lavavajillas, principalmente productos para lavavajillas automáticos, es preferiblemente de 0,5 a 20% en peso y principalmente de 3 a 10% en peso.

45 Para mejorar la solubilidad en agua, los polímeros también pueden contener ácidos alilosulfónicos tales como, por ejemplo, ácido aliloxibencenosulfónico y ácido metalilosulfónico, como monómeros. Otros copolímeros preferidos son aquellos que en calidad de monómeros presentan acroleína y ácido acrílico/sales de ácido acrílico o acroleína y acetato de vinilo.

50 Además, todos los compuestos que pueden formar complejos con iones de metales alcalinotérreos pueden usarse como secuestrantes.

Los productos descritos en el presente documento pueden contener tensioactivos, en cuyo caso el grupo de
55 tensioactivos incluye los tensioactivos no iónicos, aniónicos, catiónicos y anfóteros.

Todos los tensioactivos no iónicos conocidos por el experto en la materia pueden usarse como tensioactivos no iónicos. Los tensioactivos no iónicos adecuados son, por ejemplo, alquilglucósidos de fórmula general RO(G)_x, en la que R corresponde a un residuo alifático primario de cadena lineal o ramificado con metilo, principalmente ramificado con metilo en la posición 2 que tiene 8 a 22, preferiblemente 12 a 18, átomos de carbono y G es el símbolo que representa una unidad de glicosa con 5 o 6 átomos de carbono, preferiblemente glucosa. El grado de oligomerización x, que
60 indica la distribución de monoglicósidos y oligoglicósidos, es cualquier número entre 1 y 10; x es preferiblemente de 1,2 a 1,4.

Otra clase de tensioactivos no iónicos preferidos que se pueden usar como el único tensioactivo no iónico o en combinación con otros tensioactivos no iónicos son los ésteres de alquilo de ácido graso alcoxilado, preferiblemente etoxilado o etoxilado y propoxilado, preferiblemente con 1 a 4 átomos de carbono en la cadena de alquilo.

Los tensioactivos no iónicos del tipo de óxido de amina, por ejemplo, óxido de N-cocoalquil-N, N-dimetilamina y óxido de N-seboalquil-N,N-dihidroxietilamina, y de las alcanolamidas de ácidos grasos también pueden ser adecuados. La cantidad de estos tensioactivos no iónicos es preferiblemente de no más que la de los alcoholes grasos etoxilados, principalmente no más que la mitad de los mismos.

Otros tensioactivos adecuados son las amidas de ácido polihidroxi-graso conocidas como PHFA.

Los tensioactivos no iónicos de baja espuma pueden usarse como tensioactivos preferidos. Los productos de limpieza, preferiblemente productos para lavar vajillas, principalmente productos para lavar vajillas a máquina, contienen principalmente de modo preferible tensioactivos no iónicos del grupo de los alcoholes alcoxilados. Los tensioactivos no iónicos utilizados son principalmente alcoholes primarios, preferiblemente alcoxilados, ventajosamente etoxilados, que tienen preferiblemente de 8 a 18 átomos de carbono y un promedio de 1 a 12 moles de óxido de etileno (EO) por mol de alcohol, en los que el residuo de alcohol puede ser lineal o preferiblemente ramificado con metilo en la posición 2 o puede contener residuos lineales y ramificados con metilo en mezcla, tal como generalmente están presentes en los residuos oxo-alcohol. Principalmente, sin embargo, se prefieren los etoxilatos de alcohol con residuos lineales de alcoholes de origen nativo que tienen 12 a 18 átomos de carbono, por ejemplo, de alcohol de coco, palma, sebo u oleilo, y un promedio de 2 a 8 moles de EO por mol de alcohol. Los alcoholes etoxilados preferidos incluyen, por ejemplo, alcoholes de C₁₂₋₁₄ con 3 EO o 4 EO, alcohol de C₉₋₁₁ con 7 EO, alcoholes de C₁₃₋₁₅ con 3 EO, 5 EO, 7 EO u 8 EO, alcoholes de C₁₂₋₁₈ con 3 EO, 5 EO o 7 EO y mezclas de estos, tales como mezclas de alcohol de C₁₂₋₁₄ con 3 EO y alcohol de C₁₂₋₁₈ con 5 EO. Los grados de etoxilación indicados representan valores medios estadísticos que pueden corresponder a un número entero o un número fraccionario para un producto específico. Los etoxilatos de alcohol preferidos tienen una distribución homóloga estrecha (narrow range ethoxylates, NRE). Además de estos tensioactivos no iónicos, también se pueden usar alcoholes grasos con más de 12 EO. Los ejemplos incluyen alcohol graso de sebo con 14 EO, 25 EO, 30 EO o 40 EO.

Los tensioactivos no iónicos que tienen un punto de fusión por encima de la temperatura ambiente son particularmente preferidos. Se prefieren principalmente un tensioactivos o unos tensioactivos no iónicos que tienen un punto de fusión superior a 20°C, preferiblemente superior a 25°C, particularmente preferible entre 25 y 60°C y principalmente entre 26,6 y 43,3°C.

Los tensioactivos a emplear de modo preferido provienen de los grupos de tensioactivos no iónicos alcoxilados, principalmente alcoholes primarios etoxilados.

Los tensioactivos aniónicos también se pueden usar como constituyentes de productos de limpieza, preferiblemente productos para lavar vajillas, principalmente productos para lavar vajillas a máquina. Estos incluyen, principalmente, alquilbencenosulfonatos, sulfatos de alquilo (grasos), éter sulfatos de alquilo (grasos) y sulfonatos de alcano. El contenido de tensioactivos aniónico en los productos es habitualmente de 0 al 10% en peso.

En lugar de los tensioactivos mencionados o en combinación con ellos, también se pueden utilizar tensioactivos catiónicos y/o anfóteros. En productos de limpieza, principalmente productos para lavar vajillas, preferiblemente productos para lavar vajillas a máquina, el contenido de tensioactivos catiónicos y/o anfóteros es preferiblemente inferior al 6% en peso, preferiblemente inferior al 4% en peso, de modo muy particularmente preferible inferior al 2% en peso y principalmente menos del 1% en peso. Los productos que no contienen tensioactivos catiónicos o anfóteros son particularmente preferidos.

El grupo de polímeros incluye principalmente los polímeros activos para lavado o limpieza, por ejemplo, los polímeros para enjuague y/o polímeros que actúan como ablandadores. En general, además de los polímeros no iónicos, los polímeros catiónicos, aniónicos y anfóteros también se pueden usar en detergentes para lavavajillas.

Los "polímeros catiónicos" en el sentido de la presente invención son polímeros que llevan una carga positiva en la molécula de polímero. Esto se puede lograr, por ejemplo, por medio de grupos (alquil)amonio u otros grupos cargados positivamente presentes en la cadena polimérica. Los polímeros catiónicos particularmente preferidos provienen de los grupos de los derivados de celulosa cuaternizada, los polisiloxanos con grupos cuaternarios, los derivados de guar catiónicos, las sales poliméricas de dimetilalilamonio y sus copolímeros con ésteres y amidas de ácido acrílico y ácido metacrílico, los copolímeros de vinilpirrolidona con derivados cuaternizados de derivados de acrilato y metacrilato de dialquilamino, los copolímeros de vinilpirrolidona-cloruro de metoimidazolinio, los alcoholes polivinílicos cuaternizados o los polímeros indicados con las denominaciones INCI Polyquaternium 2, Polyquaternium 17, Polyquaternium 18 y Polyquaternium 27.

En el sentido de la presente invención, los "polímeros anfóteros" tienen, además de un grupo cargado positivamente en la cadena del polímero, también grupos cargados negativamente o unidades monoméricas. Estos grupos pueden ser, por ejemplo, ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos o ácidos fosfónicos.

Los polímeros anfóteros preferidos que pueden usarse provienen del grupo de copolímeros de alquilacrilamida/ácido acrílico, copolímeros de alquilacrilamida/ácido metacrílico, copolímeros de alquilacrilamida/ácido metilmetacrílico,

copolímeros de alquilacrilamida/ácido acrílico/ácido alquilaminoalquil(met)acrílico, copolímeros de alquilacrilamida/ácido metacrílico/ácido alquilaminoalquil(met)acrílico, copolímeros de alquilacrilamida/ácido metilmetacrílico/ácido alquilaminoalquil(met)acrílico, los copolímeros de alquilacrilamida/ metacrilato de alquilo/ metacrilato de alquilaminoetil/metacrilato de alquilo y los copolímeros de ácidos carboxílicos insaturados, ácidos carboxílicos insaturados derivatizados catiónicamente y opcionalmente otros monómeros iónicos o no ionogénicos.

Los polímeros zwitteriónicos que se pueden usar con preferencia provienen del grupo de los copolímeros de cloruro de acrilamidoalquiltrialquilamonio/ácido acrílico y sus sales alcalinas y de amonio, los copolímeros de cloruro de acrilamidoalquiltrialquilamonio/ácido metacrílico y sus sales alcalinas y de amonio y los copolímeros de metacroiletilbetaína/metacrilato.

Los detergentes, principalmente los detergentes para lavavajillas, preferiblemente los detergentes para lavavajillas automáticos, contienen los polímeros catiónicos y/o anfóteros mencionados anteriormente de preferencia en cantidades entre 0,01 y 10% en peso, en cada caso con respecto al peso total del producto lavavajillas en máquina. Sin embargo, en el contexto de la presente solicitud, los detergentes lavavajillas en máquina preferidos son aquellos en los que la fracción de peso de los polímeros catiónicos y/o anfóteros está entre 0,01 y 8% en peso, preferiblemente entre 0,01 y 6% en peso, preferiblemente entre 0,01 y 4% en peso, de modo particularmente preferible entre 0,01 y 2% en peso y principalmente entre 0,01 y 1% en peso, en cada caso con respecto al peso total del detergente lavavajillas en máquina.

En los productos de limpieza, preferiblemente productos para lavar vajillas, principalmente productos para lavar vajillas en máquina, también se pueden usar productos blanqueadores. Entre los compuestos que proporcionan H₂O₂ en agua, que sirven como productos blanqueadores, son de particular importancia el percarbonato de sodio, el perborato de sodio tetrahidrato y el perborato de sodio monohidrato. Otros productos blanqueadores útiles son, por ejemplo, peroxipropofosfatos, perhidratos de citrato y sales de perácidos o perácidos que proporcionan H₂O₂, tales como perbenzoatos, peroxoftalatos, ácido diperazelaico, ftaloiminoperácido o ácido diperdodecanodioico. También se pueden usar todos los otros blanqueadores peroxi inorgánicos u orgánicos conocidos por el experto en la materia.

Las sustancias que desprenden cloro o bromo también se pueden usar como productos blanqueadores. Materiales que desprenden de cloro o bromo adecuados incluyen, 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 como el potasio y el sodio. También son adecuados los compuestos de hidantoína tales como la 1,3-dicloro-5,5-dimetilhidantoína.

Hay detergentes, preferiblemente detergentes para lavavajillas, especialmente detergentes lavavajillas en máquina, que contienen del 1 al 35% en peso, preferiblemente del 2,5 al 30% en peso, de modo particularmente preferible del 3,5 al 20% en peso y principalmente del 5 al 15% en peso de producto blanqueador, preferiblemente percarbonato de sodio.

Además, los productos de limpieza, preferiblemente productos para lavar vajillas, principalmente productos lavavajillas en máquina, pueden contener catalizadores de blanqueo. Los catalizadores de blanqueo que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, el grupo de sales de metales de transición y complejos de metales de transición que refuerzan el blanqueo, preferiblemente complejos de Mn, Fe, Co, Ru o Mo, de modo particularmente preferible del grupo de sales y/o complejos de manganeso y/o cobalto, principalmente los complejos de cobalto (amoníaco), los complejos de cobalto (acetato), los complejos de cobalto (carbonilo), los cloruros de cobalto o manganeso, el sulfato de manganeso y los complejos de manganeso con 1,4,7-trimetil-1,4,7-triazaciclononano (Mn₃-TACN) o 1,2,4,7-tetrametil-1,4,7-triazaciclononano (Mn₄-TACN).

Hay productos de limpieza, preferiblemente los productos para lavar vajillas, principalmente los productos lavavajillas en máquina, que contienen de 0,001 a 1% en peso, preferiblemente de 0,01 a 0,1% en peso, de catalizador de blanqueo, preferiblemente un complejo de Mn, principalmente un complejo de manganeso con 1,4,7-trimetil-1,4,7-triazaciclononano (Mn₃-TACN) o 1,2,4,7-tetrametil-1,4,7-triazaciclononano (Mn₄-TACN).

En diversas formas de realización de la invención, los productos de limpieza, preferiblemente productos para lavar vajillas, principalmente productos lavavajillas en máquina, contienen adicionalmente al menos un activador de blanqueo. Los activadores de blanqueo que pueden usarse son compuestos que, en condiciones de perhidrólisis, dan ácidos peroxocarboxílicos alifáticos que tienen preferiblemente de 1 a 10 átomos de carbono, principalmente de 2 a 4 átomos de carbono, y/o ácido perbenzoico opcionalmente sustituido. De todos los activadores de blanqueo del estado de la técnica conocidos por el experto en la materia, de manera particularmente preferida se emplean alquilendiaminas poliacyladas, principalmente tetraacetiletildiamina (TAED), derivados de triazina acilados, principalmente 1,5-diacetil-2,4-dioxohexahidro-1,3,5-triazina (DADHT), glicolurilos acilados, especialmente tetraacetilglicolurilo (TAGU), N-acilimidias, especialmente N-nonanoilsuccinimida (NOSI), fenosulfonatos acilados, especialmente n-nonanoil- o isononanoiloxibencenosulfonato (n- o iso-NOBS). También se pueden usar combinaciones de activadores de blanqueo convencionales. Estos activadores de blanqueo se usan preferiblemente en cantidades de hasta el 10% en peso, principalmente del 0,1% en peso al 8% en peso, particularmente del 2 al 8% en peso y de manera particularmente

preferible del 2 al 6% en peso, en cada caso con respecto al peso total de los productos que contienen el activador del blanqueo.

5 Los productos de la presente invención contienen preferiblemente al menos una preparación enzimática adicional o composición enzimática que contiene una o más enzimas no proteasas. Tales enzimas comprenden, pero no se limitan a, amilasas, lipasas, celulasas, hemicelulasas, mananasas, enzimas disociadoras de pectina, tanasas, xilanasas, xantanasas, β -glucosidasas, carragenasas, perhidrolasas, oxidasas, oxidorreductasas y sus mezclas. Las enzimas preferidas comprenden principalmente amilasas, principalmente α -amilasas, celulasas, lipasas, hemicelulasas, principalmente pectinasas, mananasas, β -glucanasas y mezclas de las mismas. Las amilasas y/o lipasas y sus mezclas son particularmente preferidas. En principio estas enzimas son de origen natural; a partir de las moléculas naturales se encuentran disponibles variantes mejoradas para su uso en detergentes o productos de limpieza, los cuales se emplean preferiblemente de modo correspondiente.

15 Los datos sobre las cantidades y las formas de formulación proporcionados en relación con las proteasas utilizadas también se aplican mutatis mutandis a todas las otras enzimas descritas anteriormente.

20 Los inhibidores de la corrosión del vidrio impiden la aparición de turbidez, rayas y rasguños, pero también la iridiscencia de la superficie del vidrio de los vasos lavados en máquina. Los inhibidores de corrosión de vidrio preferidos provienen 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 de sal de zinc en productos de limpieza, preferiblemente productos lavavajillas, principalmente productos lavavajillas en máquina, está preferiblemente entre 0,1 a 5% en peso, preferiblemente entre 0,2 a 4% en peso y principalmente entre 0,4 a 3 % en peso, o el contenido de zinc en forma oxidada (calculado como Zn^{2+}) entre 0,01 a 1% en peso, preferiblemente entre 0,02 a 0,5% en peso y principalmente entre 0,04 a 0,2% en peso, en cada caso con respecto al peso total de producto que contiene inhibidor de corrosión de vidrio.

25 Para facilitar la desintegración de los cuerpos moldeados prefabricados, es posible incorporar a estos productos adyuvantes de desintegración, los llamados desintegrantes de comprimidos, para abreviar los tiempos de desintegración. Por desintegrantes de comprimidos o aceleradores de desintegración se entienden sustancias auxiliares que causan la rápida desintegración de los comprimidos en agua u otros medios y la rápida liberación de las sustancias activas. Los adyuvantes de desintegración se pueden usar preferiblemente en cantidades de 0,5 a 10% en peso, preferiblemente de 3 a 7% en peso y principalmente de 4 a 6% en peso, en cada caso con respecto al peso total del producto que contiene adyuvantes de desintegración.

35 Como aceites de perfume o fragancias en el contexto de la presente invención pueden usarse compuestos aromatizantes individuales, por ejemplo, los productos sintéticos del tipo éster, éter, aldehído, cetona, alcohol e hidrocarburos. Sin embargo, se da preferencia al uso de mezclas de diferentes fragancias que juntas generan una fragancia agradable. Tales aceites de perfume también pueden contener mezclas de fragancias naturales como las que están accesibles de fuentes vegetales, por ejemplo, aceite de pino, cítricos, jazmín, pachulí, rosa o ylang ylang.

40 El embalaje de los productos de limpieza descritos aquí, preferiblemente los productos lavavajillas, principalmente los productos lavavajillas en máquina, se puede efectuar de diferentes maneras. Los productos pueden estar en forma sólida o líquida, así como una combinación de formas de suministro sólidas y líquidas. Como formas sólidas de suministro son adecuados principalmente polvos, gránulos, extrudidos, compactados, principalmente comprimidos. Las formas líquidas de suministro a base de agua y/o disolventes orgánicos se pueden espesar y pueden presentarse en forma de geles. Los productos descritos en este documento pueden embalsarse en forma de productos monofásicos o multifásicos.

50 Los productos de limpieza descritos aquí, preferiblemente los productos lavavajillas, principalmente los productos lavavajillas en máquina, se pre-embalan preferiblemente en unidades de dosificación. Estas unidades de dosificación comprenden preferiblemente la cantidad de sustancias activas de lavado o limpieza necesarias para un ciclo de limpieza.

55 Los productos de limpieza descritos aquí, preferiblemente los productos para lavar vajillas, principalmente productos para lavar vajillas en máquina, principalmente las unidades de dosificación prefabricadas, tienen de modo particularmente preferible una envoltura soluble en agua.

60 La envoltura soluble en agua se forma preferiblemente a partir de un material de película soluble en agua que se selecciona del grupo que consiste en polímeros o mezclas de polímeros. La envoltura se puede formar a partir de una o dos o más capas del material de película soluble en agua. El material de película soluble en agua de la primera capa y de las otras capas, si están presentes, pueden ser iguales o diferentes. Particularmente se prefieren las películas que se pueden pegar y/o sellar, por ejemplo, para formar embalajes como tubos flexibles o almohadillas, después de que se hayan llenado con un producto.

65 Se prefiere que la envoltura soluble en agua contenga polialcohol vinílico o un copolímero de polialcohol vinílico. Las envolturas solubles en agua que contienen polialcohol vinílico o un copolímero de polialcohol vinílico tienen una buena estabilidad con una solubilidad en agua suficientemente alta, principalmente una solubilidad en agua fría.

5 Las películas solubles en agua adecuadas para preparar la envoltura soluble en agua se basan preferiblemente en un polialcohol vinílico o un copolímero de polialcohol vinílico, cuyo peso molecular está en el intervalo de 10.000 a 1.000.000 g mol^{-1} , preferiblemente de 20.000 a 500.000 g mol^{-1} , de modo particularmente preferible de 30.000 a 100.000 g mol^{-1} , y principalmente de 40.000 a 80.000 g mol^{-1} .

10 El polialcohol vinílico generalmente se prepara por hidrólisis del poliacetato de vinilo, ya que la ruta directa de síntesis no es posible. Algo similar es válido para los copolímeros de polialcohol vinílico que se preparan de manera correspondiente a partir de copolímeros de poliacetato de vinilo. Se prefiere que al menos una capa de la envoltura soluble en agua comprenda un polialcohol vinílico, cuyo grado de hidrólisis es del 70 al 100% molar, preferiblemente del 80 al 90% molar, de modo particularmente preferible del 81 al 89% molar y principalmente del 82 al 88% molar.

15 A un material de película que contiene polialcohol vinílico, adecuado para la preparación de la envoltura soluble en agua se puede agregar adicionalmente un polímero seleccionado del grupo que comprende (co)polímeros que contienen ácido (met)acrílico, poliacrilamidas, polímeros de oxazolona, sulfonatos de poliestireno, poliuretanos, poliésteres, poliéteres, poliácido láctico o mezclas de los polímeros anteriores. Un polímero adicional preferido es poliácido láctico.

20 Además del alcohol vinílico, los copolímeros de polialcohol vinílico preferidos comprenden ácidos dicarboxílicos como monómeros adicionales. Los ácidos dicarboxílicos adecuados son ácido itacónico, ácido malónico, ácido succínico y sus mezclas; se prefiere el ácido itacónico.

25 Los copolímeros de polialcohol vinílico preferidos también incluyen, además del alcohol vinílico, un ácido carboxílico etilénicamente insaturado, su sal o su éster. Tales copolímeros de polialcohol vinílico contienen de manera particularmente preferida, además de alcohol vinílico, ácido acrílico, ácido metacrílico, éster de ácido acrílico, éster de ácido metacrílico o mezclas de los mismos.

30 Puede preferirse que el material de película contenga otros aditivos. El material de película puede contener, por ejemplo, plastificantes tales como dipropilenglicol, etilenglicol, dietilenglicol, propilenglicol, glicerina, sorbitol, manitol o mezclas de los mismos. Otros aditivos comprenden, por ejemplo, adyuvantes de liberación, materiales de carga, agentes de reticulación, tensioactivos, antioxidantes, absorbentes de UV, productos anti-bloqueadores, productos antiadhesivos o mezclas de los mismos.

35 Las películas solubles en agua adecuadas para su uso en las envolturas solubles en agua de los embalajes solubles en agua según la invención son películas que se venden en MonoSol LLC, por ejemplo, bajo la denominación M8630, C8400 o M8900. Otras películas adecuadas incluyen películas con la denominación Solublon® PT, Solublon® GA, Solublon® KC o Solublon® KL de Aicello Chemical Europe GmbH o las películas VF-HP de Kuraray.

40 El uso correspondiente de los productos descritos en el presente documento también es objeto de la invención. La invención también se refiere a un procedimiento de lavado de vajilla, principalmente un procedimiento de lavado en máquina, en el que se usa un producto según la invención. Por lo tanto, también es objeto de la presente solicitud un procedimiento para limpiar vajillas en una máquina lavavajillas, en el cual el producto en el transcurso de un programa de lavado de vajilla se dosifica en el interior de una máquina lavavajillas antes del inicio del ciclo de lavado principal o en el transcurso del ciclo de lavado principal. El producto puede dosificarse o introducirse en el interior de la máquina lavavajillas manualmente, pero el producto se dosifica preferiblemente en el interior de la máquina lavavajillas por medio de la cámara de dosificación. En diversas formas de realización de la invención, la temperatura (de enjuague) en tales procedimientos de lavado de vajilla es preferiblemente de 50°C o inferior, de modo particularmente preferible de 45°C o inferior, más preferiblemente de 40°C o inferior.

50 Una formulación típica de marco para un detergente lavavajillas que se puede usar preferiblemente, por ejemplo, en forma de comprimido, comprende las siguientes sustancias:

55	Tripolifosfato de Na	20-50% en peso
	Carbonato de sodio	10-30% en peso
	Percarbonato de sodio	5-18% en peso
60	Activador de blanqueo	0,5-5% en peso
	Catalizador de blanqueo	0,01-1% en peso
	Sulfopolímero	2,5-15% en peso
65	Policarboxilato	0,1-10% en peso

	Tensioactivo no iónico	0,5-10% en peso
	Fosfonato	0,5-5% en peso
5	Proteasas	0,1 -5% en peso
	Amilasa	0,1 -5% en peso,

10 donde los porcentajes en peso se refieren respectivamente a todo el producto. En lugar del o de una parte del tripolifosfato, también se puede usar en la formulación principalmente 10-50% en peso de citrato o MGDA o GLDA o EDDS o mezclas de dos o tres de estas sustancias.

Ejemplos

15 Ejemplo 1: Mejora del rendimiento de la proteasa en los lavavajillas automáticos.

En una máquina lavavajillas Bosch SMS86 a 40°C (programa "Suave 40") y 21°dH se lavaron vajillas de porcelana con suciedad de té negro, yema de huevo, carne picada y crema catalana con un comprimido sólido para lavavajillas (20 g; composición ver tabla 1) que tiene diferentes proteasas individuales (experimentos comparativos V1-V5) o combinaciones de proteasas (M1-M3). La suciedad de crema catalana se usó como una suciedad pertinaz. Para este propósito, la mezcla terminada de Creme Brûlée [crema catalana] de Debic se calentó a 60°C en una cacerola y se aplicaron 3,5 g sobre un plato para postre con un cepillo y se dejó secar durante 2 horas a temperatura ambiente. Los platos se colocaron luego en un horno frío (aglutinante) y se calentaron a 140°C durante 1h. Luego, la mancha de crema catalana se horneó en el horno durante 2h a 140°C.

25 Después de cada ciclo de enjuague, el rendimiento de limpieza se determinó visualmente según IKW [Industrieverband Körperpflege- und Waschmittel o Asociación de industrias de detergentes y productos para el cuidado corporal] (evaluación de 1-10, cuanto mayor sea el valor, mejor será el rendimiento, las diferencias de al menos 1 son significativas). Los resultados para las formulaciones ensayadas se listan en la Tabla 2 como valores medios aritméticos. Los valores más altos significan un mejor rendimiento de limpieza.

Tabla 1: Composición del producto lavavajillas en máquina

	Base
Fosfato (% en peso)	35,9
Carbonato de sodio (% en peso)	12,2
Fosfonato (% en peso)	2,4
Polímero que contiene grupos de 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 de blanqueo (% en peso)	1,0
Policarboxilato (% en peso)	1,5
Silicato de sodio/policarboxilato (% en peso)	3,9
Composición enzimática (amilasa) (% en peso)	1,0
Acetato de zinc (% en peso)	0,2
Restos (perfume, colorantes, proteasas o mezclas de proteasas etc.) (% en peso)	ad 100

35 A la formulación según la Tabla 1 se añadió tanto de la preparación de proteasas correspondiente (proteasas individuales, V1-V5) o sus mezclas (M1-M3), que la cantidad total de proteasas en la formulación fue del 0,24% en peso.

V1: Base + enzima según Seq ID No. 3

40 V2: Base + enzima según Seq ID No. 4

V3: Base + enzima según Seq ID No. 5

V4: Base + enzima según Seq ID No. 6

45 V5: Base + Savinase Ultra Plus 16L (Novozymes)

M1: Base + mezcla en partes iguales con respecto al contenido de proteasa en % en peso de enzima según la Seq ID. 3 y enzima según Seq ID No. 4

M2: Base + mezcla en partes iguales con respecto al contenido de proteasa en % en peso de enzima según la Seq ID. 3 y enzima según Seq ID No.5

5 M3: Base + mezcla en partes iguales con respecto al contenido de proteasa en % en peso de enzima según la Seq ID. 3 y enzima según Seq ID No.6

Tabla 2: Rendimiento de limpieza

Proteasa/combinación de proteasas	Té	Carne picada	Yema de huevo	Crema catalana
V1	8,7	10,0	5,8	4,6
V2	5,6	9,8	6,9	8,4
V3	6,3	10,0	5,7	7,8
V4	6,8	9,8	5,1	8,8
V5	5,1	10,0	6,0	5,2
M2	8,6	9,8	6,3	8,7
Proteasa/combinación de proteasas	Té	Carne picada	Yema de huevo	Crema catalana
V1	9,5	9,7	6,3	4,1
M1	8,7	9,5	6,1	6,8
M3	9,3	9,7	6,2	7,6

10 Como se puede ver en la Tabla 2, la proteasa según la Seq ID No 3 (V1) muestra un muy buen rendimiento de limpieza en las manchas de té, mientras que el rendimiento de limpieza en crema catalana es solo mediocre. Por el contrario, las proteasas según Seq ID No 4, 5 y 6 (V2 a V4) muestran un buen rendimiento en crema catalana, mientras que el rendimiento en té es solo mediocre. Savinasa (V5) no muestra un buen rendimiento ni en té ni en crema catalana.

15 Como se puede ver en todas las combinaciones de proteasas ensayadas de la invención, tanto el rendimiento de limpieza del té, como también el rendimiento de limpieza de la crema catalana están en un alto nivel. La Tabla 2 muestra claramente que la combinación de dos proteasas diferentes conduce a una mejora significativa en el rendimiento de limpieza (M1 a M3).

20 Listado de secuencias

<110> Henkel AG & Co. KGaA

<120> Producto de limpieza que contiene proteasas

25

<130> PT031731_PCT

<150> DE102013207933.8

<151> 2013-04-30

30

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

35

<210> 1

<211> 269

<212> PRT

<213> Bacillus lentus

40

<400> 1

ES 2 788 601 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
 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

ES 2 788 601 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> 2
- <211> 269
- 5 <212> PRT
- <213> Bacillus lentus
- <400> 2

ES 2 788 601 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

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

ES 2 788 601 T3

	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> 3
 <211> 269
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

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

10

<400> 3

ES 2 788 601 T3

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

ES 2 788 601 T3

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> 4
 <211> 269
 <212> PRT

5

<213> Artificial

<220>

<223> Variante optimizada de la proteasa alcalina de *B. lentus*

5

<400> 4

ES 2 788 601 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

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

ES 2 788 601 T3

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

ES 2 788 601 T3

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

<210> 6
<211> 270
<212> PRT
<213> Artificial

5

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

10

<400> 6

ES 2 788 601 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 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

ES 2 788 601 T3

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

REIVINDICACIONES

1. Producto de limpieza, caracterizado porque comprende al menos una primera y una segunda proteasa, en el cual
- 5 a) la primera proteasa comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y tiene al menos una sustitución de aminoácidos en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en el recuento según Seq ID NO. 1 y
- 10 b) la segunda proteasa se selecciona del grupo formado por
- b1) proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud y tiene el aminoácido ácido glutámico (E) en la posición 99 en el recuento según Seq ID NO. 2;
- 15 b2) proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud y en el recuento según Seq ID NO. 2 tiene la sustitución de aminoácido R99E en combinación con al menos dos sustituciones de aminoácidos adicionales, que se seleccionan del grupo que consiste en S3T, V4I y V199I; y
- 20 b3) proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y en el recuento de BPN' tiene la sustitución de aminoácido S99A en combinación con una inserción entre las posiciones 99 y 100, en donde el aminoácido insertado es ácido aspártico (D);
- 25 2. Producto de limpieza según la reivindicación 1, caracterizado porque la primera proteasa comprende una secuencia de aminoácido que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y en el recuento según Seq ID NO. 1 tiene al menos una sustitución de aminoácido que se selecciona del grupo que consiste en S9R, A15T, V66A, N212D y Q239R;
- 30 3. Producto de limpieza según la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque la primera proteasa tiene una secuencia de aminoácidos según Seq ID NO. 3.
4. Producto de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque la proteasa según b1) tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde en el recuento según Seq ID NO. 2 en las posiciones 1-98 y 100-269 a Seq ID NO. 2 y en la posición 99 tiene el aminoácido ácido glutámico (E).
- 35 5. Producto de limpieza según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la proteasa b2) tiene una secuencia de aminoácidos según Seq ID NO. 2 con las sustituciones de aminoácidos R99E, S3T, V4I y V199I en el recuento según Seq ID NO. 2.
- 40 6. Producto de limpieza según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la proteasa b3) tiene una secuencia de aminoácidos según Seq ID NO. 1 con la sustitución de aminoácido S99A en combinación con una inserción del aminoácido Asp (D) entre las posiciones 99 y 100, respectivamente en el recuento según BPN'.
- 45 7. Producto de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque contiene una primera proteasa y una segunda proteasa en una relación de masa de 10:1 a 1:10.
8. Producto de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque la fracción en peso de cada una de las proteasas, con respecto a la proteína activa correspondiente, en el peso total del producto es de 1×10^{-8} a 5% en peso, preferiblemente 0.001 a 2% en peso %, más preferiblemente de 0,005 a 1,5% en peso, incluso más preferiblemente de 0,01 a 1% en peso y de modo particularmente preferible de 0,01 a 0,5% en peso.
- 50 9. Producto de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque contiene al menos otro componente, preferiblemente al menos otros dos componentes, seleccionados del grupo que consiste en secuestrantes, tensioactivos, polímeros, productos blanqueadores, catalizadores de blanqueo, activadores de blanqueo, enzimas no proteasas, inhibidores de corrosión, inhibidores de corrosión de vidrio, adyuvantes de desintegración, fragancias y portadores de perfume.
- 55 10. Producto de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque es un producto lavavajillas, principalmente un producto lavavajillas en máquina.
- 60 11. Producto de limpieza según la reivindicación 10, caracterizado porque el
- (1) el detergente lavavajillas en máquina está en forma sólida; y/o
- 65 (2) el detergente lavavajillas en máquina está en forma de porciones; y/o

(3) el detergente lavavajillas en máquina tiene varias composiciones separadas espacialmente entre sí.

5 12. Uso de un producto de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 11 en un procedimiento de lavado de vajillas en máquina.

10 13. Procedimiento para limpiar vajillas en una máquina lavavajillas automática, caracterizado porque un producto de limpieza según una de las reivindicaciones 1 a 11 se dosifica en el interior de una máquina lavavajillas durante el transcurso de un programa de lavavajillas antes del inicio del ciclo de lavado principal o en el transcurso del ciclo de lavado principal.

15 14. Uso de una combinación de una primera y una segunda proteasas para mejorar el rendimiento de limpieza, principalmente el rendimiento de limpieza en suciedad sensible a enzimas, de un producto de limpieza, preferiblemente un producto lavavajillas en máquina, caracterizado porque

20 a) la primera proteasa comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 1 en toda su longitud y tiene al menos una sustitución de aminoácidos en una de las posiciones 9, 15, 66, 212 y 239 en el recuento según Seq ID NO. 1, y

b) la segunda proteasa se selecciona del grupo formado por

25 b1) proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud y tiene el aminoácido ácido glutámico (E) en la posición 99 en el recuento según Seq ID NO. 2;

30 b2) proteasa, que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO. 2 en toda su longitud y en el recuento según Seq ID NO. 2 tiene la sustitución de aminoácido R99E en combinación con al menos dos otras sustituciones de aminoácidos, que se seleccionan del grupo que consiste en S3T, V4I y V199I; y

35 b3) proteasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos 95% a la secuencia de aminoácidos indicada en Seq ID NO 1 en toda su longitud y en el recuento de BPN' tiene la sustitución de aminoácido S99A en combinación con una inserción entre las posiciones 99 y 100, en cuyo caso el aminoácido insertado es ácido aspártico (D).