

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

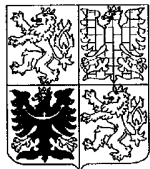
2000 - 502

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 11 D 3/386

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **10.06.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **14.08.1997**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/97870120**

(33) Země priority: **EP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14.03.2001**
(Věstník č. 3/2001)

(86) PCT číslo: **PCT/US98/11995**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/09127**

(71) Přihlašovatel:

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY, Cincinnati,
OH, US;

(72) Původce:

Bettiol Jean-Luc Philippe, Brussels, BE;
Cooremans Steven Paul Georges, Buggenhout, BE;
Johnstone Kevin, Cincinnati, OH, US;
Sreekrishna Kotikanyadanam, Cincinnati, OH, US;
Saunders Charles Winston, Fairfield, OH, US;
Herbots Ivan Maurice Alfons Jan, Wetteren, BE;
Baeck Andre Cesar, Bonheiden, BE;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,
14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Prací detergentní prostředky obsahující enzymy,
které odbourávají sacharidové gummy**

(57) Anotace:

Prací detergentní prostředek obsahující detergentní složku
enzym odbourávající sacharidovou gumu, poskytující
vynikající účinek při čištění, zejména při odstraňování
skvrn/nečistot od jídla, odstraňování zapranosti a při bělení.

CZ 2000 - 502 A3

Prací detergentní prostředky obsahující enzymy, které odbourávají sacharidové gummy

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká pracích detergentních prostředků obsahujících enzymy, které odbourávají sacharidové gummy.

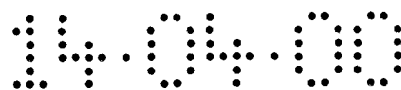
Dosavadní stav techniky

Detergentní prostředky v dnešní době zahrnují komplexní kombinace aktivních složek, které splňují určité konkrétní potřeby. Zejména, současné detergentní prostředky obecně zahrnují detergentní enzymy, které poskytují užitek při čištění a péči o tkaniny, a konkrétněji cellulasové a amylasové enzymy.

Účinnost cellulolytických enzymů, tj. cellulas, v problematice čištění textilií a činidlech tlumících drsnost tkanin, je již nějaký čas známá. Aktivita cellulasy spočívá v hydrolýze celulosových vláken nebo substrátů cellulasou a v závislosti na konkrétní funkci cellulasy, která je endo- nebo exocellulasa a případně hemicellulasa. Cellulosové struktury se depolymerizují nebo štěpí na menší a proto rozpustnější nebo dispergovatelnější části. Zejména tato aktivita způsobuje, že se tkaniny vyčistí, ožíví, změkčí a obecně se zlepší jejich charakteristiky na omak.

O amylasách je v dané problematice známo, že způsobují odstranění skvrn z přírodně se vyskytujících nebo uměle přidaných škrobů obsažených ve skvrnách nebo nečistotách pocházejících z jídel nebo se amylasy přidávají jako apretační prostředek.

Skvrny nebo nečistoty od jídla tvoří většinu skvrn nebo nečistot, které trápí zákazníky, a často obsahují potravinová aditiva. Neutralizační látky, kyselící látky, antioxidanty,



konzervační látky, sladidla, enzymy, stabilizátory a zahušťovadla, jako jsou hydrokoloidy a emulgátory, jsou obecně používaná potravinová aditiva. Zejména, zákazníci požadují zvyčující se množství texturačních činidel jako náhražek tuků, aby se snížilo množství tuku a kalorický obsah. Trh s hydrokoloidními texturačními a stabilizačními činidly, také zvanými jako potravinové gummy, roste o 4 % ročně, xanthanová guma má přírůstky o 6 % až 8 % ročně a carrageenová guma o 3 % ročně (Chemical Week, 19. června 1996, str. 32 až 34).

Pojem "guma" označuje skupinu průmyslově používaných polysacharidů (polymerů s dlouhým řetězcem) nebo jejich derivátů, které se hydratují horkou nebo studenou vodou na viskózní roztoky, disperze nebo gely. Gummy jsou klasifikovány jako přírodní a modifikované přírodní gummy včetně extraktů z mořských řas, rostlinných extraktů, gum ze semen nebo kořenů a gum získávaných mikrobiální fermentací. Modifikované (polosyntetické) gummy zahrnují celulosové a škrobové deriváty a některé syntetické gummy, jako je nízkomolekulární methoxylovaný pektin, propylenglykol alginát a karboxymethyl a hydroxypropyl guarová guma (Gums v knize Encyclopedia Chemical Technology, 4. vydání, svazek 12, strany 842 až 862, J. Baird, Kelco oddělení firmy Merck). Viz také Carbohydrate Chemistry for Food Scientists (Eagan Press - 1997) R.L. Whistler a J.N. BeMiller, Kapitola 4, strany 63 až 89 a Direct Food Additives v knize Fruit Processing, P. Laslo, Bioprinciples and Applications, svazek 1, kapitola II, strana 313 až 325 (1996) Technomic publishing.

Některé z těchto gum, jako je xanthanová guma (E415, CEE číslo), gellanová guma (E416), guarová guma (E412) a tragakanth (E413), jsou široce používány samostatně nebo v kombinaci do mnoha potravin (Gums v knize ECT, 4. vydání, svazek 12, strany 842 až 862, J. Baird, Kelco oddělení firmy Merck). Zejména guarová guma se často používá do potravin jako zahušťovadlo a pojivo volné vody v omáčkách a salátových

dresincích. Guarová guma se také používá jako pojivo volné vody a stabilizátor ve zmrzlinách a mražených dezertech. Volná voda ve zmrzlinových směsích způsobuje u finálních zmrzlin zrnitou texturu, ledové krystaly, špatné vlastnosti při tání a špatnou odolnost proti náhlému zahřátí. Zahrnutí stabilizátoru obsahujícího guarovou gumu v množství až 0,3 % zmrzlinové směsi vede k jemné textuře, pružnému produktu, který pomalu taje a má dobrou odolnost proti náhlému zahřátí. To je zejména vhodné pro rychlou pasterizaci z důvodu rychlé hydratace. Další potraviny, které lze stabilizovat guarovou gumou díky její schopnosti vázat vodu, jsou mražená jídla, sýry, náplně pečiva, polevy a krmiva pro zvířata. Dalšími příklady jsou alginové gummy známé svým použitím v ovocných štávhách, konzervovaných a zavařovaných jídlech, tragakanthové gummy používané v salátových dresincích, xanthanové gummy pro mlékařské produkty a nápoje. Gellany se nalézají v polevách, mražených a mlékařských produktech a agar ve zmrzlinách.

Specifita těchto potravinářských gum spočívá v tom, že po hydrataci vodou tvoří vysoce až velmi vysoce viskózní roztok. Některé z těchto gum, jako jsou guarová guma, alginová guma, arabská guma a karayová guma se také používají v papírenském průmyslu a volí se pro svou vysokou afinitu k celulósovým vláknům (Industrial gums, R.L. Whistler a J.N. BeMiller (Academic Press - 1973)). Jejich schopnost vyvločkovávat jíly a další anorganické materiály, jako jsou vápenaté soli, se využívá i v dalších aplikacích, jako je úprava vody. Vysoká viskozita těchto potravinářských gum je žádoucí pro všechna uvedená jídla a další použití.

Nicméně, bylo překvapivě zjištěno, že tyto potravinářské gummy se silně adsorbují do bavlněných vláken tkanin a tím přilepují skvrny/nečistoty do tkaniny. K tomuto jevu dochází dokonce i když jsou gummy přítomny v potravinářských prostředcích ve velmi malých množstvích, jako je 0,01 % až 5 %, obvykleji 0,01 % až 0,8 %.

Také bylo překvapivě zjištěno, že schopnost těchto potravinářských gum vyvločkovávat jíly vede k tomu, že tkaniny vypadají zašle a žloutnou. To je velmi důležité, protože celkový účinek detergentu se posuzuje nejen jeho schopností odstraňovat skvrny a nečistoty, ale také schopností bránit opětovnému usazování nečistot nebo produktů rozštěpení nečistot nebo jakékoliv nerozpustné soli na pranou tkaninu. Efekt opětovného usazování vede k tomu, že praná látka je pokryta nevzhledným filmem, který vede ke vzniku viditelných pruhů nebo skvrn, které zůstávají nedotčené až do konce pracího procesu. Tyto zbytky zbylé na tkanině vedou k tomu, že tkanina vypadá zašlá a žloutne.

Jak je z uvedeného vidět, existuje trvalá potřeba pracích detergentních prostředků, které poskytují vynikající celkový čistící účinek. Předmětem předkládaného vynálezu je poskytnout práci detergentní prostředek, který poskytuje vynikající čistící a bělicí účinky, zejména vynikající odstraňování skvrn/nečistot, odstraňování zašlosti a bělicí účinek.

Tyto požadavky splňuje vytvoření pracích detergentních prostředků obsahujících enzymy, které odbourávají sacharidové gummy.

Překvapivě bylo zjištěno, že práci detergentní prostředek podle předkládaného vynálezu obsahující enzymy, které odbourávají sacharidové gummy, poskytuje vynikající odstraňování skvrn/nečistot, odstraňování zašlosti a bělicí účinek, který je výsledkem hydrolýzy potravinářských sacharidových gum vázajících skvrny/nečistoty z tkanin nebo jílu na bavlněné tkaniny. Dále bylo zjištěno, že účinnost pracích detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu se zvýší přidáním vybraných tenzidů, dalšího enzymu, plnidla a/nebo bělicího systému.

GB2-169-393 popisuje způsob odstraňování celulosových nečistot a dalších zeleninových nečistot ze tkanin v barvárnách a dokončovacích valchovnách tak, že se působí

enzymatickým prostředkem obsahujícím cellulolytické a pektolytické enzymy, které umožňují snížit koncentraci H_2SO_4 během karbonizace tkaniny pod 2 %.

W096/06532 se týká prostředky schopného zabít nebo zastavit rostoucí mikrobiální buňky pomocí bazických proteinů nebo peptidů biologického původu, např. protaminu nebo protaminsulfátu. Pro některé bakterie nebo houby tyto prostředky dále obsahují oxidoreduktasové nebo buněčné stěny štěpící enzymy, jako je endoglykosidasa typu II, lysozym a/nebo chitinasa.

W095/35362 popisuje čisticí prostředky, včetně pracích, prostředků na nádobí a zejména prostředků na čištění v domácnostech, obsahující buněčné stěny štěpící enzymy, jako jsou pektinasy a/nebo hemicelulasy a nepovinně celulasy. Tyto prostředky jsou zejména vhodné pro odstraňování skvrn od zeleniny a nečistot a špíny podobné struktury. Tyto enzymy štěpící buněčné stěny odbourávají strukturní složky buněčných stěn rostlin, jako jsou strukturované polysacharidy (celulosa, hemicelulosa, pektiny) a zahrnují cellulolytické, pektin degradující a hemicelulosu degradující enzymy. Existuje velký počet enzymů štěpících buněčné stěny rostlin. Cellulolytické enzymy se dělí do tří skupin: endoglukanasy, exoglukanasy nebo cellobiohydrolasy a β -glukosidasy. Také je známo velké množství enzymů odbourávajících pektiny: příklady jsou pektinesterasa, pektinlyasa, pektátlyasa a endo- nebo exopolygalakturonasy. Kromě těchto enzymů odbourávajících hladké oblasti byly také nalezeny enzymy odbourávající rozvětvené oblasti. Pro odbourávání hemicelulosových struktur, jako je xylanasa, galaktanasa, arabinasa, lichenasa a mananasa, je známo velké množství enzymů.

Nicméně, použití enzymů, které odbourávají sacharidové gummy pro vynikající čisticí účinky na bavlněné tkaniny v pracích detergentních prostředcích, nebylo dosud dříve zjištěno.

Podstata vynálezu

Shrnutí vynálezu

Předkládaný vynález se týká pracích detergentních prostředků obsahujících enzymy, které odbourávají sacharidové gummy, poskytujících vynikající čisticí účinky na bavlněných tkaninách, a to zejména při odstraňování skvrn/nečistot, odstraňování zašlosti a bělicích účincích.

Podrobný popis vynálezu

Nezbytnou složkou Pracích detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu je enzym, který odbourává sacharidové gummy. Tyto enzymy jsou schopné hydrolyzovat neškrobové necelulosové potravinářské polysacharidy, které mají v 1% roztoku, vyjádřeno v procentech hmotnostních, viskozitu vyšší než 800 cPs (měřeno ve vodě při teplotě 25 °C, viskozimetr Brookfield Synchro-Lectric při 20 ot./min).

Překvapivě bylo zjištěno, že prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu poskytují vynikající čisticí a bělicí účinky, a to zejména při odstraňování skvrn/nečistot z potravin a čištění skvrn/nečistot způsobených zašlostí.

Bez ohledu na nějakou konkrétní teorii se předpokládá, že enzym, který odbourává sacharidovou gumu, hydrolyzuje potravinářská aditiva na bázi gummy, která jsou přítomna ve skvrnách/nečistotách od potravin vážících skvrny/nečistoty do bavlněných vláken. Bylo zjištěno, že tyto neškrobové necelulosové potravinářské polysacharidy mají velkou afinitu k bavlněným vláknům, a tak váží skvrny/nečistoty do tkaniny. Hydrolýzou těchto neškrobových necelulosových potravinářských polysacharidů se proto uvolní skvrny/nečistoty z bavlněné textilie.

Navíc, bylo překvapivě zjištěno, že prací detergentní prostředek podle předkládaného vynálezu dosahuje znatelného čištění zašlých tkanin a dobré účinnosti při bělení. Bez ohledu na nějakou konkrétní teorii se předpokládá, že se

sacharidy, po rozštěpení na složky, při částečném vyčištění skvrn/nečistot od jídla v současnosti používanými detergentními prostředky, opětovně ukládají na tkaninu a reagují s nečistotami ve formě částic, jako jsou jílovité sloučeniny, což vede k zašlosti bavlěných tkanin. Enzymy, které odbourávají sacharidové gummy, podle předkládaného vynálezu hydrolyzují film sacharidů ukládající se na tkaniny, a proto brání vyvločkovávání těchto sloučenin s nečistotami ve formě částic.

Bez ohledu na nějakou konkrétní teorii se také předpokládá, že enzymatické působení enzymů, které odbourávají sacharidové gummy, podle předkládaného vynálezu způsobuje, že skvrny/nečistoty od jídla a skvrny/nečistoty vzniklé zašlostí tkanin, jsou přístupnější pro další detergentní složky pracího detergentního prostředku. zejména bylo zjištěno, že účinnost pracího detergentního prostředku podle předkládaného vynálezu se zlepší spojením s vybraným tenzidem, dalším enzymem, plnidlem a/nebo bělicím systémem.

Enzymy podle předkládaného vynálezu mají hlavní nebo vedlejší aktivitu na neškrobové necelulosové potravinářské polysacharidy, které mají v 1% roztoku, vyjádřeno v procentech hmotnostních, viskozitu vyšší než 800 cPs, jako je agar, algin, karawa, tragakanth, guarová guma, xanthan a/nebo jejich směsi.

Příklady průmyslových gum používaných jednotlivě nebo v kombinaci jako potravinářská aditiva jsou:

- gummy ze semen, jako je guarová guma, guma z kdoulových semen, guma z lněných semen a okrové gummy, tamarin, larchový arabinogalaktan;

- rostlinné exudáty, jako je arabská guma, ghatti, karaya, tragakanth;

- extrakty z mořských řas, jako je algin, agar, carrageenan, fukoidan, furcellaran, a

- biosyntetické gummy, jako je xanthan.

Vhodné enzymy pro účely předkládaného vynálezu mají následující hlavní nebo vedlejší enzymatickou aktivitu:

- arabinasy, endoarabanasy (E.C. 3.2.1.99), jako je endo- α -1,5-arabinosidasa, exoarabanasa (E.C. 3.2.1.55), exo A (α -1,2; α -1,3) arabinofuranosidasa, exo B (α -1,3; α -1,5) arabinofuranosidasa;

- (α -1,2; α -1,3) fukosidasa, α -1,6-fukosidasa (E.C. 3.2.1.127);

- β -1,2-galaktanasa, β -1,3-galaktanasa (E.C. 3.2.1.90), β -1,4-galaktanasa, β -1,6-galaktanasa, galaktanasa se také nazývá arabino galaktan galaktosidasa (E.C. 3.2.1.89), α a β galaktosidasa (E.C. 3.2.1.22 & 23), (E.C. 3.2.1.102) (E.C. 3.2.1.103)

- β -manosidasa (3.2.1.25), α -manosidasa (3.2.1.24), β -1,2-manosidasa, α -1,2-manosidasa, (E.C. 3.2.1.113) (E.C. 3.2.1.130), α -1,2-1,6-manosidasa (3.2.1.137), β -1,3-manosidasa (E.C. 3.2.1.77), β -1,4-manosidasa (E.C. 3.2.1.137), β -1,6-manosidasa (E.C. 3.2.1.101), α -1,3-1,6-manosidasa (E.C. 3.2.1.114), β -1,4-manobiosidasa (E.C. 3.2.1.100);

- glukuronosidasa (E.C. 3.2.1.131), glukuronidasa (E.C. 3.2.1.31), exo 1,2 nebo 1,4 glukuronidasa;

- agarasa (E.C. 3.2.1.81), carrageenasa (E.C. 3.2.1.83), α -1,2-xanthanlyasa, poly(α -L-guluronát)lyasa, také zvaná alginasa II (E.C. 4.2.2.11).

Preferované enzymy, které odbourávají sacharidové gummy jsou:

- manosidasy, β -manosidasa, endo-1,4- β -D-manosidasa, endo-1,2- β -D-manosidasa a exo-1,3- β -D-manosidasa;

- galaktosidasy, exo-1,6- β -D-galaktosidasa a 1,3- β -D-galaktosidasa;

- glukuronidasy, glukuronosidasa a exo-1,2- nebo 1,4-glukuronidasa

- arabinasy, endo- α -1,5-arabinosidasa, exoarabanasa, exo A (α -1,2, α -1,3) arabinofuranosidasa, exo B (α -1,3, α -1,5) arabinofuranosidasa;

- xanthanlyasa, poly(α -L-guluronát)lyasa, agarasa a carrageenasa.

Preferované enzymy, které odbourávají sacharidové gumy, určené pro specifické neškrobové necelulosové potravinářské polysacharidy, které mají v 1% roztoku, vyjádřeno v procentech hmotnostních, viskozitu vyšší než 800 cPs jsou zejména následující: Enzymy hydrolyzující guarovou gumu (guarový prášek, jaguárová guma), ***** (známé jako potravinářská aditiva E 410, E 412 a 21CFR 184, 1339 a 13423) jsou manosidasa, galaktomanosidasa, s výhodou endo manosidasa a galaktomanosidasa, jako je Gamanasa®, což je galaktomananasa z *Aspergillus niger*. Preferované enzymy pro odbourávání xanthanových gum jsou manosidasa, glukuronosidasa a glukosidasa. Pro odbourávání Karayovy gumy jsou preferované enzymy galaktosidasa a rhamnogalakturonasa. Pro odbourávání tragakanthové gumy jsou preferované enzymy galakturonasa, galaktosidasa, fukosidasa a arabanasa. Preferované enzymy pro odbourávání gellanových, agarových a carrageenasových gum jsou glukosidasa, rhamnosidasa a glukuronidasa, agarasa a carrageenasa. Preferované enzymy, které odbourávají manopyranosyluronové a gulopyranosyluronové jednotky obsažené v alginátu, jsou manuronasa a guluronasa.

Do předkládaného vynálezu jsou zahrnuty následující tři manany odbourávající enzymy: EC 3.2.1.25 β -manosidasa, EC 3.2.1.78 endo-1,4- β -manosidasa, dále označovaná jako mananasa a EC 3.2.1.100 1,4- β -manobiosidasa (IUPAC Classification, Enzyme Nomenclature, 1992, ISBN 0-1-227165-3 Academic Press).

Ještě výhodněji obsahují prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu β -1,4-manosidasu (EC 3.2.1.78) dále označovanou jako mananasa. Pojem "mananasa" nebo

"galaktomananasa" označuje mananasový enzym definovaný v dané problematice jako ten, který je oficiálně nazýván manan endo-1,4-beta-manosidasa a alternativně se pojmenovává jako beta-mananasa a endo-1,4-mananasa a katalyzuje reakce náhodné hydrolýzy 1,4-beta-D-manosidických spojek v mananech, galaktomananech, glukomananech a galaktoglukomananech.

Konkrétně manasasy (EC 3.2.1.78) tvoří skupinu polysacharas, které odbourávají manany a označuje enzymy, které jsou schopné štěpit polyosové řetězce obsahující manosové jednotky, tj. jsou schopné čtěpit glykosidické vazby v mananech, glukomananech a galaktoglukomananech. Manany jsou polysacharidy, které mají základní řetězec složený z β -1,4-spojených manos, glukomanany jsou polysacharidy, které mají základní řetězec složený z více či méně pravidelně se střídajících β -1,4 spojených manos a glukos a galaktomanany a galaktoglukomanany jsou manany a glukomanany s α -1,6 připojeními galaktosovými rozvětveními. Tyto sloučeniny jsou případně i acetylované.

Odbourávání galaktomananů a galaktoglukomananů se usnadňuje úplným nebo částečným odstraněním galaktosových postranních větví. Dále se odbourávání acetylovaných mananů, glukomananů, galaktomananů a galaktoglukomananů usnadňuje úplnou nebo částečnou deacetylací. Acetylové skupiny se odstraňují alkalicky nebo mananacetylesterasami. Oligomery, které se uvolňují mananasami nebo kombinací mananas a α -galaktosidas a/nebo mananacetylesterasami se dále odbourávají tak, že se β -manosidasou a/nebo β -glukosidasou uvolní maltosa.

Manasasy byly zjištěny v několika organismech rodu *Bacillus*. Například, v práci Talbot a kol., Appl. Environ. Microbiol., sv. 56, č. 11, str. 3505 až 3510 (1990) se popisuje β -mananasa získaná z *Bacillus stearothermophilus* ve formě dimeru o molekulové hmotnosti 162 kDa a pH optimu 5,5 až 7,5. Mendoza a kol., World J. Microbiol. Biotech., sv. 10, č. 5, str. 551 až

555 (1994), popisuje β -mananasu získanou z *Bacillus subtilis* o molekulové hmotnosti 38 kDa s optimem aktivity při pH 5,5 a 55C a pI 4,8. JP-0304706 popisuje β -mananasu získanou z *Bacillus sp.* o molekulové hmotnosti 373 kDa, měřené gelovou filtrací, pH optimem 8 až 10 a pI 5,3 až 5,4. JP-63056289 popisuje získávání alkalické tepelně stabilní β -mananasy, která hydrolyzuje β -1,4-D-manopyranosidové vazby například mananů a produkují mano-oligosacharidy. JP-63036774 popisuje mikroorganismus *Bacillus* FERM P-8856, který produkuje β -mananasu a β -manosidasu při alkalickém pH. JP-08051975 popisuje alkalické β -mananasy z alkalofilního *Bacillus sp.* AM-001. Čištěná mananasa z *Bacillus amyloliquefaciens* použitelná při bělení papíru a způsob její přípravy je popsán ve WO 97/11164. WO 91/18974 popisuje hemicelulasy jako je glukanasu, xylanasu nebo mananasu aktivní při extrémním pH a teplotě. WO 94/25576 popisuje enzym z *Aspergillus aculeatus*. CBS 101.43 má mananasovou aktivitu, která je využitelná pro odbourávání a modifikaci materiálu ze stěn rostlinných buněk nebo buněk řas. WO 93/24622 popisuje mananasy izolované z *Trichoderma reseei* použitelné pro bělení lignocelulosových drtí. Hemicelulasy schopné odbourávání manan obsahující hemicelulosy jsou popsány ve WO 91/18974 a čištěné mananasy z *Bacillus amyloliquefaciens* jsou popsány ve WO 97/11164.

Zejména budou tyto mananasové enzymy alkalické mananasy definované dále, nejvýhodněji mananasy pocházející z bakteriálních zdrojů. Prací prostředek podle předkládaného vynálezu obsahuje zejména alkalickou mananasu vybranou z mananas z kmenu *Bacillus agaradherens* a/nebo *Bacillus subtilis* kmen 168, gen yght.

Pojem "alkalický mananasový enzym" zahrnuje enzymy, které mají enzymatickou aktivitu přinejmenším 10 %, s výhodou přinejmenším 25 %, ještě výhodněji přinejmenším 40 %, maximální aktivity při daném pH v rozsahu 7 až 12, s výhodou 7,5 až 10,5.

Nejvýhodněji bude prací detergentní prostředek podle předkládaného vynálezu obsahovat alkalickou mananasu z *Bacillus agaradherens*. Tato mananasa je:

i) polypeptid produkovaný *Bacillus agaradherens*, NCIMB 40482 nebo

ii) polypeptid obsahující aminokyselinovou sekvenci, která je uvedena v pozicích 32 až 343 v sekvenci identifikační číslo 2 nebo

iii) analog polypeptidu definovaného v bodech i) nebo ii), který je přinejmenším ze 70 % homologický s tímto polypeptidem nebo je odvozen z tohoto polypeptidu náhradou, vynecháním nebo přidáním jedné nebo několika aminokyselin nebo je imunologicky reaktivní s polyklonální protilátkou vznikající proti tomuto peptidu v jeho čisté podobě.

Předkládaný vynález také zahrnuje izolovaný polypeptid, který má mananasovou aktivitu vybraný ze skupiny sestávající z

(a) polynukleotidových molekul kódujících polypeptid, který má mananasovou aktivitu a obsahuje sekvenci oligonukleotidů, která je uvedena u sekvence identifikačního čísla 1 od nukleotidu 97 k nukleotidu 1029;

(b) homology (a);

(c) polynukleotidové molekuly, které kódují polypeptid mající mananasovou aktivitu, které jsou přinejmenším ze 70 % identické s aminokyselinovou sekvencí identifikačního čísla 2, ato od aminokyseliny 32 k aminokyselině 343;

(d) molekuly komplementární k (a), (b) nebo (c); a

(e) degenerované nukleotidové sekvence (a), (b), (c) nebo (d).

Plasmid pSJ1678 obsahující polynukleotidovou molekulu (DNA sekvenci) kódující mananasu podle předkládaného vynálezu byl převeden do kmenu *Escherichia coli*, který byl vynálezci umístěn podle Budapešťské dohody o Mezinárodním rozpoznávání mikroorganismů umístěných pro účely patentové procedury v Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH,

Mascherorder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Spolková republika Německo, 18. května 1998 pod číslem DSM 12180.

Druhý nejpreferovanější enzym je mananasa z *Bacillus subtilis* kmen 168 což je mananasa, která :

i) je kódována kódovací částí DNA sekvence identifikační číslo 5 nebo analogickou sekvencí a/nebo

ii) je polypeptid obsahující aminokyselinovou sekvenci uvedenou jako sekvence identifikační číslo 6 nebo

iii) analogický polypeptid definovaný v bodě ii), který je přinejmenším ze 70 % homologický s tímto polypeptidem nebo je odvozen z tohoto polypeptidu náhradou, vynecháním nebo přidáním jedné nebo několika aminokyselin nebo je imunologicky reaktivní s polyklonální protilátkou vznikající proti tomuto peptidu v jeho čisté podobě.

Předkládaný vynález také zahrnuje izolovaný polypeptid, který má mananasovou aktivitu vybraný ze skupiny sestávající z

(a) polynukleotidových molekul kódujících polypeptid, který má mananasovou aktivitu a obsahuje sekvenci nukleotidů uvedenou jako sekvence identifikační číslo 5;

(b) homology (a);

(c) polynukleotidové molekuly, které kódují polypeptid mající mananasovou aktivitu, které jsou přinejmenším ze 70 % identické s aminokyselinovou sekvencí identifikačního čísla 6;

(d) molekuly komplementární k (a), (b) nebo (c); a

(e) degenerované nukleotidové sekvence (a), (b), (c) nebo (d).

DEFINICE

Před podrobnou diskusí předkládaného vynálezu budou nejprve definovány následující pojmy:

Pojem "ortholog" (nebo "homologické druhy") označuje polypeptid nebo protein získaný z jednoho druhu, který je homologický k analogickému peptidu nebo proteinu z jiného druhu.

Pojem "paralog" označuje polypeptid nebo protein získaný z daného druhu, který je homologický k odlišnému peptidu nebo proteinu z téhož druhu.

Pojem "expresní vektor" označuje molekulu DNA, lineární nebo kruhovou, která obsahuje segment kódující polypeptid, který nás zajímá, funkčně spojený s dalšími segmenty, které zajišťují jeho transkripci. Takové další segmenty zahrnují promoterovou a terminační sekvenci a nepovinně zahrnují jeden nebo více počátků replikace, jeden nebo více vybratelných značek, zesilovač, polyadenylační signál a podobně. Expresní vektory jsou obecně odvozeny z plasmidové nebo virové DNA nebo obsahují prvky obou. Expresní vektor podle předkládaného vynálezu je jakýkoliv expresní vektor, který se běžně podrobuje rekombinantním DNA postupům a volba vektoru bude často záviset na hostitelské buňce, do které se vektor vkládá. Vektor tedy může být autonomně se replikující vektor, tj. vektor, který existuje jako extrachromosomální entita, jehož replikace je nezávislá na replikaci chromosomu, např. plasmid. Alternativně je vektor takový, který se po vnesení do hostitelské buňky integruje do genomu hostitelské buňky a replikuje se spolu s chromosomy, do kterých byl integrován.

Pojem "rekombinantně exprimovaný", tak jak se používá v předkládaném vynálezu v souvislosti s expresí polypeptidu nebo proteinu, je definován stejně jako je to v dané problematice běžné. Rekombinantní exprese proteinu se obecně provádí tak, že se použije expresní vektor, jehož definice již byla uvedena.

Pojem "izolovaný", pokud se týká molekuly polynukleotidu, označuje, že polynukleotid byl vyjmut z jeho přirozeného genetického prostředí, a proto neobsahuje jiné nepatřičné nebo nechtěné kódující sekvence a je ve formě vhodné pro použití do výrobních systémů na geneticky navržené proteiny. Takové izolované molekuly jsou ty, které jsou získány z jejich přirozeného prostředí a zahrnují cDNA a genomické klony.

Izolované molekuly DNA podle předkládaného vynálezu neobsahují jiné geny, se kterými jsou běžně spojeny, ale mohou obsahovat přirozeně se vyskytující 5' a 3' nepřepisované oblasti, jako jsou promotery a terminátory. Identifikace připojených oblastí je odborníkům zřejmá (viz, například, Dynan a Tijan, Nature 316: 774 až 778, 1985).

Pojem "izolovaný polynukleotid" lze alternativně nahradit pojmem "klonovaný polynukleotid". Pokud je použit na protein/polypeptid, pak pojem "izolovaný" ukazuje, že se protein nalézá za podmínek jiných než jsou v přirozeném prostředí. V preferované formě izolovaný protein neobsahuje jiné proteiny, zejména jiné homologní proteiny (tj. "homologní nečistoty (viz dále)). Preferováno je poskytnutí proteinu ve vyšší než 40% čistotě, ještě výhodněji ve vyšší než 60% čistotě. Ještě výhodněji se preferuje poskytnutí proteinu ve vysoce čisté formě, tj. vyšší než 80% čistotě, ještě výhodněji ve vyšší než 95 % čistotě a nejvýhodněji ve vyšší než 99% čistotě, stanovené podle SDS-PAGE.

Pojem "izolovaný protein/polypeptid" lze alternativně nahradit pojmem "čištěný protein/polypeptid".

Pojem "homologní nečistoty" označuje jakoukoliv nečistotu (např. jiný polypeptid než je polypeptid podle předkládaného vynálezu), která pochází z homologní buňky, ze které byl původně polypeptid podle předkládaného vynálezu získán.

Pojem "získaný z", tak jak se používá v předkládaném vynálezu v souvislosti s konkrétním mikrobiálním zdrojem, označuje, že polynukleotid a/nebo polypeptid vyráběný z konkrétního zdroje nebo z buňky, do které byl vložen zdrojový gen.

Pojem "funkčně spojený", ve vztahu k částem DNA, označuje, že jsou části uspořádány tak, že je jejich funkce ve shodě pro jejich zamýšlené účely, např. transkripce se iniciuje v promoteru a pokračuje přes kódující část až do terminátoru.

Pojem "polynukleotid" označuje jedno- nebo dvouvláknový polymer deoxyribonukleotidových nebo ribonukleotidových bází čtený od 5' ke 3' konci. Polynukleotidy zahrnují RNA a DNA a lze je izolovat z přírodních zdrojů, syntetizovat *in vitro* nebo připravit kombinací přírodních nebo syntetických molekul.

Pojem "komplementy polynukleotidových molekul" označuje polynukleotidové molekuly, které mají komplementární sekvenci bází a obrácenou orientaci ve srovnání s referenční sekvencí. Například, sekvence 5' ATGCACGGG 3' je komplementární k sekvenci 5' CCCGTGCAT 3'.

Pojem "degenerovaná nukleotidová sekvence" označuje sekvenci nukleotidů, která zahrnuje jeden nebo více degenerovaných kodonů (ve srovnání s referenční polynukleotidovou molekulou, která kóduje polypeptid). Degenerované kodony obsahují jiný triplet nukleotidů, ale kódují stejný aminokyselinový zbytek (tj. triplety GAU a GAC oba kódují Asp).

Pojem "promoter" označuje část genu obsahujícího DNA sekvence, které umožňují vazbu RNA polymerasy a iniciaci transkripce. Promoterové sekvence se obecně, ale ne vždy, nalézají v 5' nekódujících oblastech genů.

Pojem "vyučovací signální sekvence" označuje DNA sekvenci, která kóduje polypeptid ("vyučovací peptid"), který, jako složka většího polypeptidu, provází větší polypeptid vyučovací cestou buňky, ve které je syntetizován. Větší peptid se obecně štěpí tak, aby se vyučovací peptid odstranil během průchodu vyučovací cestou.

Jak využívat sekvence podle předkládaného vynálezu, abychom získali další příbuzné sekvence.

Popsané informace o sekvencích uvedené v předkládaném vynálezu, které se týkají polynukleotidové sekvence kódující mananasu podle předkládaného vynálezu, lze použít jako nástroj pro určení dalších homologických mananas. Například lze polymerasovou řetězovou reakci (PCR) použít pro amplifikaci

sekvencí kódujících další homologické mananasy z různých bakteriálních zdrojů, zejména jiných kmenů *Bacillus*.

Postup pro test aktivity

Polypeptid podle předkládaného vynálezu, který má mananasovou aktivitu lze testovat na mananasovou aktivitu podle standardních testovacích postupů známých v dané problematice, jako je nanesení testovaného roztoku do děr o průměru 4 mm vyříznutých v agarové desce obsahující 0,2 % AZCL galaktomanan (karob), tj. substrát pro test endo-1,4-beta-D-mananasy dostupné jako kat. č. I-AZGMA od firmy Megazyme v ceně 110 USD za 3 gramy.

(Internetová adresa firmy Megazyme je:

<http://www.megazyme.com/Purchase/index.html>).

Polynukleotidy

Izolovaný polynukleotid podle předkládaného vynálezu bude hybridizovat se srovnatelně velikými oblastmi sekvence id. č. 1 nebo sekvence, která je s touto sekvencí komplementární, přinejmenším za středně těžkých podmínek.

Konkrétně budou polynukleotidy podle předkládaného vynálezu hybridizovat na denaturovanou dvouvláknovou DNA sondu, která buď obsahuje celou sekvenci uvedenou v pozicích 97 až 1029 sekvence id. č. 1, nebo jakoukoliv sondu, která obsahuje podsekvenci sekvence id. č. 1 o délce přinejmenším 100 párů bází, přinejmenším za středně těžkých podmínek, ale s výhodou za podmínek, které jsou těžké, které jsou podrobněji popsány dále. Vhodné experimentální podmínky pro stanovení hybridizace za středně těžkých nebo těžkých podmínek mezi nukleotidovou sondou a homologickou DNA nebo RNA sekvencí zahrnují namočení filtru obsahujícího DNA fragmenty nebo RNA k hybridizaci v 5 x SSC (chlorid sodný / citrát sodný, Sambrook a kol., 1989) na dobu 10 minut a předhybridizaci filtru v roztoku 5 x SSC, 5 x Denhardtově roztoku (Sambrook a kol., 1989), 0,5 % SDS a 100 µg/ml denaturované ultrazvukované DNA ze spermatu lososa

(Sambrook a kol., 1989) následně pak hybridizaci v témže roztoku obsahujícím koncentraci 10 ng/ml náhodné primerové (Feinberg, A.P. a Vogelstein, B. (1993) Anal. Biochem. 132: 6 až 13), ^{32}P -dCTP značené (specifická aktivita vyšší než 1×10^9 cpm/ μg) sondy po dobu 12 hodin při teplotě 45 °C. Filtr pak byl dvakrát promýván po dobu 30 minut ve 2 x SSC, 0,5 % SDS při přinejmenším teplotě 60 °C (středně těžké podmínky), výhodněji přinejmenším při teplotě 65 °C (středně těžké/těžké podmínky), ještě výhodněji přinejmenším při teplotě 70 °C (těžké podmínky) a nejvýhodněji přinejmenším při teplotě 75 °C (velmi těžké podmínky).

Molekuly, ke kterým se oligonukleotidová sonda za těchto podmínek hybridizuje, se detekují pomocí rentgenového filmu.

Jak již bylo uvedeno, izolované polynukleotidy podle předkládaného vynálezu zahrnují DNA a RNA. Způsoby izolace DNA a RNA jsou v dané problematice dobře známé. DNA a RNA kódující geny, o které se zajímáme, lze klonovat v Genové bance nebo DNA knihovnách pomocí způsobů, které jsou v dané problematice známé.

Polynukleotidy kódující polypeptidy, které mají mananasovou aktivitu, podle předkládaného vynálezu se pak identifikují a izolují, například, hybridizací nebo PCR.

Předkládaný vynález dále poskytuje polypeptidy, které jsou protějškem a polynukleotidy z jiných kmenů bakterií (orthologu nebo paralogů). Zejména zajímavé jsou mananasové polypeptidy z grampozitivních alkalofilních kmenů, zejména druhu *Bacillus*.

Látky homologické s polypeptidy, které mají mananasovou aktivitu, podle předkládaného vynálezu lze klonovat díky informacím a prostředkům poskytovaným předkládaným vynálezem v kombinaci s konvenčními klonovacími technikami. Například, DNA sekvenci podle předkládaného vynálezu lze klonovat pomocí chromosomální DNA získané z typu buněk, které exprimují protein. Vhodné zdroje DNA lze zjistit testem Northern

blotováním se sondami navrženými ze sekvencí popsaných v předkládaném vynálezu. Z chromozomální DNA pozitivní buněčné linie je pak připravena knihovna. DNA sekvenci podle předkládaného vynálezu kódující polypeptid, který má mananasovou aktivitu, lze pak izolovat různými způsoby, jako je testování sondami navrženými ze sekvencí popsaných v předkládané přihlášce a patentových nárocích nebo jednou či více sadami degenerovaných sond založených na popsaných sekvencích. DNA sekvenci podle předkládaného vynálezu lze také klonovat pomocí polymerasové řetězové reakce neboli PCR (Mullis, U.S. patent 4,683,202) za použití primerů navržených ze sekvencí popsaných v předkládaném vynálezu. Kromě dalších metod lze DNA knihovnu použít pro přeměnu nebo naočkování hostujících buněk a expresi DNA, o kterou se zajímáme lze detekovat protilátkou (monoklonální nebo polyklonální) vznikající proti mananase klonované z *B. agaradherens*, NCIMB 40482, exprimované a čištěné postupem popsaným v oddílu Materiály a postupy a v příkladu 1, nebo testem aktivity, který se týká polypeptidu, který má mananasovou aktivitu.

Mananasu kódující část DNA sekvence klonované do plasmidu pSJ1678 přítomného v *Escherichia coli* DSM 12180 a/nebo analogickou DNA sekvenci podle předkládaného vynálezu lze klonovat z kmene bakterií *Bacillus agaradherens*, s výhodou z kmene NCIMB 40482, produkujícího enzym mající degradační aktivitu vůči mananu nebo z jiného nebo z příbuzného organismu jak je v předkládaném vynálezu popsáno.

Alternativně lze analogickou sekvenci zkonstruovat na základě DNA sekvence získatelné z plasmidu přítomného v *Escherichia coli* DSM 12180 (o kterém se předpokládá, že je shodný s připojenou sekvencí id. č. 1), např. který je její podsekvencí a/nebo zavedením nukleotidových substitucí, ze kterých nevznikne jiná aminokyselinová sekvence mananasy kódované DNA sekvencí, ale která odpovídá použití kodonu hostitelského organismu určeného pro produkci enzymu nebo

zavedením nukleotidových substitucí, ze kterých vznikne jiná aminokyselinová sekvence (tj. variant manan degradujícího enzymu podle předkládaného vynálezu).

Polypeptidy

Sekvence aminokyselin č. 32 až 343 v sekvenci id. č. 2 je maturovaná mananasová sekvence.

Předkládaný vynález také poskytuje mananasové polypeptidy, které jsou v podstatě homologní k polypeptidu sekvence id. č. 2 a látky, které jsou k němu homologní (paralogy nebo orthology). Pojem "v podstatě homologní" se v předkládaném vynálezu používá pro označení polypeptidů, které mají 70%, s výhodou přinejmenším 80%, ještě výhodněji přinejmenším 85% a dokonce ještě výhodněji přinejmenším 90% sekvenční identitu se sekvencí uvedenou u aminokyselin č. 32 až 343 sekvence id. č. 2 nebo jejich orthologů nebo paralogů. Takové polypeptidy budou s výhodou přinejmenším z 95 % identické a nejvýhodněji z 98 % nebo více identické se sekvencí uvedenou u aminokyselin č. 32 až 343 sekvence id. č. 2 nebo jejich orthologů nebo paralogů. Procento sekvenční identity se stanovuje běžnými způsoby, prostřednictvím počítačových programů známých v dané problematice, jako je GAP poskytovaný v balíku programů GCG (Program Manual for the Wisconsin Package, verze 8, srpen 1994, Genetics Computer Group, 575, Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711), který je popsán v práci Needleman, S.B., a Wunsch, C.D. (1970) ,Journal of Molecular Biology, 48, 443 až 453, která je zde uvedena jako reference. GAP se používá pro porovnání polypeptidové sekvence s následujícími nastaveními: "GAP creation penalty" má hodnotu 3,0 a "GAP extension penalty" má hodnotu 0,1.

Sekvenční identita polynukleotidové molekuly se stanovuje podobnými postupy s použitím GAP s následujícími nastaveními pro porovnání DNA sekvence: "GAP creation penalty" má hodnotu 5,0 a "GAP extension penalty" má hodnotu 0,3.

Příprava enzymů podle předkládaného vynálezu s výhodou vychází z mikroorganismů, s výhodou z bakterií, řas nebo hub, zejména z bakterií, jako jsou bakterie náležející do skupiny *Bacillus*, s výhodou k alkalofilnímu kmenu *Bacillus*, který lze vybrat ze skupiny sestávající z *Bacillus agadherens* a vysoce příbuzných bakterií *Bacillus*, které jsou při porovnání 16S rDNA sekvencí s výhodou přinejmenším z 95 % a ještě výhodněji z 98 % homologní s *Bacillus agadherens*.

V zásadě homologní proteiny a polypeptidy jsou charakterizovány tím, že je v nich jedna nebo více aminokyselin vyměněných, vynechaných nebo přidaných. Tyto změny jsou s výhodou malé, tj. jedná se o konzervativní výměny aminokyselin (viz Tabulka 2) a další výměny, které významně neovlivní tvar nebo aktivitu proteinu nebo polypeptidu, malá vynechání, typicky od jedné do 30 aminokyselin a malá prodloužení na aminovém nebo karboxylovém konci, jako je methioninový zbytek na aminovém konci, malý spojovací peptid do 20 až 25 zbytků nebo malá prodloužení, která usnadňují čištění (afinitní přívěsek), jako je polyhistidinová část proteinu A (Nilsson a kol., EMBO J., 4: 1075, 1985; Nilsson a kol., Methods Enzymol., 198: 3, 1991; viz obecně v práci Ford a kol., Protein Expression and Purification, 2: 95-107, 1991, které jsou zde uvedeny jako reference). DNA kódující afinitní přívěsky jsou dostupné od komerčních dodavatelů (např. Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ; New England Biolabs, Beverly, MA).

Nicméně, dokonce i když jsou popsané změny s výhodou malé, jedná se někdy i o změny větší povahy, jako je spojení větších polypeptidů do 300 aminokyselin a více, a to jak na aminovém konci, tak na karboxylovém konci u mananasových polypeptidů podle předkládaného vynálezu.

Tabulka 1

Konzervativní výměny aminokyselin

Bazické: arginin, lysin, histidin

Kyselé: kyselina glutamová, kyselina asparagová

Polární: glutamin, asparagin

Hydrofobní: leucin, isoleucin, valin

Aromatické: fenylalanin, tryptofan, tyrosin

Malé: glycin, alanin, serin, threonin, methionin

Kromě 20 standardních aminokyselin lze aminokyselinové zbytky polypeptidu podle předkládaného vynálezu nahradit nestandardními aminokyselinami (jako je 4-hydroxyprolin, 6-N-methyllysin, 2-aminoisobutanová kyselina, isovalin a α -methylserin). Omezené množství nekonzervativních aminokyselin, aminokyselin, které nejsou kódovány genetickým kódem a nepřírozených aminokyselin lze použít jako náhradu aminokyselinových zbytků. "Nepřírozené aminokyseliny" byly upravovány po syntéze proteinu a/nebo mají ve svém postranním řetězci chemickou strukturu, která je odlišná od chemické struktury, kterou mají standardní aminokyseliny. Nepřírozené aminokyseliny lze syntetizovat chemicky, nebo jsou, s výhodou, komerčně dostupné a zahrnují kyselinu pipekolinovou, kyselinu thiazolidinkarboxylovou, dehydroprolin, 3- a 4-methylprolin a 3,3-dimethylprolin.

Podstatné aminokyseliny v mananasových polypeptidech podle předkládaného vynálezu se zjišťují postupy, které jsou v dané problematice známe, jako je místně směřovaná mutageneze nebo alaninová skenovací mutageneze (Cunningham a Wells, Science 244: 1081-1085, 1989). Při alaninové skenovací mutagenezi se mutace jediným alaninem provede na každém místě v molekule a u vzniklých mutovaných molekul se zjišťuje jejich biologická aktivita (tj. mananasová aktivita), aby se zjistily aminokyselinové zbytky, které jsou nezbytné pro aktivitu molekuly. Viz také Hilton a kol., J. Biol. Chem., 271:

4699-4708, 1996. Aktivní místo enzymu nebo i jiné biologické interakce lze také určit fyzikální analýzou struktury, která se zjišťuje takovými technikami jako je nukleární magnetická rezonance, krystalografie, elektronová difrakce nebo fotoafinitní značení ve spojení s mutací aminokyselin z domnělého kontantního místa. Viz, například de Vos a kol., Science, 255: 306-312, 1992, Smith a kol., J. Mol. Biol., 224: 899-904, 1992, Wlodaver a kol., FEBS Lett., 309: 59-64, 1992. Skutečnost, které aminokyseliny jsou podstatné, lze také odvodit z analýzy homologie s polypeptidy, které jsou příbuzné s polypeptidy podle předkládaného vynálezu.

Několikanásobnou výměnu aminokyselin lze provést a otestovat známými způsoby mutagenese a/nebo rekombinace a následně odpovídající testovací procedurou, jako jsou ty, které jsou posány v Reidhaar-Olson a Sauer, Science, 241: 53-57, 1988, Bowie a Sauer, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 2152-2156, 1989, WO 95/17413 nebo WO 95/22625. Krátce řečeno, tito autoři popisují postupy pro simultánní změny na dvou a více místech v polypeptidu nebo rekombinaci různých mutací (WO 95/17413, WO 95/22625) a následný výběr funkčních polypeptidů, sekvenování mutagenovaných peptidů, aby se stanovilo množství možných substitucí v každém místě. Lze využít i další způsoby, které zahrnují fágem zobrazovanou (např. Lowman a kol., Biochem, 30: 10832-10837, 1991, Ladner a kol., US patent č. 5,223,409, Huse, WIPO publikace WO 92/06204) a mítně směřovanou mutagenezi (Derbyshire a kol., Gene 46: 145, 1986, Ner a kol., DNA 7: 127, 1988).

Popsané způsoby mutagenese lze spojit s vysoce výkonnými automatizovanými metodami screeningu, aby se zjistila aktivita klonovaných mutagenovaných polypeptidů v hostitelských buňkách. Mutagenované molekuly DNA, které kódují aktivní polypeptidy, lze zpětně získat z hostitelských buněk a pomocí moderních zařízení rychle sekvenovat. Tyto postupy umožňují rychlé stanovení důležitosti jednotlivých aminokyselinových

zbytků v polypeptidech, které nás zajímají, a lze je použít na polypeptidy neznámé struktury.

Pomocí popsaných metod může odborník identifikovat a/nebo připravit různé polypeptidy, které jsou v zásadě homologní se zbytky 32 až 343 v sekvenci id. č. 2 a udržují si mananasovou aktivitu proteinu přirozeného typu.

Výroba proteinu

Proteiny a polypeptidy podle předkládaného vynálezu, včetně polypeptidů plné délky, jejich fragmentů a proteinů vzniklých spojením několika, lze vyrábět v geneticky upravených hostitelských buňkách pomocí běžných postupů. Vhodné hostitelské buňky jsou buňky takového typu, které mohou být transformovány nebo transfekovány exogenní DNA a růst v kultuře, a zahrnují bakterie, buňky hub a vyšší eukaryotní buňky rostoucí v kultuře. Preferovány jsou bakteriální buňky, zejména buňky rostoucí v kultuře, které jsou Gram-pozitivní. Zejména preferovány jsou Gram-pozitivní buňky z rodu *Bacillus*, a to buňky ze skupiny *Bacillus subtilis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus lautus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus licheniformis* a *Bacillus agaradherens* a zejména *Bacillus agaradherens*.

Techniky manipulace s klonovanými molekulami DNA a vkládání exogenní DNA do různých hostitelských buněk je popsáno v knihách Sambrook a kol., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2. vydání, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989, Ausubel a kol. (editoři), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Inc., NY, 1987, a "*Bacillus subtilis* and other Gram-positive Bacteria", Sonensheim a kol., 1993, American Society for Microbiology, Washington D.C., které jsou zde uvedeny jako reference.

Obecně se DNA sekvence kódující mananasu podle předkládaného vynálezu funkčně připojují k dalším genetickým prvkům, které

jsou nutné pro jejich expresi, a obecně zahrnují v expresním vektoru promotér transkripce a terminátor. Vektor bude také obecně obsahovat jednu nebo více volitelných značek a jeden nebo více počátků replikace, ačkoliv odborník v dané problematice ví, že v některých systémech jsou volitelné značky na oddělených vektorech a replikace exogenní DNA se provádí integrací do genomu hostitelské buňky. Volba promoterů, terminátorů, volitelných markerů, vektorů a dalších prvků je rutinní prací v rámci znalostí odborníka v dané problematice. Mnoho takových prvků je popsáno v literatuře a jsou dostupné od komerčních dodavatelů.

Aby byl polypeptid nasměrován do vylučovací cesty hostitelské buňky, je v expresním vektoru umístěna vylučovací signální sekvence (také známá jako vedoucí sekvence, preprosekvence nebo presekvence). Vylučovací signální sekvence může patřit příslušnému polypeptidu nebo může být odvozena od jiného vylučovaného proteinu nebo může být syntetizována *de novo*. V dané problematice je známo mnoho vhodných vylučovacích sekvencí a jako referenci je možno uvést "Bacillus subtilis and other Gram-positive bacteria", Sonensheim a kol., 1993, American Society for Microbiology, Washington D.C. a Cutting, S.M. (editor) "Molecular biological methods for bacillus", John Wiley and Sons, 1990, kde jsou další popisy vhodných vylučovacích signálních sekvencí, zejména pro hostitelskou buňku *Bacillus*. Vylučovací signální sekvence je připojena k DNA sekvenci ve správném čtecím rámci. Vylučovací signální sekvence jsou obecně umístěny v pozici 5' DNA sekvence kódující polypeptid, který nás zajímá, ačkoliv některé signální sekvence mohou být umístěny kdekoli v DNA sekvenci, která nás zajímá (viz, Welch a kol., US patent č. 5,037,746, Holland a kol., US patent č. 5,143,830).

Transformované nebo tranfekované hostitelské buňky se pěstují v kultuře podle běžných postupů v kulturním médiu obsahujícím živiny a další složky vyžadované pro růst

vybraných hostitelských buněk. Různá vhodná média, včetně definovaných médií a komplexních médií, jsou v dané problematice známa a obecně zahrnují zdroj uhlíku, zdroj dusíku, esenciální aminokyseliny, vitamíny a minerály. Média také případně obsahují takové složky, jako jsou růstové faktory nebo sérum, podle potřeby. Růstové médium bude obecně vybráno pro buňky obsahující exogenně přidanou DNA pomocí, například, výběru léky nebo nedostatkem esenciálních živin, které jsou doplněny volitelnou značkou nesenou na expresním vektoru nebo kotransfekovány do hostitelské buňky.

Izolace proteinu

Když se exprimovaný rekombinantní polypeptid vylučuje, lze tento polypeptid čistit mimo růstové médium. S výhodou se z média před čištěním polypeptidu odstraní hostitelské buňky (např. odstředěním).

Když se exprimovaný rekombinantní polypeptid nevylučuje z hostitelské buňky, pak se tato buňka s výhodou rozštěpí a polypeptid se uvolní do vodného "extraktu", který je prvním stupněm těchto technik čištění. S výhodou se z média před čištěním polypeptidu odstraní hostitelské buňky (např. odstředěním).

Rozštěpení buněk se provádí běžnými postupy, jako je působení lysozymu nebo působení vysokého tlaku. Pro další popis takových technik rozštěpování buněk viz knihu Robert K. Scobes, Protein Purification, 2. vydání, Springer-Verlag).

At' se exprimované rekombinantní polypeptidy (nebo chimérní polypeptidy) vylučují nebo ne, lze je čistit pomocí frakcionace a/nebo běžných čistících postupů a médií.

Pro frakcionaci vzorků lze využít srážení síranem amonným a kyselou nebo chaotropní extrakci. Příklady čistících kroků zahrnují hydroxyapatit, velikostní exkluzi, FPLC a HPLC na reversní fázi. Dále vhodná iontově výměnná média zahrnující derivatizované dextrany, agarosu, celulosu, polyakrylamid, speciální silikagely a podobně. Preferovány jsou PEI, DEAE,

QAE a Q deriváty s tím, že nejpreferovanější je DEAE sefarosa pro vysoký průtok (Pharmacia, Piscataway, NJ). Příklady chromatografických médií zahrnují média derivatizovaná fenylem, butylem nebo oktylem, jako je fenyl sefarosa FF (Pharmacia), Toypearl butyl 650 (Toso Haas, Montgomeryville, PA), oktyl sefarosa (Pharmacia) a podobně, nebo polyakrylové pryskyřice, jako je Amberchrom CG 71 (Toso Haas) a podobně. Vhodné pevné nosiče zahrnují skleněné kuličky, pryskyřice na bázi silikagelu, celulosové pryskyřice, agarosové kuličky, zesíťované agarosové kuličky, polystyrenové kuličky, zesíťované polyakrylamidové pryskyřice a podobně, které jsou za podmínek, při kterých se používají, nerozpustné. Tyto pevné nosiče lze upravit reaktivními skupinami, které umožňují připojení proteinů aminoskupinami, karboxylovými skupinami, thiolovými skupinami, hydroxylovými skupinami a/nebo cukernými skupinami. Příklady z chemie provádějící taková připojení zahrnují kyanogenbromidovou aktivaci, N-hydroxysukcinimidovou aktivaci, epoxidovou aktivaci, thiolovou aktivaci, hydrazidovou aktivaci, a spojování karboxylových a aminových derivátů karbodiimidovým způsobem. Tyto a další pevné nosiče jsou dobře známé, v dané problematice široce využívané a jsou dostupné od komerčních dodavatelů.

Výběr konkrétního způsobu se provádí na základě rutinního návrhu a z části je určen vlastnostmi vybraného nosiče. Viz, například, knihu *Affinity Chromatography: Principles & Methods*, Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden, 1988.

Polypeptidy podle předkládaného vynálezu nebo jejich fragmenty lze také připravit chemickou syntézou. Polypeptidy podle předkládaného vynálezu jsou monomery nebo multimery, glykosylované nebo neglykosylované, pegylované nebo nepegylované a zahrnují nebo nezahrnují výchozí methioninový aminokyselinový zbytek.

Na základě informace o sekvenci popsanych v předkládaném vynálezu lze klonovat DNA sekvenci plné délky kódující

mananasu podle předkládaného vynálezu a obsahující DNA sekvenci uvedenou v sekvenci identifikační č. 1 přinejmenším jako DNA sekvence od pozice 97 do pozice 1029.

Klonování se provádí standardními postupy známými v dané problematice jako jsou

- příprava genové knihovny z kmenu *Bacillus*, zejména z druhu *B. agaradherens*, NCIMB 40482;

- nanesení takové knihovny na vhodné desky se substráty;

- identifikace klonu zahrnujícího polynukleotidovou sekvenci podle předkládaného vynálezu standardními hybridizačními technikami za použití sondy založené na sekvenci identifikační č. 1, nebo

- identifikaci klonu z genové knihovny *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482 inverzním PCR postupem za pomoci primerů založených na sekvenční informaci ze sekvence identifikační č. 1. Pro další podrobnosti týkající se inverzní PCR zde odkazujeme na knihu M.J. McPherson a kol., "PCR A Practical approach", information Press Ltd., Oxford, Anglie).

Na základě sekvenčních informací popsanych v předkládaném vynálezu (sekvence identifikační č. 1, sekvence identifikační č. 2) je izolace homologních polynukleotidových sekvencí kódujících homologní mananasu podle předkládaného vynálezu s využitím podobné strategie za použití genových knihoven z příbuzných mikrobiálních organismů, zejména genových knihoven z dalších kmenů druhu *Bacillus*, jako je alkalofilní druh *Bacillus*, je pro odborníky v dané problematice rutinní práce.

Alternativně lze DNA kódující manan nebo galaktomanan odbourávající enzymy podle předkládaného vynálezu obyčejně klonovat dobře známými postupy z vhodných zdrojů, jako je jakýkoliv z výše uvedených organismů, použitím syntetických oligonukleotidových sond připravených na základě DNA sekvence získatelné z plasmidu přítomného v *Escherichia coli* DSM 12180.

Polynukleotidovou molekulu podle předkládaného vynálezu lze izolovat z *Escherichia coli* DSM 12180, ve kterém je plasmid získaný klonováním uložen. Předkládaný vynález se také týká izolované v zásadě čisté biologické kultury kmenu *Escherichia coli*, DSM 12180.

V předkládaném kontextu znamená termín "příprava enzymu" prostředek k získání buď konvenčního produktu enzymatické fermentace, případně izolovaného a čištěného z jediného druhu mikroorganismu, kdy tato příprava obvykle zahrnuje určitý počet různých enzymatických aktivit; nebo směsi monokomponentních enzymů, s výhodou enzymů odvozených z bakterií nebo hub, pomocí konvenčních rekombinantních technik, kdy jsou tyto enzymy fermentovány a případně izolovány a čištěny odděleně a pocházejí z různých zdrojů, s výhodou houbových nebo bakteriálních zdrojů; nebo produktu fermentace mikroorganismu, který působí jako hostitelská buňka pro expresi rekombinantní mananasy, ale tento mikroorganismus současně produkuje další enzymy, např. enzymy odbourávající pektin, proteasy nebo celulasy, a jedná se o přírodní produkt fermentace z mikroorganismu, tj. enzymový komplex běžně produkovaný odpovídajícím přírodním mikroorganismem.

Způsob přípravy enzymového prostředku podle předkládaného vynálezu zahrnuje pěstování mikroorganismu, např. divokého typu, schopného produkovat mananasu za podmínek dovolujících vznik enzymu a získání enzymu z kultury. Pěstování se provádí pomocí běžných fermentačních technik, např. pěstování v třepaných lahvích nebo fermentorech s protřepáváním, čímž se zajistí dostatečné provzdušnění růstového média a vyvolá se vznik mananasového enzymu. Růstové médium případně obsahuje běžný zdroj dusíku, jako je pepton, extrakt z kvasnic nebo kasaminové kyseliny, omezené množství zdroje uhlíku, jako je dextrosa nebo sacharosa a inducer, jako je guarová guma nebo guma ze svatojánského chleba. Získání enzymu se provádí běžnými technikami, např. oddělením biomasy a roztoku nad ní

odstředováním nebo filtrací, získání roztoku nad rozštěpenými buňkami, pokud je enzym vnitrobuněčný, případně následným čištěním, které je popsáno v EP 0 406 314 nebo krystalizací, která je popsána ve WO 97/15660.

Imunologická zkřížená reaktivita

Polyklonální protilátky, které se používají pro stanovení imunologické zkřížené reaktivity, se připravují s použitím čištěných mananasových enzymů. Konkrétněji se antisérum proti mananase podle předkládaného vynálezu získává z imunizovaných králíků (nebo jiných hlodavců) postupy popsány v knize N. Axelsen a kol., *A Manual of Quantitative Immunoelectrophoresis*, Blackwell Scientific Publications, 1973, kapitola 23, nebo A. Johnston a R. Thorpe, *Immunochemistry in Practice*, Blackwell Scientific Publications, 1982 (konkrétněji strany 27 až 31). Čištěné imunoglobuliny lze získat z antiséra, například srážením solemi ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) a následnou dialýzou a iontově výměnnou chromatografií, např. na DAEA-Sephadexu. Imunochemická charakterizace proteinů se provádí dvojitou difusní analýzou podle Outcherlonyho (O. Outcherlony v knize *Handbook of Experimental Immunology* (D.M. Weir, editor), Blackwell Scientific Publications, 1967, strany 655 až 706), zkříženou imunoelektroforézou (N. Axelsen a kol., *A Manual of Quantitative Immunoelectrophoresis*, Blackwell Scientific Publications, 1973, kapitoly 3 a 4) nebo raketovou imunoelektroforézou (N. Axelsen a kol., *A Manual of Quantitative Immunoelectrophoresis*, Blackwell Scientific Publications, 1973, kapitola 2).

Příklady použitelných bakterií produkujících enzymy nebo enzymové prostředky podle předkládaného vynálezu jsou Gram pozitivní bakterie, s výhodou z oddělení *Bacillus/Lactobacillus*, s výhodou kmenu z druhu *Bacillus*, ještě výhodněji kmenu *Bacillus agaradherens*, zejména kmenu *Bacillus agaradherens*, NCIMB 40482.

Předkládaný vynález zahrnuje izolovanou mananasu, která má vlastnosti popsané výše a ve které nejsou homologické nečistoty, a vyrábí se pomocí konvenčních rekombinantních technik.

Stanovení katalytické aktivity (ManU - mananasová jednotka) mananasy

Kolorimetrický test: Jako substrát byl použit 0,2% AZCL-Galaktomanan (Megazyme, Australia) v 0,1 M glycinovém pufru o pH 10,0. Test se provádí v Eppendorfových mikrozkuvkách o objemu 1,5 ml na tepelné míchačce za míchání a teploty 40 °C. Inkubace 0,750 ml substrátu s 0,05 ml enzymu po dobu 20 minut, odstředování po dobu 4 minut při 15 000 ot./min. Barva roztoku se měří při 600 nm v kyvetě délky 1 cm. Jedna mananasová jednotka (ManU) odpovídá absorbanci 0,24 v 1 cm.

Získání mananasy z *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482

Kmeny

Bacillus agaradherens NCIMB 40482 obsahující mananasový enzym kódující DNA sekvenci.

Kmen *E. coli*: Buňky *E. coli* SJ2 (Diderichsen, B., Wedsted, U., Hedegaard, L., Jensen, B.R., Sjøholm, C. (1990) Cloning of aldB, which encodes alpha-acetolactate decarboxylase, an exoenzyme from *Bacillus brevis*, J. Bacteriol., 172, 4315-4321), byly připraveny a transformovány elektroporací pomocí Gene Pulser™ elektroporatoru od BIO-RAD postupem, který byl popsán výrobcem.

B. subtilis PL2306. Tento kmen je *B. subtilis* DN1885 s přerušnými apr a npr geny (Diderichsen, B., Wedsted, U., Hedegaard, L., Jensen, B.R., Sjøholm, C. (1990) Cloning of aldB, which encodes alpha-acetolactate decarboxylase, an exoenzyme from *Bacillus brevis*, J. Bacteriol., 172, 4315-4321) přerušnými v transkripční jednotce známého *Bacillus subtilis* celulasového genu, což vede k celulasově negativním buňkám. Přerušení se provádí tak, jak je popsáno v knize *Bacillus*

subtilis and other Gram-Positive Bacteria, A.L. Sonenshein, J.A. Hoch a Richard Losick (editoři), American Society for microbiology, str. 618 (1993).

Kompetentní buňky byly připraveny a transformovány postupem popsáným v práci R.E. Yasbin, G.A. Wilson a F.E. Young (1975) Transformation and transfection in Lysogenic strains of *Bacillus subtilis*: evidence for selective induction of prophage in competent cells, J. Bacteriol., 121: 296-304.

Plasmidy

pSL1678 (popsaný podrobněji ve WO 94/19454, který je zde uveden jako reference).

pMOL944. Tento plasmid je pUB110 derivát obsahující prvky, které umožňují propagaci plasmidu v *Bacillus subtilis*, kanamycinu odolný gen a má silný promoterový a signální peptid klonovaný z amyL genu *B. licheniformis* ATCC14580. Signální peptid obsahující SacII místo umožňuje běžné klonování DNA kódující maturovanou část proteinu infuzí se signálním peptidem. To vede k expresi pre-proteinu, který je směřován na vnější buňky.

Plasmid byl konstruován pomocí běžných technik genového inženýrství, které jsou dále krátce popsány.

Konstrukce pMOL944

Plasmid pUB110 (T. McKenzie a kol., 1986, Plasmid 15:93-103) byl štěpen jedinečným restriktivním enzymem NciII. PCR fragment amplifikovaný z amyL promoteru kódovaného na plasmidu pDN1981 (P.L. Jørgensen a kol., 1990, Gene, 96, str. 37 až 41) byl štěpen NciI a vložen do NciI štěpeného pUB110, čímž byl získán plasmid pSJ2624.

Použité dva PCR primery mají následující sekvence:

LWN5494 5'-GTCGCCGGGGCGGCCGCTATCAATTGGTAACTGTATCTCAGC-3'

LWN5495 5'-GTCGCCCGGGAGCTCTGATCAGGTACCAAGCTTGTCGACCTGCAGAATG
AGGCAGCAAGAAGAT-3'

Primer LWN5494 vkládá do plasmidu NotI centrum.

Plasmid pSJ2624 byl pak štěpen *SacI* a *NotI* a nový PCR fragment amplifikovaný na *amyL* promoteru kódovaném na pDN1981 byl štěpen *SacI* a *NotI* a tento fragment DNA byl vložen do *SacI*-*NotI* štěpeném pSJ2624, čímž byl získán plasmid pSJ2670.

Toto klonování nahradí prdvní *amyL* promoter klonováním se stejným promoterem, ale v opačném směru. Dva primery použité pro PCR amplifikaci mají následující sekvence:

LWN5938 5'-GTCGGCGGCCGCTGATCACGTACCAAGCTTGTCGACCTGCAGAATGAGG
CAGCAAGAAGAT-3'

LWN5939 5'-GTCGGAGTCCTATCAATTGGTAACTGTATCTCAGC-3'

Plasmid pSJ2670 byl štěpen restričními enzymy *PstI* a *BcII* a PCR fragment amplifikovaný z klonované DNA sekvence kódující alkalickou amylasu SP722 (popsanou v Mezinárodní patentové přihlášce vydané jako WO95/26397, která je zde zahrnuta jako reference) byl štěpen *PstI* a *BcII* a vkládán, čímž byl získán plasmid pMOL944. dva primery použité pro amplifikaci mají následující sekvenci.

LWN7864 5'-AACAGCTGATCACGACTGATCTTTTAGCTTGGCAC-3'

LWN7901 5'-AACTGCAGCCGCGGCACATCATAATGGGACAAATGGG-3'

Primer LWN7901 vkládá do plasmidu *SacII* centrum.

Klonování genu *mananasy* z *Bacillus agaradherens*

Příprava genové DNA

Kmen *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482 byl propagován v tekutém médiu postupem popsaným ve WO94/01532. Po 16 hodinách inkubace při 30 °C a 300 ot./min, byly buňky odebrány a genová DNA izolována postupem popsaným v práci Pitcher, D.G., Saunders, N.A., Owen, R.J. (1989), Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidinium thiocyanate. Lett. Appl. Microbiol., 8, 151-156.

Příprava genové knihovny

Genová DNA byla částečně rozštěpena restričním enzymem *Sau3A* a dělena podle velikosti elektroforézou na 0,7% agarosovém gelu. Fragmenty o velikosti 2 kb až 7 kb byly izolovány elektroforézou na DEAE celulosovém papíru

(Dretzen, G., Bellard, M., Sassone-Corsi, P., Chambon, P. (1981), A reliable method for the recovery of DNA fragments from agarose and acrylamide gels. Anal. Biochem., 112, 295-298).

Izolované fragmenty DNA byly ligovány do BamHI štěpené pSJ1678 plasmidové DNA a ligační směs byla použita pro transformaci *E. coli* SJ2.

Identifikace pozitivních klonů

DNA knihovna v *E. coli* zkonstruovaná popsáním způsobem byla testována na LB agarových deskách obsahujících 0,2% AZCL-galaktomanan (Megazyme) a 9 µl/ml chloramfenikolu tak, že se inkubovala přes noc při 37 °C. Klony vykazující mananasovou aktivitu se projevíly světle modrým dufusním okolím. Plasmidová DNA z jednoho z těchto klonů byla izolována Qiagenovým plasmidovým spinovým přípravkem na 1 ml živného média přes noc (buňky inkubovány při teplotě 37 °C v TY s 9 µl/ml chloramfenikolu a třepání při 250 ot./min.

Tento klon (MB525) byl dále charakterizován DNA sekvenováním klonovaného Sau3A DNA fragmentu, kdy bylo toto DNA sekvenování provedeno směrem od primeru pomocí sekvenační soupravy v Taq deoxy koncovém cyklu (Perkin-Elmer, USA), fluorescenčně značenými konci a vhodnými oligonukleotidy jako primery.

Analýza výsledků sekvenování byla provedena podle Devereux a kol. (1984) Nucleic Acids Res., 12, 387-395. Sekvence kódující mananasu je uvedena jako sekvence identifikační č. 1. Odvozená proteinová sekvence je uvedena jako sekvence identifikační číslo 2.

Subklonování a exprese mananasy v *B. subtilis*

Mananasu kódující DNA sekvence podle předkládaného vynálezu byla PCR amplifikována za použití sady PCR primerů sestávající ze dvou oligonukleotidů:

Mananasa-horní-SacII

5'-CAT TCT GCA GCC GCG GCA GCA AGT ACA GGC TTT TAT GTT GAT
GG-3'

Mananasa-dolní-NotI

5'-GAC GAC GTA CAA GCG GCC GCG CTA TTT CCC TAA CAT GAT GAT
ATT TTC G-3'

Restrikční centra ScaII a NotI jsou podtržena.

Chromosomální DNA izolovaná z *B. agaradherens* NCIMB 40482 postupem, který již byl popsán, byla použita jako templát v PCR reakci provedené s Amplitaq DNA Polymerasou (Perkin Elmer) podle návodu výrobce. PCR reakce byla provedena v PCR pufu (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,01% (hmotnost látky na objem rozpouštědla) gelatin) obsahujícím 200 µM dNTP, 2,5 jednotky AmpliTaq polymerasy (Perkin-elmer, Cetus, USA) a 100 pmol každého primeru.

PCR reakce byla provedena pomocí tepelného DNA cykleru (Landgraf, Německo). jedna inkubace při teplotě 94 °C po dobu 1 minuty byla následována třiceti cykly PCR sestávajícími z denaturace při 94 °C po dobu 30 sekund, chlazení na teplotu 60 °C po dobu 1 minuty a prodlužování při teplotě 72 °C po dobu 2 minut. Alikvotní podíly amplifikačního produktu o objemu pět µl byly analyzovány elektroforézou na 0,7% agarosovém gelu (NuSieve, FMC). Velikost DNA fragmentů 1,4 kb prokázala správnou amplifikaci genového segmentu.

Subklonování PCR fragmentu

Alikvotní podíly PCR produktů vyrobených postupem, který již byl popsán, o objemu čtyřicetpět µl byly čištěny pomocí čisticí sady QIAquick PCR (Qiagen, USA) podle návodu výrobce. Čištěná DNA byla vymývána v 50 µl 10 mM Tris-HCl, pH 8,5.

pMOL944 (5 µg) a dvacetpět µl čištěného PCR fragmentu bylo štěpeno SacII a NotI, podrobeno elektroforéze v 0,8% agarosovém gelu gelujícím při nízké teplotě (SeaPlaque GTG, FMC) a odpovídající fragmenty byly z gelu vystřiženy a čištěny

pomocí extrakční sady QIAquick Gel (Qaigen, USA) podle návodu výrobce. Izolované PCR DNA fragmenty pak byly ligovány do pMOL944 štěpeného SacII-NotI a čištěného. Ligace byla prováděna přes noc při teplotě 16 °C pomocí 0,5 µg DNA fragmentu, jedné jednotky T4 DNA ligasy a T4 ligasového pufru (Boehringer Mannheim, Německo).

Pro transformaci kompetentní *B. subtilis* PL23006 byla použita ligační směs. Transformované buňky byly naneseny na desky obsahující LBPG-10 µg/ml Kanamycinu. Po 18 hodinách inkubace při teplotě 37 °C byly na deskách pozorovány kolonie. Některé klony byly analyzovány izolací DNA plasmidu z živného média kultury pěstované přes noc.

Jeden takový pozitivní klon byl několikrát opakovaně nanesen na výše použitou agarovou desku, tento klon byl pojmenován MB594. Klon MB594 byl pěstován přes noc v TY-10 µg/ml kanamycinu při teplotě 37 °C a další den byl 1 ml buněk použit pro izolaci plasmidu z buněk pomocí Qiaprep Spin Plasmid Miniprep Kit č. 27106 na základě doporučení výrobce pro přípravu plasmidů *B. subtilis*. Tato DNA pak byla sekvenována a byla zjištěna DNA sekvence odpovídající maturované části mananasy, tj. pozic 94 až 1404 připojené sekvence identifikační č. 3. Odvozený maturovaný protein je uveden jako sekvence identifikační č. 4. Je zřejmé, že 3' konec mananasy kódované sekvencí identifikační č. 1 byl změněn na konec uvedený v sekvenci identifikační č. 3 kvůli návrhu nižšího primeru použitého v PCR. Výsledná aminokyselinová sekvence je uvedena v sekvenci identifikační č. 4 a je zřejmé, že C konec sekvence identifikační č. 2 (SHHVREIGVQFSAADNSSGQTALYVDNVTLR) byl změněn na C konec sekvence identifikační č. 4 (IIMLGK).

Média

TY (popsáno v knize Ausubel, F.M. a kol. (editoři) "Current Protocols in molecular Biology", John Wiley and Sons, 1995).

LB agar (popsáno v knize Ausubel, F.M. a kol. (editoři) "Current Protocols in molecular Biology", John Wiley and Sons, 1995).

LBPG je LB agar (viz výše) doplněný 0,5% glukosou a 0,05 M fosforečnanem draselným o pH 7,0.

Médium BPX je popsáno v EP 0 506 780 (WO 91/091129)

Exprese, čištění a charakterizace mananasy z *Bacillus agaradherens*

Klon MB 594 získaný postupem popsaným v oddíle Materiál a postupy byl pěstován ve 25 x 200 ml média BPX s 10 µg/ml kanamycinu v třepacích lahvích o objemu 500 ml po dobu 5 dnů při teplotě 37 °C při 300 ot./min.

Pak bylo spojeno 6 500 ml tekutiny po pěstování klonu MB 594 (váarka č. 9813) z třepacích lahví a pH bylo upraveno na 5,5. Pak bylo za míchání přidáno 146 ml kationtového činidla (C521) a 292 ml aniontového činidla (A130), čímž došlo k vysrážení. Vysrážený materiál byl oddělen odstředěním za použití odstředivky Sorval RC 3B při 9 000 ot./min při teplotě 6 °C po dobu 20 minut. Získaný roztok byl dočištěn pomocí skleněného filtru Whatman GF/D a C a nakonec zahuštěn na filtronu oddělujícím 10 kDa.

pH tohoto koncentrátu bylo upraveno pomocí hydroxidu sodného na hodnotu 7,5. Čirý roztok byl nanesen na aniontově výměnnou chromatografickou kolonu obsahující 900 ml Q-Sepharosy ekvilibrovanou 50 mmol Tris o pH 7,5. Mananasově aktivní pás byl vymyt gradientem chloridu sodného.

Čistý enzym poskytl jediný pás na SDS-PAGE o molekulové hmotnosti 38 kDa. Aminokyselinová sekvence mananasového enzymu tj. přepsaná DNA sekvence, je uvedena jako sekvence identifikační č. 2.

Stanovení kinetických konstant

Substrát: guma ze svatojánského chleba a analýza na redukuující cukry (PHBAH); guma ze svatojánského chleba Sigma (G-0753).

Kinetické stanovení pomocí různých koncentrací gumy ze svatojánského chleba a inkubace po dobu 20 minut při teplotě 40 °C při pH 10 poskytlo:

K_{cat} : 467 za sekundu

K_m : 0,08 gramu na l

Molekulová hmotnost: 38 kDa

pI (izoelektrický bod): 4,2

Zjištěné teplotní optimum mananasy bylo 60 °C.

Profil aktivity v závislosti na pH prokázal maximum mezi pH 8 až 10.

DSC diferenční skanovací kalorimetrie poskytla jako telotu tání 77 °C při pH 7,5 v pufru tris, což ukazuje, že enzym je velmi tepelně stálý.

Slučitelnost s detergenty za použití 0,2% AZCL-Galaktomananu jako substrátu a inkubace postupem při teplotě 40 °C, který již byl popsán, prokázala vynikající slučitelnost s běžnými tekutými detergenty a dobrou slučitelnost s běžnými práškovými detergenty.

Získání mananasy 168 z *Bacillus subtilis*

β -mananasa z *Bacillus subtilis* byla charakterizována a čištěna následujícím postupem.

Gen *Bacillus subtilis* byl prozkoumán z hlediska homologie se známou genovou sekvencí β -mananasy *Bacillus sp.* (Mendoza a kol., Biochemica et Biophysica Acta, 1243: 552-554, 1995). Oblast kódující *ydhT*, jejíž produkt nebyl známý, vykazovala 58% podobnost se známou β -mananasou *Bacillus*. Pro amplifikaci sekvencí kódujících maturovanou část domnělé β -mananasy byly navrženy následující oligonukleotidy: 5'-GCT CAA TTG GCG CAT ACT GTG TCG CCT GTG-3' a 5'-GAC GGA TCC CGG ATT CAC TCA ACG ATT GGC G-3'. Celková genová DNA z *Bacillus subtilis* kmen 1A95

byla použita jako templát pro amplifikaci *ydhT* maturované oblasti za použití výše uvedených primerů. PCR se provádí pomocí GENE-AMP PCR sady s AMPLITAQ DNA polymerasou (Perkin Elmer, Applied Biosystems, Foster City, CA). Po výchozí době tání při teplotě 95 °C trvající 5 minut následovalo 25 cyklů s následujícím programem: tání při 95 °C po dobu 1 minuty, chlazení při teplotě 55 °C po dobu 2 minut a prodlužování při teplotě 72 °C po dobu 2 minut. Po posledním cyklu byla reakce udržována při teplotě 72 °C po dobu 10 minut, aby se zajistilo kompletní prodloužení. PCR produkty byly čištěny za použití PCR čisticí sady QIAquick (Qaigen, Chatsworth, CA).

ydhT maturovaná oblast amplifikovaná z *Bacillus subtilis* kmen 1A95 byla vložena do expresního vektoru pPG1524 (který již byl popsán) následujícím způsobem. Amplifikovaný fragment o velikosti 1028 bp byl štěpen Mfe I a BamH I. Expresní vektor pPG 1527 byl štěpen EcoR I a BamH I. Restrikční produkty byly čištěny za použití PCR čisticí sady QIAquick (Qaigen, Chatsworth, CA). Dva fragmenty byly ligovány za použití DNA ligasy (13 hodin, 16 °C) a použity pro transformaci kompetentní *E. coli* kmen DH5- α . Ampicilinu odolné kolonie byly pěstovány pro preparaci DNA. DNA byla pak charakterizována restrikční analýzou. Plasmid pPG3200 obsahující maturovanou oblast genu *ydhT*. Plasmid pPG3200 pak byl použit pro transformaci kompetentního *Bacillus subtilis* kmen PG 632 (Saunders a kol., 1992).

Sedm klonů *Bacillus subtilis* odolných proti kanamycinu a jeden kontrolní klon PG 632 byly pěstovány ve 20 ml média 20/20/5 (20 g/l tryptonu, 20 g/l extraktu z kvasnic, 5 g/l NaCl) doplněném 1 ml 25% maltrinu, 120 μ l 10 mM MnCl₂ a 20 μ l 50 mg/ml kanamycinu. Klony byly pěstovány přes noc v třepacích lahvích o objemu 250 ml při teplotě 37 °C při 250 ot./min, aby se exprimoval protein. Buňky byly odstřeďovány po dobu 15 minut při 14 000 ot./min. Jeden μ l roztoku po odstředění

byl zředěn 99 μ l 50 mM octanu sodného (pH 6,0). Jeden μ l tohoto naředěného roztoku pak byl testován pomocí endo-1,4- β -Mananase Beta-Mannazyme Tabs (Megazyme, Irsko) podle návodu výrobce. Absorbance byla odečítána při 590 nm na spektrofotometru Beckman DU640. Klon 7 vykazoval nejvyšší absorbanci při 1,67. Kontrola PG632 při 590 nm nevykázala žádnou absorbanci.

Roztok po odstředění byl analyzován SDS-PAGE na 10% až 20% Tris-glycinovém gelu (Novex, San Diego, CA), aby se potvrdila očekávaná velikost proteinu 38 kDa. Vzorky byly připraveny následujícím způsobem. Vzorek *ydhT* klonu 7 o objemu 500 μ l a roztoky po odstředění PG 632 byly vysráženy 55,5 μ l 100% kyseliny trichloroctové (Sigma), promyty 100 μ l 5% kyseliny trichloroctové, resuspendovány v 50 μ l Tris-glycinovém SDS vzorkovém pufru (Novex) a vařeny po dobu 5 minut. Jeden μ l každého vzorku byl podroben elektroforéze na gelu při 30 mA po dobu 90 minut. Široký pás proteinu byl pro klon 7 *ydhT* pozorován při 38 kDa.

Fermentace *Bacillus subtilis ydhT* klonu 7 v objemu 10 l byla provedena ve fermentoru B-Braun Biostat C. Podmínky fermentace byly následující. Buňky byly pěstovány po dobu 18 hodin v médiu 20/20/5 při teplotě 37 °C. Na konci fermentace byly buňky odstraněny a roztok byl zahuštěn na objem 1 litru za použití tangenciálního průtokového filtračního systému. Konečný výtěžek β -mananasy v koncentrovaném roztoku byl stanoven na 3 g/l.

Čištění β -mananasy z fermentačního roztoku bylo provedeno následujícím způsobem: 500 ml fermentačního roztoku bylo odstřeďováno po dobu 10 minut při 10 000 ot./min při teplotě 4 °C. Odstředěný roztok byl pak dialyzován přes noc při teplotě 4 °C ve dvou dávkách o objemu 4 l v 10 mM fosfátu draselném (pH 7,2) přes membránu Spectrapor oddělující molekulové hmotnosti 12 000 až 14 000 (Spectrum). Dialyzovaný

roztok byl odstředován po dobu 10 minut při 10 000 ot./min při teplotě 4 °C. Aniontově výměnná kolona naplněná 300 ml Q-Sepharose s vysokým průtokem (Pharmacia) byla ekvilibrována 1 litrem 10 mM fosfonátu draselného (pH 7,2) při teplotě 20 °C a pak na tuto kolonu bylo nalito 300 ml roztoku po odstředění. Byly získány dvě frakce o objemu 210 ml (vzorek A) a 175 ml (vzorek B). Tyto dvě frakce byly testovány způsobem, který již byl popsán s tím rozdílem, že roztoky byly zředěny 199 μ l 50 mM octanu sodného (pH 6,0) a vykazovaly absorpenci 0,38 a 0,52. Dva μ l každého vzorku byly přidány do 8 μ l Tris-glycin SDS vzorkového pufru (Novex, CA) a vařeny po dobu 5 minut. Výsledné vzorky byly podrobeny elektroforéze na 10% až 20% Tris-Glycinovém gelu (Novex, CA) po dobu 90 minut při 30 mA. Hlavní pás odpovídající 38 kDa byl přítomen v obou vzorcích a zahrnovala více než 95 % celkového množství proteinu. BCA proteinový test (Pierce) byl proveden na obou vzorcích podle návodu výrobce, za použití hovězího sérumalbuminu jako standardu, a vzorek A a vzorek B obsahovaly 1,3 mg/ml a 1,6 mg/ml β -mananasy. Identita proteinu byla potvrzena hmotnostní spektrometrií s rozprašováním iontů a aminokyselinovou sekvenční analýzou provedenou směrem od aminokonce.

Stanovení enzymatické aktivity čištěných vzorků β -mananasy bylo provedeno následujícím způsobem. Všechny testy využívají endo-1,4- β -Mananase Beta-Mannazyme Tabs (Megazyme, Irsko), který již byl popsán. Aktivita v rozsahu pH 3,0 až 9,0 byla stanovena v 50 mM citrátfosfátovém pufru, pro stanovení aktivity při pH 9,5 byl použit 50 mM CAPSO (Sigma) a pro rozsah pH 10,0 až 11,0 byl použit 20 mM CAPS pufr. pH optimum pro β -mananasu *Bacillus subtilis* bylo stanoveno na 6,0 až 6,5. Profil teplotní aktivity byl stanoven v 50 mM citrátfosfátovém pufru (pH 6,5). Enzym vykazoval optimální aktivitu při teplotě 40 °C až 45 °C. β -mananasa *Bacillus subtilis* si uchovávala

významnou aktivitu při teplotě nižší než 15 °C a teplotě vyšší než 80 °C. Specifická aktivita proti β -1,4-galaktomananu byla stanovena na 160 000 $\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{mg}$ β -mananasy při použití endo-1,4- β -Mananase Beta-Mannazyme Tabs (Megazyme, Irsko) podle návodu výrobce. Nukleotidové a aminokyselinové sekvence β -mananasy *Bacillus subtilis* jsou uvedeny jako sekvence identifikační č. 5 a 6.

Enzym odbourávající sacharidovou gumu je obsažen v pracích detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu obecně v množství 0,0001 % hmotnostních až 2 % hmotnostní, výhodněji 0,0001 % hmotnostních až 0,1 % hmotnostních, nejvýhodněji 0,0006 % hmotnostních až 0,02 % hmotnostních čistého enzymu na hmotnost prostředku.

Enzym odbourávající sacharidovou gumu podle předkládaného vynálezu má, kromě enzymatického jádra obsahujícího katalytickou doménu, také doménu vážící celulosu (CBD), přičemž doména vážící celulosu a enzymatické jádro (katalyticky aktivní doména) enzymu jsou funkčně spojeny. Celulosu vážící doména (CBD) existuje jako integrální část kódovaného enzymu nebo je do enzymu vložena CBD z jiného zdroje, čímž vznikne enzymový hybrid. V tomto kontextu je třeba pojem "celulosu vážící doména" chápat tak, jak je definován v Peter Tomme a kol., "Cellulose-Binding Domains Classification and Properties" v knize Enzymatic Degradation of Insoluble Carbohydrates", John N. Saddler a Michael H. Penner (editoři), ACS Symposium Series č. 618, 1996. Tato definice klasifikuje více než 120 celulosu vážících domén do 10 oddělení (I až X) a ukazuje, že CBD se nalézají v různých enzymech, jako jsou celulasy, xylanasy, mananasy, arabinofuranosidasy, acetylerasy a chitinasy. CBD byly také nalezeny v řasách, např. v červené řase *Porphyra purpurea*, ve formě nehydrolytického polysacharid vážícího proteinu, viz Peter Tomme a kol., "Cellulose-Binding Domains Classification

and Properties" v knize Enzymatic Degradation of Insoluble Carbohydrates", John N. Saddler a Michael H. Penner (editoři), ACS Symposium Series č. 618, 1996. Nicméně většina CBD je z celulas a xylanas. CBD se nalézají na N a C koncích proteinů nebo jsou interní. Enzymatické hybridy jsou v dané problematice známy, viz např. WO 90/00609 a WO 95/16782 a připravují se převedením DNA konstruktů obsahujícího přinejmenším fragment DNA kódující celulosu vážící doménu ligovanou, s nebo bez spojky, do DNA sekvence kódující enzym odbourávající sacharidovou gumu do hostitelské buňky a pěstování hostitelské buňky tak, že exprimuje spojený gen. Enzymatické hybridy lze popsat jako CBD-MR-X, kde CBD je N-koncová nebo C-koncová oblast aminokyselinové sekvence odpovídající přinejmenším celulosu vážící doméně; MR je prostřední část (spojka) a případně jen vazba nebo krátká spojující skupina sestávající s výhodou ze 2 až 100 atomů uhlíku, ještě výhodněji ze 2 až 40 atomů uhlíku; nebo s výhodou ze 2 až 100 aminokyselin, ještě výhodněji ze 2 až 40 aminokyselin a X je N-koncová nebo C-koncová oblast enzymu podle předkládaného vynálezu.

Uvedené enzymy jsou jakéhokoliv vhodného původu, jako je rostlinný, živočišný, bakteriální, z hub a z kvasnic. Původ je dále mezofilní nebo extremofilní (psychofilní, psychotropní, termofilní, barofilní, alkalofilní, acidofilní, halofilní, atd.). Lze použít čištěné nebo nečištěné formy těchto enzymů. V dnešní době je běžnou praxí upravovat původní přírodní typy enzymů technikami proteinového nebo genového inženýrství, aby se optimalizovala jejich účinnost v čisticích prostředcích podle předkládaného vynálezu. Například lze navrhnout takové varianty, kdy je zvýšena slučitelnost enzymu vůči běžným složkám takových prostředků. Alternativně lze navrhnout variantu, kdy je optimální pH, stabilita při bělení a působení chelátů, katalytická aktivita a podobně u enzymu upraveno přesně podle potřeb konkrétního čisticího použití.

Konkrétně je třeba dávat pozor na aminokyseliny citlivé na oxidaci v případě stability při bělení a na povrchové napětí při slučitelnosti s detergenty. Isoelektrický bod takových enzymů lze upravit nahrazením některých nabitých aminokyselin, např. zvýšení isoelektrického bodu pomůže zlepšit slučitelnost s aniontovými tenzidy. Stabilitu enzymů lze dále zvýšit vytvořením např. přídatných solných můstků a zesílením center vázících kov, aby se zvýšila stabilita při působení chelátů.

Složky detergentu

Prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu také případně obsahují další složky detergentu. Přesná povaha těchto dalších složek a množství, ve kterém jsou použity, závisí na fyzické formě prostředku a povaze čisticí operace, pro kterou se používají.

Prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu s výhodou dále obsahují detergentní složky vybrané z některých tenzidů, dalších enzymů, plnidla a/nebo bělicího systému.

Prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu jsou tekuté, ve formě pasty, gelů, tyčinek, tablet, sprejů, pěn, prášku nebo ve formě granulí. Granulované prostředky jsou někdy také v "kompaktní" formě, tekuté prostředky jsou někdy také v "koncentrované" formě.

Preferovaný typ gelového detergentu je vysoce účinný prací gelový prostředek obsahující 15 % hmotnostních až 40 % hmotnostních aniontové tenzidové složky, která sestává z: (i) 5 % hmotnostních až 25 % hmotnostních alkylpolyethoxylovaných sulfátů, ve kterých alkyl sestává z 10 až 22 atomů uhlíku a polyethoxylovaný řetězec obsahuje 0,5 až 15, s výhodou 0,5 až 5 a ještě výhodněji 0,5 až 4 ethylenoxidové jednotky; a (ii) 5 % hmotnostních až 20 % hmotnostních mastných kyselin.

Gelové prostředky podle předkládaného vynálezu dále obsahují jednu nebo více dalších deterzivních složek vybraných ze skupiny sestávající z necitrátových plnidel, optických zjasňovadel, polymerů uvolňujících nečistoty, inhibitorů

přenosu barviv, polymerních disperzních činidel, enzymů, činidel potlačujících pěnivost, vonných látek, barviv, plnidel ve formě solí, hydrotropů, činidel bránících opětovnému usazování nečistit, činidel bránících zapírání, činidel fixujících barvy, činidel bránících třepení a jejich směsí.

Gelové prostředky podle předkládaného vynálezu mají při rychlosti otášení 20 s^{-1} viskozitu 100 cP až 4 000 cP, s výhodou 300 cP až 3 000 cP, ještě výhodněji 500 cP až 2 000 cP a jsou během skladování stálé.

Bez vazby na nějakou konkrétní teorii se předpokládá, že přítomnost elektrolytů působí na viskozitu gelových prostředků. Gelovitá povaha prostředků podle předkládaného vynálezu je ovlivněna volbou tenzidů a množstvím přítomných elektrolytů. V preferovaných provedeních podle předkládaného vynálezu budou prostředky dále obsahovat 0 % hmotnostních až 10 % hmotnostních, s výhodou 2 % hmotnostních až 6 % hmotnostních, výhodněji 3 % hmotnostních až 5 % hmotnostních vhodného elektrolytu nebo jeho kyselinového ekvivalentu. Pro použití podle předkládaného vynálezu je citrát sodný vysoce preferovaný elektrolyt.

Prostředky podle předkládaného vynálezu nepovinně obsahují 0 % hmotnostních až 10 % hmotnostních rozpouštědel a hydrotropů. Bez vazby na nějakou konkrétní teorii se předpokládá, že přítomnost přítomnost rozpouštědel a hydrotropů může ovlivnit rovnováhu strukturovaného uspořádání prostředků oproti isotropnímu uspořádání. "Rozpouštědlo" označuje rozpouštědla obecně používaná v průmyslu detergentů, včetně alkylmonoalkoholů, di- a trialkoholů, ethylenglykolu, propylenglykolu, propandiolu, ethandiolu, glycerinu atd. "Hydrotrop" označuje hydrotropy obecně používané v průmyslu detergentů, včetně tenzidů s krátkým řetězcem, které pomáhají solubilizovat další tenzidy. Další příklady hydrotropů zahrnují kumen, xylen nebo toluensulfonát, močovinu, alkyl (C_8

nebo s kratším řetězcem) karboxyláty, alkyl (C_8 nebo s kratším řetězcem) sulfáty a ethoxylované sulfáty.

Mastné kyseliny, které se používají v předkládaném vynálezu, zahrnují nasycené a/nebo nenasycené mastné kyseliny získané s přírodních zdrojů nebo připravené synteticky. Příklady mastných kyselin zahrnují kapronovou, laurovou, myristovou, palmitovou, stearovou, arachidonovou a behenovou kyselinu. Další mastné kyseliny zahrnují palmitoolejovou, olejovou, linoleovou, linolenovou a ricinolejovou kyselinu.

Prostředky podle předkládaného vynálezu lze připravit do formy prostředků vhodných pro ruční praní nebo pro praní v pračce včetně přídatných prostředků pro praní a prostředků vhodných pro použití při namáčení a/nebo předpírání silně znečištěných tkanin, změkčujících prostředků přidávaných do máchání.

Pokud jsou prostředky podle předkládaného vynálezu připraveny jako prostředky vhodné pro použití při praní v automatické pračce, pak tyto prostředky podle předkládaného vynálezu s výhodou obsahují tenzid a plnidlo a další jednu nebo více detergentních složek, s výhodou vybraných z organických polymerních sloučenin, bělicích činidel, dalších enzymů, činidel potlačujících pěnovost, dispezních činidel, disperzních činidel na bázi mýdla, činidel suspendujících nečistoty a činidel bránících opětovnému usazování nečistot a inhibitorů koroze. Prací prostředky také případně obsahují změkčující činidla, jako jsou další detergentní složky. Takové prostředky obsahující enzymy hydrolyzující sacharidové gummy, provádějí čištění tkanin, odstraňování skvrn, mají bělicí účinek, změkčují, zlepšují barevnost a brání přenosu barev.

Prostředky podle předkládaného vynálezu lze také použít jako přídatné detergentní produkty. Takové přídatné produkty jsou určeny pro doplnění nebo zesílení účinku běžných detergentních prostředků.

Pokud je to potřeba, hustota pracích prostředků podle předkládaného vynálezu při 20 °C je 400 g/l až 1200 g/l, s výhodou 500 g/l až 950 g/l.

"Kompaktní forma" prostředků podle předkládaného vynálezu je nejlépe charakterizována svou hustotou a, z hlediska prostředku, množstvím solí anorganického plnidla, což jsou běžné složky detergentních prostředků v práškové formě; v běžných detergentních prostředcích jsou soli plnidla přítomny v podstatném množství, typicky 17 % hmotnostních až 35 % hmotnostních celkového prostředku. V kompaktních prostředcích jsou soli plnidla přítomny v množství, které nepřesahuje 15 % hmotnostních celkového prostředku, s výhodou nepřesahuje 10 % hmotnostních, a nejvýhodněji nepřesahuje 5 % hmotnostních prostředku. Anorganické plnidlové soli, tak jak se používají v prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou vybrány ze solí síranů a chloridů s alkalickými kovy a kovy alkalických zemin. Preferovaná plnidlová sůl je síran sodný.

Tekuté detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu jsou připdaně také v "koncentrované" formě, což znamená, že tekuté detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu obsahují nižší množství vody ve srovnání s běžnými tekutými detergenty. Typicky je obsah vody v koncentrovaném tekutém detergentu s výhodou nižší než 40 % hmotnostních, výhodněji 30 % hmotnostních a nejvýhodněji nižší než 20 % hmotnostních detergentního prostředku.

Tenzidový systém

Prací detergentní prostředek podle předkládaného vynálezu obecně obsahuje tenzidový systém, ve kterém je tenzid vybrán ze skupiny sestávající z neionogenních a/nebo aniontových a/nebo kationtových a/nebo amfolytických a/nebo zwitteriontových a/nebo semipolárních tenzidů. S výhodou prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu obsahují neionogenní, aniontové a/nebo kationtové tenzidy.

Překvapivě bylo zjištěno, že prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu dále obsahující neionogenní, aniontový a/nebo kationtový tenzid mají zlepšené odstraňování skvrn a nečistot od jídla lépe čistí zašlé tkaniny a mají lepší bělicí účinek.

Bez vazby na nějakou konkrétní teorii, se předpokládá, že enzymatická hydrolýza vede k malým částicím, které se snáze odstraňují neionogenními tenzidy bez ohledu na konkrétní nečistotu. Preferované neionogenní tenzidy jsou alkylethoxyláty AE3 až AE7. Také se předpokládá, že kombinace kationtových tenzidů s enzymatickou hydrolýzou sacharidových gum degradovatelných enzymy, poskytuje zlepšený celkový účinek.

Tenzid je typicky přítomen v množství 0,1 % hmotnostních až 60 % hmotnostních. Preferovanější množství jsou 1 % hmotnostní až 35 % hmotnostních a nejvýhodněji 1 % hmotnostní až 30 % hmotnostních pracího detergentního prostředku podle předkládaného vynálezu.

Tenzid je s výhodou použit tak, aby byl slučitelný s enzymatickými složkami přítomnými v prostředku. V tekutých nebo gelovitých prostředcích je tenzid použit tak, že zvyšuje nebo přinejmenším nenarušuje stabilitu enzymu v těchto prostředcích.

Neionogenní tenzidy

Polyethylen, polypropylen a polybutylenoxidové kondenzáty s alkylfenoly jsou vhodné pro použití jako neionogenní tenzid v tenzidových systémech podle předkládaného vynálezu, s tím že polypropylenoxidové kondenzáty jsou preferovány. Tyto sloučeniny zahrnují kondenzační produkty alkylfenolů, které mají alkylové skupiny sestávající z 6 až 14 atomů uhlíku, s výhodou z 8 až 14 atomů uhlíku, a to buď s přímým řetězcem, nebo s rozvětveným řetězcem s alkylenoxidem. V preferovaném provedení je ethylenoxid přítomen v množství 2 moly až 25 molů, výhodněji 3 moly až 15 molů, ethylen oxidu na mol

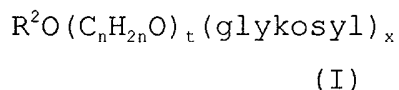
alkylfenolu. Komerčně dostupné neionogenní tenzidy tohoto typu zahrnují Igepal[™] CO-630 prodáváný firmou GAF Corporation a Triton[™] X-45, X-114, X-100 a X-102, které jsou všechny prodávány firmou Rohm & Haas Company. Tyto tenzidy se obecně označují jako alkylfenolalkoxyláty (např. alkylfenolethoxyláty).

Kondenzační produkty primárních a sekundárních alifatických alkoholů s 1 molem až 25 moly ethylenoxidu jsou vhodné pro použití jako neionogenní tenzid v systému neionogenních tenzidů podle předkládaného vynálezu. Alkylový řetězec alifatického alkoholu je přímý nebo rozvětvený, primární nebo sekundární a obecně sestává z 8 až 22 atomů uhlíku. Preferované jsou kondenzační produkty alkoholů, které mají alkylovou skupinu sestávající z 8 až 20 atomů uhlíku, výhodněji z 10 až 18 atomů uhlíku, se 2 moly až 10 moly ethylenoxidu na mol alkoholu. v uvedených kondenzačních produktech jsou přítomny 2 moly až 7 molů ethylenoxidu a nejvýhodněji 2 moly až 5 molů ethylenoxidu na mol alkoholu. Příklady komerčně dostupných neionogenních tenzidů tohoto typu zahrnují Tergitol[™] 15-S-9 (kondenzační produkt C₁₁ až C₁₅ lineárního alkoholu s 9 moly ethylenoxidu), Tergitol[™] 24-L-6 NMW (kondenzační produkt C₁₂ až C₁₄ primárního alkoholu s 6 moly ethylenoxidu s úzkou distribucí molekulových hmotností), které jsou oba prodávány firmou Union Carbide Corporation; Neodol[™] 45-9 (kondenzační produkt C₁₄ až C₁₅ lineárního alkoholu s 9 moly ethylenoxidu), Neodol[™] 23-3 (kondenzační produkt C₁₂ až C₁₃ lineárního alkoholu se 3,0 molu ethylenoxidu), Neodol[™] 45-7 (kondenzační produkt C₁₄ až C₁₅ lineárního alkoholu se 7 moly ethylenoxidu), Neodol[™] 45-5 (kondenzační produkt C₁₄ až C₁₅ lineárního alkoholu s 5 moly ethylenoxidu) prodávané firmou Shell Chemical Company; Kyro[™] EOB (kondenzační produkt C₁₃ až C₁₅ alkoholu s 9 moly ethylenoxidu), prodáváný firmou The Procter & Gamble Company; a Genapol LA 030 nebo 050 (kondenzační produkt C₁₂ až C₁₄ alkoholu se 3 moly nebo s 5 moly

ethylenoxidu), prodáváný firmou Hoechst. Preferovaný rozsah HLB v těchto produktech je 8 až 11 a nejvýhodněji 8 až 10.

Jako neionogenní tenzid v tenzidovém systému podle předkládaného vynálezu jsou také použitelné alkylnopolysacharidy popsané v U.S. patentu 4,565,647, Llenado, vydaném 21. 1. 1986, které obsahují hydrofobní skupiny sestávající z 6 až 30 atomů uhlíku, s výhodou z 10 až 16 atomů uhlíku a polysacharidu, např. polyglykosidu, hydrofilní skupina obsahuje 1,3 až 10, s výhodou 1,3 až 3, nejvýhodněji 1,3 až 2,7 cukerné jednotky. Lze použít jakýkoliv redukující sacharid sestávající z 5 nebo 6 atomů uhlíku, např. glukosa, galaktosa a galaktosylovými skupinami lze nahradit glykosylové skupiny (nepovinně s hydrofobními skupinami připojenými v pozici 2-, 3-, 4- atd., čímž vznikají glukosidy nebo galaktosidy). Vazba mezi cukry je např. mezi pozicí jedna na jednom cukru a pozicí 2-, 3-, 4- a/nebo 6- na předcházejícím cukru.

Preferované alkylnopolyglykosidy jsou sloučeniny obecného vzorce I:



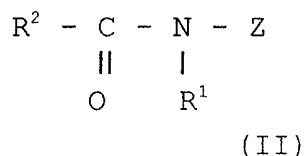
kde R^2 je vybráno ze skupiny sestávající z alkyly, alkylfenylu, hydroxyalkylu, hydroxyalkylfenylu a jejich směsí, ve kterých alkyly sestávají z 10 až 18 atomů uhlíku, s výhodou z 12 až 14 atomů uhlíku, n je 2 nebo 3, s výhodou 2, t je 0 až 10, s výhodou 0, a x je 1,3 až 10, s výhodou 1,3 až 3, nejvýhodněji 1,3 až 2,7. Glykosyl je s výhodou odvozen od glukosy. Při přípravě těchto sloučenin se nejprve vyrobí alkohol nebo alkylnopolyethoxyalkohol a ten se pak nechá reagovat s glukosou nebo zdrojem glukosy, čímž vznikne glukosid (připojení v pozici 1-). Další glykosylové jednotky lze pak připojit přes jejich pozici 1- k pozici 2-, 3-, 4- a/nebo 6- předcházející glykosylové jednotky, s výhodou zvláště k pozici 2-.

Pro použití jako přídatný neionogenní tenzidový systém podle předkládaného vynálezu jsou také vhodné kondenzační produkty ethylenoxidu s hydrofobní bází vznikající kondenzací propylenoxidu s propylenglykolem. Hydrofobní část těchto sloučenin má s výhodou molekulovou hmotnost 1500 až 1800 a není rozpustná ve vodě. Přidání polyoxyethylenových jednotek k této hydrofobní části vede ke zvýšení rozpustnosti molekuly jako celku ve vodě a tekutý charakter produktu se udrží až do bodu, kde je obsah polyethylenu 50 % hmotnostních celkové hmotnosti kondenzačního produktu, což odpovídá kondenzaci až se 40 moly ethylenoxidu. Příklady sloučenin tohoto typu zahrnují některé komerčně dostupné tenzidy, jako je Plurafac[™] LF404 a Pluronic[™], prodávané firmou BASF.

Také jsou pro použití jako neionogenní tenzidy v systému neionogenních tenzidů podle předkládaného vynálezu vhodné kondenzační produkty ethylenoxidu s produkty vznikajícími reakcí propylenoxidu a ethylendiaminu. Hydrofobní skupina těchto produktů sestává z reakčního produktu ethylendiaminu a přebytku propylen oxidu a obecně má molekulovou hmotnost 2500 až 3000. Tato hydrofobní skupina se kondenzuje s ethylenoxidem v takovém rozsahu, že výsledný produkt kondenzace obsahuje 40 % až 80 % hmotnostních polyoxyethylenu a má molekulovou hmotnost 5 000 až 11 000. Příklady neionogenního tenzidu tohoto typu zahrnují některé komerčně dostupné sloučeniny Tetronic[™] prodávané firmou BASF.

Pro použití jako neionogenní tenzid v tenzidovém systému podle předkládaného vynálezu jsou preferovány polyethylenoxidové kondenzáty alkylfenolů, kondenzační produkty primárních a sekundárních alifatických alkoholů s 1 molem až 25 moly ethylenoxidu, alkylpolysacharidy a jejich směsi. Nejpreferovanější jsou C₈ až C₁₄ alkylfenoethoxyláty, které obsahují 3 až 15 ethoxylových skupin a C₈ až C₁₈ alkoholethoxyláty (s výhodou v průměru C₁₀), které obsahují 2 až 10 ethoxylových skupin a jejich směsi.

Vysoce preferované neionogenní tenszidy jsou tenszidy na bázi amidu polyhydroxymastné kyseliny obecného vzorce II:

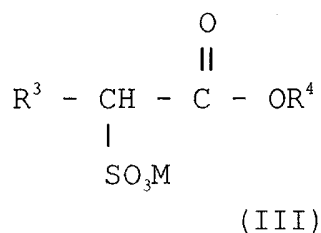


kde R^1 je H nebo R^1 je C_1 až C_4 uhlovodík, 2-hydroxyethyl, 2-hydroxypropyl nebo jejich směs, R^2 je C_5 až C_{31} uhlovodík a Z je polyhydroxyuhlovodík, který má lineární uhlovodíkový řetězec přinejmenším se 3 hydroxylovými skupinami přímo připojenými na řetězec nebo jeho alkoxylovaný derivát. S výhodou je R^1 methyl, R^2 je přímý C_{11} až C_{15} alkyl nebo C_{16} až C_{18} alkyl nebo alkenyl, jako je alkyl odvozený z kokosového oleje nebo jejich směsi, a Z je získáno z redukujícího cukru, jako je glukosa, fruktosa, maltosa, laktosa, reduktivní aminací.

Aniontové tenszidy

Preferované aniontové tenszidy určené pro použití podle předkládaného vynálezu jsou alkylestery sulfátů a lineárních alkylbenzenových tenszidů. Používané vhodné aniontové tenszidy jsou lineární alkylbenzensulfonátové a alkylestersulfonátové tenszidy včetně lineárních esterů C_8 až C_{20} karboxylových kyselin (tj. mastných kyselin), které jsou sulfonovány plynným SO_3 postupem podle "The Journal of the American Oil Chemists Society", 52 (1975), str. 323-329. Vhodné výchozí látky zahrnují přírodní mastné látky, které jsou odvozeny z loje, palmového oleje atd.

Preferovaný alkylestersulfonátový tenszid, zejména pro použití při praní, zahrnuje alkylestersulfonátové tenszidy obecného vzorce III:



kde R^3 je C_8 až C_{20} uhlovodík, s výhodou alkyl nebo jejich kombinace, R^4 je C_1 až C_6 uhlovodík, a výhodou alkyl nebo jejich kombinace a M je kation, který tvoří ve vodě rozpustnou sůl s alkylester sulfonátem. Vhodné kationty tvořící sůl zahrnují kovy, jako je sodík, draslík a lithium a substituované nebo nesubstituované amoniové kationty, jako je monoethanolamin, diethanolamin a triethanolamin. S výhodou je R^3 C_{10} až C_{16} alkyl a R^4 je methyl, ethyl nebo isopropyl. zejména preferované jsou methylestersulfonátů, ve kterých R^3 je C_{10} až C_{16} alkyl.

Další vhodné aniontové tenzidy zahrnují alkylsulfátové tenzidy, kterými jsou ve vodě rozpustné soli nebo kyseliny obecného vzorce IV:

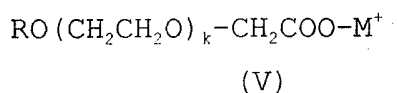


(IV)

kde R je s výhodou C_{10} až C_{24} uhlovodík, s výhodou alkyl nebo hydroxyalkyl, který zahrnuje C_{10} až C_{20} alkylovou složku, ještě výhodněji C_{12} až C_{18} alkyl nebo hydroxyalkyl a M je H nebo kation, např. kation alkalického kovu (např. sodík, draslík, lithium) nebo amonný nebo substituovaný amonný kation (např. methyl-, dimethyl- a trimethylamonný kation a kvarterní amonné kationty, jako je tetramethylamonný kation a dimethylpiperidiniový kation a kvarterní amoniové kationty odvozené z alkylaminů, jako je ethylamin, diethylamin, triethylamin a jejich směsi a podobně). Typicky jsou alkyly C_{12} až C_{16} preferovány pro nižší pracovní teploty (např. nižší než 50°C) a alkyly C_{16} až C_{18} jsou preferovány pro vyšší pracovní teploty (např. vyšší než 50°C).

Do detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu lze použít i další aniontové tenzidy použitelné pro čisticí účely. Ty zahrnují soli (včetně, například, sodných, draselných, amonných a substituovaných amonných solí, jako jsou mono-, di- a triethanolaminové soli) mýdla, C_8 až C_{22} primární nebo sekundární alkansulfonáty, C_8 až C_{24} olefinsulfonáty,

sulfonované polykarboxylové kyseliny připravené sulfonací pyrolyzovaného produktu z citrátů kovů alkalických zemin, např. postupem, který je popsán v britské patentové přihlášce č. 1,082,179, C_8 až C_{24} alkylpolyglykoethersulfáty (obsahující až 10 molů ethylenoxidu), alkylglycerolsulfonáty, acylglycerolsulfonáty mastných kyselin, glycerol sulfáty odvozené od mastných olejů, alkylfenoethylenoxidethersulfáty, parafinsulfonáty, alkylfosfáty, isethionáty, jako jsou aacylisethionáty, N-acyltauráty, alkylsukcinamáty a sulfosukcináty, monoestery sulfosukcinátů (zejména nasycené a nenasycené C_{12} až C_{18} monoestery) a diestery sulfosukcinátů (zejména nasycené a nenasycené C_6 až C_{12} diestery), acyl sarkosináty, sulfáty alkylpolysacharidů, jako jsou sulfáty alkylpolyglukosidů (neionogenní nesulfonované sloučeniny, které jsou popsány dále), rozvětvené primární alkylsulfáty a alkylpolyethoxykarboxyláty, jako jsou sloučeniny obecného vzorce V:

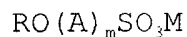


kde R je C_8 až C_{22} alkyl, k je celé číslo 1 až 10 a M je kation tvořící rozpustnou sůl. Také jsou vhodné kyseliny z pryskyřic a hydrogenované kyseliny z pryskyřic, jako je rosin, hydrogenovaný rosin a kyseliny z pryskyřic a hydrogenované kyseliny z pryskyřic přítomné nebo odvozené z tálového oleje.

Další příklady jsou posány v knize "Surface Active Agents and Detergents" (sv. I a II, Schwartz, Perry a Berch). Různé takové tenzidy jsou také obecně popsány v U.S. patentu 3,929,678, vydaném 30. 12. 1975, Laughlin a kol., sloupec 23, řádek 58 až sloupec 29 řádek 23, které jsou zde uvedeny jako reference).

Pokud jsou použity, pak prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu typicky obsahují 1 % hmotnostní až 40 % hmotnostních, s výhodou 3 % hmotnostní až 20 % hmotnostních takových aniontových tenzidů.

Vysoce preferované aniontové tenzidy, zahrnující alkylalkoxylované sulfátové tenzidy, podle předkládaného vynálezu jsou ve vodě rozpustné soli nebo kyseliny obecného vzorce VI:

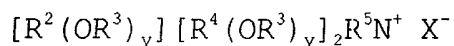


(VI)

kde R je nesubstituovaný C_{10} až C_{24} alkyl nebo hydroxyalkyl, obsahující C_{10} až C_{24} alkylovou složku, s výhodou C_{12} až C_{20} alkyl nebo hydroxyalkyl, ještě výhodněji C_{12} až C_{18} alkyl nebo hydroxyalkyl, A je ethoxyl nebo propoxyl, m je větší než nula, typicky 0,5 až 6, výhodněji 0,5 až 3 a M je H nebo kation, kterým je, například, kation kovu (např. sodný, draselný, litný, vápenatý, hořečnatý, atd.), amonný nebo substituovaný amonný kation. Pro předkládaný vynález jsou také vhodné alkylethoxylované sulfáty stejně jako alkylpropoxylované sulfáty. Konkrétní příklady substituovaných amonných kationtů zahrnují methyl-, dimethyl-, trimethylamonné kationty a kvarterní amonné kationty, jako je tetramethylamonný a dimethylpiperidiniový kation a ty, které jsou odvozeny z alkylaminů, jako je ethylamin, diethylamin, triethylamin, jejich směsi a podobně. Příklady tenzidů jsou C_{12} až C_{18} alkylpolyethoxylát (1,0) sulfát ($\text{C}_{12}\text{-C}_{18}\text{E}(1,0)\text{M}$), C_{12} až C_{18} alkylpolyethoxylát (2,25) sulfát ($\text{C}_{12}\text{-C}_{18}\text{E}(2,25)\text{M}$), C_{12} až C_{18} alkylpolyethoxylát (3,0) sulfát ($\text{C}_{12}\text{-C}_{18}\text{E}(3,0)\text{M}$) a C_{12} až C_{18} alkylpolyethoxylát (4,0) sulfát ($\text{C}_{12}\text{-C}_{18}\text{E}(4,0)\text{M}$), kde M je vybráno ze sodíku a draslíku.

Kationtové tenzidy

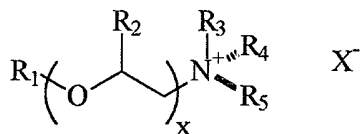
Kationtové čisticí tenzidy vhodné pro použití v pracích detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou takové, které mají jednu uhlovodíkovou skupinu s dlouhým řetězcem. Příklady takových kationtových tenzidů zahrnují amonné tenzidy, jako jsou alkyltrimethylamoniumhalogenidy a tenzidy obecného vzorce VII:



(VII)

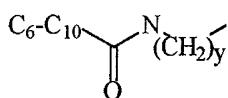
kde R^2 je alkyl nebo alkylbenzyl, sestávající z 8 až 18 atomů uhlíku v alkylovém řetězci; každé R^3 je vybráno ze skupiny sestávající z $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH(CH_3)-$, $CH_2CH(CH_2OH)-$, $-CH_2CH_2CH_2-$ a jejich směsí; každé R^4 je vybráno ze skupiny sestávající z C_1 až C_4 alkyly, C_1 až C_4 hydroxyalkyly, benzylové cyklické struktury vzniklé spojením dvou skupin R^4 , $-CH_2-CHOH-CHOHCOR^6CHOHCH_2OH$, kde R^6 je jakákoliv hexosa nebo hexosový polymer o molekulové hmotnosti nižší než 1000 a hodík, kdy Y není 0; R^5 je stejné jako R^4 nebo se jedná o alkyl, ve kterém není celkové množství atomů uhlíku R^2 plus R^5 větší než 18; každé y je 0 až 10 a celkový součet y je 0 až 15; a X je jakýkoliv slučitelný anion.

Kvarterní amoniový tenzid vhodný pro použití podle předkládaného vynálezu je sloučenina obecného vzorce VIII:



(VIII)

kde R_1 je alkyl s krátkým řetězcem (C_6 až C_{10}) nebo alkylamidoalkyl obecného vzorce IX:



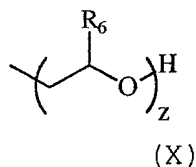
(IX)

y je 2 až 4, s výhodou 3,

R_2 je H nebo C_1 až C_3 alkyl,

x je 0 až 4, s výhodou 0 až 2, nejvýhodněji 0,

R_3 , R_4 a R_5 jsou stejné nebo různé a jedná se buď o alkyl s krátkým řetězcem (C_1 až C_3) nebo alkoxylovaný alkyl obecného vzorce X:



kde R₆ je C₁ až C₄ alkyl a z je 1 nebo 2

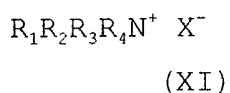
X⁻ je anion, s výhodou halogenid, např. chlorid nebo methylsulfát.

Preferované kvarterní amoniové tenzidy jsou takové, které odpovídají sloučenině obecného vzorce VIII, a

R₁ je C₈, C₁₀ nebo jejich směs, x=0,

R₃, R₄ = CH₃ a R₅ = CH₂CH₂OH.

Vysoce preferované kationtové tenzidy jsou ve vodě rozpustné kvarterní amoniové sloučeniny použitelné v prostředcích podle předkládaného vynálezu obecného vzorce XI:



kde R₁ je C₈ až C₁₆ alkyl, každé z R₂, R₃ a R₄ jsou nezávisle C₁ až C₄ alkyl, C₁ až C₄ hydroxyalkyl, benzyl a -(C₂H₄)_xH, kde x je 2 až 5 a X je anion. Ne více než jedno z R₂, R₃ nebo R₄ by nemělo být benzyl. Preferovaná délka alkylového řetězce R₁ je C₁₂ až C₁₅ zejména když je alkyl směs řetězců různých délek odvozených z kokosového oleje nebo palmového oleje nebo je odvozen synteticky výstavbou olefinů nebo OXO alkoholovou syntézou. Preferované skupiny pro R₂R₃ a R₄ jsou methyl a hydroxyethyl a anion X je vybrán ze skupiny sestávající z halogenidu, methylsulfonátu, octanu a fosforečnanu.

Příklady vhodných kvarterních amoniových sloučenin obecného vzorce XI určených pro použití podle předkládaného vynálezu jsou:

(kokosový alkyl)trimethylamoniumchlorid nebo bromid;

(kokosový alkyl)methyldihydroxyethylamoniumchlorid nebo bromid;

decyltriethylamoniumchlorid;

decyldimethylhydroxyethylamoniumchlorid nebo bromid;

C_{12} až C_{15} dimethylhydroxyethylamoniumchlorid nebo bromid;
(kokosový alkyl)dimethylhydroxyethylamoniumchlorid nebo
bromid;

myristyltrimethylamoniummethylsulfát;

lauryldimethylbenzylamoniumchlorid nebo bromid;

lauryldimethyl(ethenoxy)₄amoniumchlorid nebo bromid;

cholinestery (sloučeniny obecného vzorce XI, kde R_1 je
 $CH_2-CH_2-O-C-C_{12}$ až C_{14} alkyl a R_2 , R_3 a R_4 jsou methyly).



dialkylimidazoly (sloučeniny obecného vzorce XI).

Další kationtové tenzidy použitelné v předkládaném vynálezu
jsou také popsány v U.S. patentu 4,228,044, Cambre, vydaném
14. října 1980 a v evropské patentové přihlášce EP 000,224.

Typické kationtové složky určené pro změkčování tkanin
zahrnují ve vodě nerozpustné kvarterní amoniové látky aktivní
při změkčování tkanin nebo jejich odpovídající aminové
prekursory, přičemž nejpoužívanější jsou di-(alkyl s dlouhým
řetězcem)amoniumchlorid nebo methylsulfát.

Z nich jsou preferovaná kationtová změkčovadla následující:

- 1) di(alkyl odvozený z loje)dimethylamoniumchlorid (DTDMAC);
- 2) di(hydrogenovaný alkyl odvozený z loje)dimethylamonium-
chlorid;
- 3) di(hydrogenovaný alkyl odvozený z loje)dimethylamonium-
methylsulfát;
- 4) distearyldimethylamoniumchlorid;
- 5) dioleyldimethylamoniumchlorid;
- 6) dipalmitylhydroxyethylmethylnamoniumchlorid;
- 7) stearylbenzyltrimethylamoniumchlorid;
- 8) di(alkyl odvozený z loje)trimethylamoniumchlorid;
- 9) di(hydrogenovaný alkyl odvozený z loje)trimethylamonium-
chlorid;
- 10) C_{12} až C_{14} alkyl hydroxyethyltrimethylamoniumchlorid;
- 11) C_{12} až C_{18} alkyl dihydroxyethylmethylnamoniumchlorid;
- 12) di(stearoyloxyethyl)dimethylamoniumchlorid (DSOEDMAC);

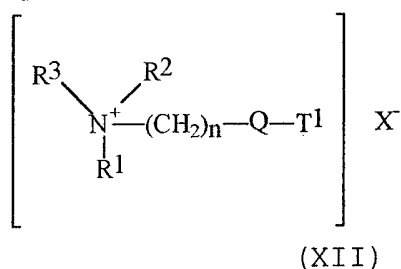
13) di(alkyl odvozený z loje - oxyethyl)dimethylamonium-chlorid;

14) di(alkyl odvozený z loje)imidazoliniummethylsulfát;

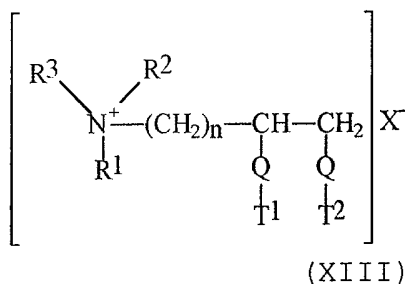
15) 1-[2-(alkyl odvozený z loje)ylamidoethyl]-2-(alkyl odvozený z loje)ylimidazoliniummethylsulfát.

Biodegradovatelné kvarterní amoniové sloučeniny byly představeny jako alternativy k tradičně používaným di(alkyl s dlouhým řetězcem)amoniumchloridům a methylsulfátům. Takové kvarterní amoniové sloučeniny obsahují alk(en)ylové skupiny s dlouhým řetězcem přerušené funkčními skupinami, jako jsou karboxylové skupiny. Takové materiály a prostředky změkčující tkaniny, ve kterých jsou obsaženy, jsou popsány v mnoha publikacích, jako je EP-A-0,040,562 a EP-A-0,239,910.

Kvarterní amoniové sloučeniny a aminové prekursory podle předkládaného vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce XII:



nebo sloučeniny obecného vzorce XIII:



kde Q je vybráno ze skupiny sestávající z -O-C(O)-, -C(O)-O-, -O-C(O)-O-, -NR⁴-C(O)-, -C(O)-NR⁴-,

R¹ je (CH₂)_n-Q-T² nebo T³,

R² je (CH₂)_m-Q-T⁴ nebo T⁵ nebo R³,

R³ je C₁ až C₄ alkyl nebo C₁ až C₄ hydroxyalkyl nebo H,

R⁴ je H nebo C₁ až C₄ alkyl nebo C₁ až C₄ hydroxyalkyl,

T¹, T², T³, T⁴, T⁵ jsou nezávisle C₁₁ až C₂₂ alkyl nebo alkenyl,

n a m jsou celá čísla 1 až 4 a

X^- je anion slučitelný se změkčovadlem. Nikterak neomezuující příklady aniontů slučitelných ze změkčovadlem zahrnují chlorid nebo methylsulfát.

Alkyl nebo alkenyl, řetězce T^1 , T^2 , T^3 , T^4 , T^5 musí sestávat přinejmenším z 11 atomů uhlíku. Řetězec je přímý nebo rozvětvený. Lůj je běžný a levný zdroj alkylů a alkenylů s dlouhým řetězcem. Zejména preferovány jsou sloučeniny, ve kterých T^1 , T^2 , T^3 , T^4 , T^5 představují směs materiálů s dlouhým řetězcem, typicky z loje.

Konkrétní příklady kvarterních amoniových sloučenin vhodných pro použití ve vodných prostředcích určených na změkčování tkanin podle předkládaného vynálezu zahrnují:

- 1) N,N-di(alkyl odvozený z loje - oxyethyl)-N,N-dimethylamoniumchlorid;
- 2) N,N-di(alkyl odvozený z loje - oxyethyl)-N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)amoniummethylsulfát;
- 3) N,N-di[2-(alkyl odvozený z loje)yloxy-2-oxoethyl]-N,N-dimethylamoniumchlorid;
- 4) N,N-di[2-(alkyl odvozený z loje)yloxyethylkarbonyloxyethyl]-N,N-dimethylamoniumchlorid;
- 5) N-[2-(alkyl odvozený z loje)yloxy-2-ethyl]-N-[2-(alkyl odvozený z loje)yl-2-oxoethyl]-N,N-dimethylamoniumchlorid;
- 6) N,N,N-tri[(alkyl odvozený z loje)yloxyethyl]-N-methylamoniumchlorid;
- 7) N-[2-(alkyl odvozený z loje)yloxy-2-oxoethyl]-N-(alkyl odvozený z loje)-N,N-dimethylamoniumchlorid; a
- 8) 1,2-di(alkyl odvozený z loje)yloxy-3-trimethylamoniumpropanchlorid;

a směsi těchto materiálů.

Při použití takových kationtových tenzidů v pracích detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu budou kationtové tenzidy typicky tvořit 0,2 % hmotnostních až 25 % hmotnostních, s výhodou 1 % hmotnostní až 8 % hmotnostních.

Konvenční detergentní enzymy

Prací detergentní prostředky s výhodou obsahují kromě enzymů odbourávajících sacharidové gumy jeden nebo více enzymů, které mají čisticí účinek, pečují o látky a/nebo provádějí apreturu látky, s výhodou celulasu a/nebo amylasy.

Překvapivě bylo zjištěno, že prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu obsahující další enzym, zejména celulasu a/nebo amylasu mají lepší účinnost při odstraňování skvrn a nečistot z jídla, čištění zapranosti a bělení. Konkrétně bylo zjištěno, že celulolytické enzymy jsou zejména použitelné při odbourávání látek přidávaných do jídel na celulosových polysacharidů, a proto jsou použitelné při napomáhání odstraňování skvrn/nečistot z bavlněných tkanin.

Bez vazby na nějakou konkrétní teorii se předpokládá, že tento zlepšený čisticí účinek je výsledkem společného působení enzymaticky hydrolyzujícího celulasového enzymu na bavlněnou tkaninu a enzymu odbourávajícího sacharidovou gumu na polysacharid vážící skvrnu na bavlněnou tkaninu. Podobně dochází ke zlepšenému čisticímu účinku při působení amylasy na apretační prostředek pokrývající povrch bavlněné tkaniny a enzymu odbourávajícího sacharidovou gumu na polysacharid vážící skvrnu na bavlněnou tkaninu.

Takové enzymy zahrnují enzymy vybrané z celulas, hemicelulas, peroxidas, proteas, glukamylas, amylas, xylanas, lipas, fosfolipas, esteras, kutinas, pektinas, keratanas, reduktas, oxidas, fenoloxidas, lipoxygenas, ligninas, pululanas, tanas, pentosanas, β -glukanas, arabinosidas, hyaluronidas, chondritinas, lakas nebo jejich směsi.

Celulasu použitelné podle předkládaného vynálezu zahrnují bakteriální i houbové celulasu. S výhodou mají pH optimum 5 až 12 a specifickou aktivitu vyšší než 50 CEVU/mg (CEVU - celulosová viskozitní jednotka). Vhodné celulasu jsou popsány v U.S. patentu 4,435,307, Barbesgoard a kol., J61078384 a WO96/02653, které popisují houbové celulasu produkované

Humicola insolens, *Trichoderma*, *Thielavia* a *Sporotrichum*. EP 739 982 popisuje celulas izolované z nových druhů *Bacillus*. Vhodné celulas jsou také popsány v GB-A-2,075,028; GB-A-2,095,275; DE-OS-2,247,832 a WO95/26398.

Příklady takových celulas jsou celulas produkované kmenem *Humicola insolens* (*Humicola grisea* var. *thermoidea*), zejména kmenem *Humicola* DSM 1800.

Další vhodné celulas jsou celulas pocházející z *Humicola insolens* o molekulové hmotnosti 50 kDa, isoelektrickém bodu 5,5 a obsahující 415 aminokyselin, a 43 kDa endoglukanasa odvozená z *Humicola insolens*, DSM 1800, vykazující celulasovou aktivitu, přičemž preferovaná endoglukanasová složka má aminokyselinovou sekvenci popsanou v PCT patentové přihlášce č. WO 91/17243. Také jsou vhodné celulas jako jsou EGIII celulas z *Trichoderma longibrachiatum* popsané ve WO94/21801, Genencor, vydaném 29. září 1994. Zvláště vhodné celulas jsou celulas, které chrání barvy. Příklady takových celulas jsou celulas popsané v Evropské patentové přihlášce č. 91202879.2, podaném 6. listopadu 1991 (Novo), zejména použitelné jsou Carezyme a Celluzyme (Novo Nordisk A/S). Viz také WO91/17244 a WO91/21801. Další celulas vhodné pro péči o tkaniny a/nebo své čisticí vlastnosti jsou popsány ve WO96/34092, WO96/17996 a WO95/24471.

Tyto celulas jsou normálně použity v detergentních prostředcích v množstvích 0,0001 % hmotnostních až 2 % hmotnostní čistého enzymu vztaženo na hmotnost detergentního prostředku.

Pro odstraňování skvrn na bázi cukrů lze použít amylasy (α a/nebo β). WO94/02597, Novo Nordisk A/S, vydaný 3. února 1994, popisuje čisticí prostředky, které obsahují mutantní amylasy. Viz také WO95/10603, Novo Nordisk A/S, vydaný 20. dubna 1995. Další amylasy známé pro použití v čisticích prostředcích zahrnují α - a β -amylasy. α -amylasy jsou známé v dané

problematicke a zahrnují ty, které jsou popsány v U.S. patentu č. 5,003,257; EP 252,666; WO91/00353; FR 2,676,456; EP 285,123; EP 525,610; EP 368,341 a britské patentové přihlášce č. 1,296,839 (Novo). Další vhodné amylasy jsou amylasy se zvýšenou stabilitou popsány ve WO94/18314, vydaném 18. srpna 1994 a WO96/05295, Genencor, vydaném 22. února 1996 a amylasové varianty, které mají další modifikace, dostupné od firmy Novo Nordisk A/S, popsány ve WO 95/10603, vydaném v dubnu 1995. Také jsou vhodné amylasy popsány v EP 277 216, WO95/26397 a WO96/23873 (vše od firmy Novo Nordisk).

Příklady komerčních α -amylasových produktů jsou Purafect Ox Am[®] od firmy Genencor a Termamyl[®], Ban[®], Fungamyl[®] a Duramyl[®], které jsou všechny dostupné od firmy Novo Nordisk A/S Dánsko. WO95/26397 popisuje další vhodné amylasy: α -amylasy, které mají specifickou aktivitu přinejmenším o 25 % vyšší než Termamyl[®] v teplotním rozsahu 25 °C až 55 °C a při hodnotách pH 8 až 10, měřeno pomocí testu na α -amylasovou aktivitu Phadebas[®]. Vhodné jsou varianty uvedených enzymů popsány ve WO96/23873 (Novo Nordisk). Další amylolytické enzymy se zlepšenými vlastnostmi ve vztahu k úrovni aktivity a kombinací tepelné stability a vyšší aktivity jsou popsány ve WO95/35382.

Amylolytické enzymy jsou v detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu v množstvích 0,0001 % hmotnostních až 2 % hmotnostní, s výhodou 0,00018 % hmotnostních až 0,06 % hmotnostních, výhodněji 0,00024 % hmotnostních až 0,048 % hmotnostních čistého enzymu vztaženo na hmotnost prostředku.

Preferovaná kombinace je prací detergentní prostředek, který je směsí běžně používaných enzymů jako jsou proteasa, amylasa, lipasa, kutinasa a/nebo celulasa ve spojení s jedním nebo více enzymy odbourávajícími stěny rostlinných buněk.

Peroxidasové enzymy se používají v kombinaci se zdroji kyslíku, např. peroxyuhličitanem, peroxyboritanem, peroxysíranem, peroxidem vodíku, atd. a s fenolickým

substrátem, jako jsou molekuly zlepšující bělení. Používají se pro "bělení roztoku", tj. brání přenosu barviv nebo pigmentů ze substrátů během praní na další substráty v pacím roztoku. Peroxidasové enzymy jsou v dané problematice známy, například, křenová peroxidasa, ligninasa a haloperoxidasa, jako je chlor- a bromperoxidasa. Detergentní prostředky obsahující peroxidasu jsou popsány, například, v PCT mezinárodní přihlášce WO 89/099813, WO89/09813 a v evropské patentové přihlášce EP č. 91202882.6, podané 6. listopadu 1991 a EP č. 96870013.8, podané 20. února 1996. Také je vhodný lakasový enzym.

Podpůrné látky se používají v množství 0,1 % hmotnostních až 5 % hmotnostních vztaženo na celkovou hmotnost prostředku. Preferované podpůrné látky jsou substituované fenthiaziny a fenoxaziny, 10-fenothiazinpropionová kyselina (PPT), 10-ethylfenothiazin-4-karboxylová kyselina (EPC), 10-fenoxazinpropionová kyselina (POP) a 10-methylfenoxazin (popsaný ve WO 94/12621) a substituované syringáty (C3 až C5 substituované alkylsyringáty) a fenoly. Preferované zdroje peroxidu vodíku jsou peroxyuhličitan sodný nebo peroxyboritan sodný.

Tyto peroxidasy jsou normálně používány v detergentním prostředku v množství 0,0001 % hmotnostních až 2 % hmotnostní čistého enzymu vztaženo na celkovou hmotnost prostředku.

Další preferované enzymy, které se používají do detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu zahrnují lipasy. Vhodné lipasové enzymy pro použití v detergitech zahrnují ty, které produkují mikroorganismy ze skupiny *Pseudomonas*, jako je *Pseudomonas stutzeri* ATCC 19.154, jak je popsáno v britském patentu 1,372,034. Vhodné lipasy zahrnují ty, které vykazují pozitivní imunologickou křížovou reakci s protilátkou na lipasu, vyráběné mikroorganismem *Pseudomonas fluorescent* IAM 1057. Tato lipasa je dostupná od firmy Amano Pharmaceutical Co. Ltd., Nagoya, Japonsko, pod obchodním názvem Lipase P "Amano", který se dále označuje jako

"Amano-P". Další vhodné komerčně dostupné lipasy zahrnují Amano-CES, lipasy z *Chromobakter viscosum*, např. *Chromobacter viscosum* var. *lipolyticum* NRRLB 3673 od firmy Toyo Jozo Co., Tagata, Japan, *Chromobakter viscosum* lipasy od firmy U.S. Biochemical Corp., USA a Disoynt Co., Nizozemí a lipasy z *Pseudomonas gladioli*. Zejména vhodné lipasy jsou lipasy, jako je M1 Lipasa® a Lipomax® (Gist-Brocades) a Lipolase® a Lipolase Ultra® (Novo), o kterých bylo zjištěno, že jsou velmi účinné při použití v kombinaci s prostředky podle předkládaného vynálezu. Také jsou vhodné lipolytické enzymy popsané v EP 258 068, WO 92/05249 a WO 95/22615 firmy Novo Nordisk a ve WO 94/03578, WO 95/35381 a WO 96/00292 firmy Unilever.

Také jsou vhodné kutinasy [EC 3.1.1.50], které lze pokládat za zvláštní druh lipasy, konkrétně lipas, které nevyžadují povrchovou aktivaci. Přídavek kutinas do detergentních prostředků byl popsán např. ve WO-A-88/09367 (Genencor); WO 90/09446 (Plant Genetic System) a WO 94/14963 a WO 94/14964 (Unilever).

Lipasy a/nebo kutinasy jsou normálně používány v detergentním prostředku v množství 0,0001 % hmotnostních až 2 % hmotnostní čistého enzymu vztaženo na celkovou hmotnost prostředku.

Vhodné proteasy jsou subtilisiny, které se získávají z konkrétních kmenů *B. subtilis* a *B. licheniformis* (subtilisin BPN a BPN'). Jedna z vhodných proteas se získává z kmenu *Bacillus*, který má maximální aktivitu v rozsahu pH 8 až 12, vyvinutém a prodávaném jako ESPERASE® firmou Novo Industries A/S z Dánska, dále označované jako "Novo". Příprava tohoto enzymu a analogických enzymů je popsána v GB 1,243,784 firmy Novo. Další vhodné proteasy zahrnují ALCALASE®, DURAZYM® a SAVINASE® firmy Novo a MAXATASE®, MAXACAL®, PROPERASE® a MAXAPEM® (protein vyvinutý jako Maxacal) od firmy Gist-Brocades. Proteolytické enzymy také zahrnují modifikované bakteriální serinové proteasy, jako jsou ty, které jsou

popsány v evropské patentové přihlášce sériového čísla 87 303761.8, podané 28. dubna 1987 (konkrétně strany 17, 24 a 98) a které se v předkládaném vynálezu nazývají "Proteasa B" a v evropské patentové přihlášce 199,404, Venegas, vydané 29. října 1986, která se týká upraveného bakteriálního serinového proteolytického enzymu, který se v předkládaném vynálezu nazývá "Proteasa A". Vhodná je také proteasa, která se v předkládaném vynálezu nazývá "Proteasa C", což je variant alkalické serinové proteasy z *Bacillus*, ve kterém je v pozici 27 nahrazen lysin argininem, v pozici 104 nahrazen tyrosin valinem, v pozici 123 nahrazen serin asparaginem a v pozici 274 nahrazen alanin threoninem. Proteasa C je popsána v EP 90915958:4, odpovídající WO 91/06637, vydaném 16. května 1991. V předkládaném vynálezu jsou také zahrnuty geneticky modifikované varianty, zejména Proteasy C.

Preferovaná proteasa se označuje jako "Proteasa D" a je to hydrolasový variant, který má aminokyselinovou sekvenci, která se nenachází v přírodě a která je odvozena z prekursoru karbonylhydrolasy nahrazením různých aminokyselin za různé aminokyselinové zbytky v pozicích, které jsou v karbonylhydrolase ekvivalentní pozici +76, s výhodou také v kombinaci s jedním nebo více aminokyselinovými zbytky v pozicích ekvivalentních pozici vybrané ze skupiny sestávající +99, +101, +103, +104, +107, +123, +127, +105, +109, +126, +128, +135, +156, +166, +195, +197, +204, +206, +210, +216, +217, +218, +222, +260, +265 a/nebo +274 podle číslování subtilisinu *Bacillus amyloliquefaciens*, jak je popsáno ve WO95/10591 a v patentové přihlášce C. Ghosh a kol., "Bleaching Compositions Comprising Protease Enzymes", která má US sériové č. 08/322,677, podaná 13. října 1994. Také je vhodný karbonylhydrolasový variant proteasy popsané ve WO95/10591, který má aminokyselinovou sekvenci, která je odvozena z prekursoru karbonylhydrolasy nahrazením různých aminokyselin v pozicích, které jsou v prekurzorovém enzymu ekvivalentní

pozici +210 v kombinaci s jedním nebo více následujících zbytků +33, +62, +67, +76, +100, +101, +103, +104, +107, +128, +129, +130, +132, +135, +156, +158, +164, +166, +167, +170, +209, +215, +217, +218 a +222, kde číslování pozic odpovídá přirozenému subtilisinu z *Bacillus amyloliquefaciens* nebo odpovídajícím aminokyselinovým zbytkům v jiných karbonylhydrolasách nebo subtilisinech, jako je *Bacillus lentus* subtilisin (společně projednávaná patentová přihláška US sériové č. 60/048,550, podaná 4. června 1997).

Do předkládaného vynálezu jsou také vhodné proteasy popsané v patentové přihlášce EP 251 446 a WO 91/06637, proteasa BLAP® popsaná ve WO91/02792 a její varianty popsané ve WO 95/23221.

Viz také proteasa do vysokého pH z *Bacillus* sp. NCIMB 40338 popsaná ve WO 93/18140 A, Novo. Enzymatické 'detergenty' obsahující proteasu, jeden nebo více dalších enzymů a reverní proteasový inhibitor jsou popsány ve WO 92/03529 A, Novo. Pokud je potřeba, je dostupná proteasa, která má snížené adsorpční schopnosti a zvýšenou účinnost při hydrolýze, popsaná ve WO 95/07791, Procter & Gamble. Rekombinantní proteasa podobná trypsinu vhodná do detergentů podle předkládaného vynálezu je popsána ve WO 94/25583, Novo. Další vhodné proteasy jsou popsány v EP 516 200, Unilever.

Proteolytické enzymy jsou používány v detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu v množství 0,0001 % hmotnostních až 2 % hmotnostních, s výhodou 0,001 % hmotnostních až 0,2 % hmotnostních, ještě výhodněji 0,005 % hmotnostních až 0,1 % hmotnostních čistého enzymu vztaženo na celkovou hmotnost prostředku.

Uvedené enzymy jsou jakéhokoliv vhodného původu, jako je rostlinný, živočišný, bakteriální, z hub a z kvasnic. Původ je dále mezofilní nebo extremofilní (psychofilní, psychotropní, termofilní, barofilní, alkalofilní, acidofilní, halofilní, atd.). Lze použít čištěné nebo nečištěné formy těchto enzymů. V dnešní době je běžnou praxí upravovat původní přírodní typy

enzymů technikami proteinového nebo genového inženýrství, aby se optimalizovala jejich účinnost v čisticích prostředcích podle předkládaného vynálezu. Například lze navrhnout takové varianty, kdy je zvýšena slučitelnost enzymu vůči běžným složkám takových prostředků. Alternativně lze navrhnout variantu, kdy je optimální pH, stabilita při bělení a působení chelátů, katalytická aktivita a podobně u enzymu upraveno přesně podle potřeb konkrétního čisticího použití.

Konkrétně je třeba dávat pozor na aminokyseliny citlivé na oxidaci v případě stability při bělení a na povrchové napětí při slučitelnosti s detergenty. Isoelektrický bod takových enzymů lze upravit nahrazením některých nabitých aminokyselin, např. zvýšení isoelektrického bodu pomůže zlepšit slučitelnost s aniontovými tenzidy. Stabilitu enzymů lze dále zvýšit vytvořením např. přídatných solných můstků a zesílením center vázících kov, aby se zvýšila stabilita při působení chelátů. Zvláštní pozornost je třeba věnovat celulasám, protože většina celulas má oddělené vazebné domény (CBD). Vlastnosti takových enzymů lze dále změnit úpravami v těchto doménách.

Tyto enzymy jsou normálně používány v detergentních prostředcích v množstvích 0,0001 % hmotnostních až 2 % hmotnostní čistého enzymu vztaženo na celkovou hmotnost prostředku. Enzymy lze přidat jako oddělené složky (tablety, granulát, stabilizované tekutiny, atd.) obsahující jeden enzym nebo jako směs dvou či více enzymů (např. kogranuláty).

Další složky, které lze použít do detergentů, jsou tlumiče oxidace enzymů, které jsou popsány ve společně projednávané evropské patentové přihlášce 92870018.6, podané 31. ledna 1992. Příklady takových tlumičů oxidace enzymů jsou ethoxylované tetraethylenpolyaminy.

Mnoho enzymatických materiálů a prostředky pro jejich použití v syntetických detergentních prostředcích jsou také popsány ve WO 9307263 A a WO 9307260 A, Genencor International, WO 8908694 A, Novo a US 3,553,139,

5. ledna 1971, McCarty a kol. Enzymy jsou dále popsány v US 4,101,457, Place a kol., 18. července 1978 a v US 4,507,219, Hughes, 26. března 1985. Enzymové materiály použitelné do tekutých detergentních prostředků a jejich zahrnutí do takových prostředků jsou popsány v US 4,261,868, Hora a kol., 14. dubna 1981. Enzymy určené pro použití v detergitech se různými způsoby stabilizují. Techniky stabilizace enzymů jsou popsány a jejich příklady jsou uvedeny v US 3,600,319, 17. srpna 1971, Gedge a kol., EP 199,405 a EP 200,586, 29. října 1986, Venegas. Stabilizace enzymového systému je také popsána, například, v US 3,519,570. Použitelný kmen *Bacillus* sp. AC 13 poskytující proteasy, xylanasy a celulasu je popsán ve WO 9401532 A, Novo.

Bělicí činidlo

Překvapivě bylo zjištěno, že prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu dále obsahující bělicí činidlo, zejména bělicí systém s bělicím aktivátorem, jsou účinnější při odstraňování svrn/nečistot z jídla, odstraňování zapranosti a při bělení. Bez vazby na nějakou konkrétní teorii se předpokládá, že bělicí systémy s bělicím aktivátorem snáze působí na menší chromoforní částice vznikající ze sacharidových gum enzymatickou hydrolýzou, a to zejména při nižší teplotě.

Další nepovinné detergentní složky, které lze použít do pracích detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu zahrnují bělicí činidla, jako je peroxid vodíku, PB 1, PB 4 a peroxyuhličitan s velikostí částic 400 mikrometrů až 800 mikrometrů.

Tato bělicí činidla zahrnují jedno nebo více kyslíkatých bělicích činidel a, závislosti na vybraném bělicím činidle, jeden nebo více bělicích aktivátorů. Pokud jsou použity, pak jsou kyslíkaté bělicí sloučeniny typicky přítomny v množství 1 % hmotnostní až 25 % hmotnostních.

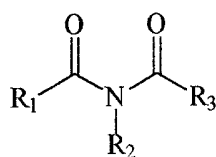
Bělicí činidlo pro použití podle předkládaného vynálezu je jakékoliv bělicí činidlo používané do pracích detergentních prostředků včetně kyslíkatých bělidel stejně jako i dalších, která jsou známa v dané problematice. Bělicí činidlo vhodné pro předkládaný vynález je aktivované nebo neaktivované bělicí činidlo.

Jednou ze skupin kyslíkatých bělicích činidel, které lze použít, jsou bělicí činidla na bázi peroxykarboxylových kyselin a jejich solí. Vhodné příklady této skupiny činidel zahrnují hexahydrát monoperoxyftalátu hořečnatého, methachlorperoxybenzoát hořečnatý, 4-nonylamino-4-oxoperoxybutanovou kyselinu a diperoxydodekandiovou kyselinu. Taková bělicí činidla jsou popsána v US patentu 4,483,781, US patentové přihlášce 740,446, evropské patentové přihlášce 0,133,354 a US patentu 4,412,934. Velmi preferovaná bělicí činidla zahrnují 6-nonylamino-6-oxoperoxykapronovou kyselinu, která je popsána v US patentu 4,634,551.

Další skupinou bělicích činidel, které lze také použít, jsou halogenová bělicí činidla. Příklady halogenanových bělicích činidel zahrnují, například, trichlorisokyanurovou kyselinu a dichlorisokyanuráty sodný a draselný a N-chlor a N-brom alkan sulfonamidy. Takové materiály se normálně přidávají v množství 0,5 % hmotnostních až 10 % hmotnostních konečného produktu, s výhodou v množství 1 % hmotnostních až 5 % hmotnostních.

Činidla uvolňující peroxid vodíku lze použít v kombinaci s bělicími aktivátory, jako je tetraacetylethylendiamin (TAED), nonanoyloxybenzensulfonát (NOBS, popsáný v US patentu 4,412,934), 3,5-trimethylhexanoyloxybenzensulfonát (ISONOBS, popsáný v EP 120,591) nebo pentaacetylglukosa (PAG) nebo fenolsulfátový ester N-nonanoyl-6-aminokapronové kyseliny (NACA-OBS, popsáný ve WO94/28106), který se perhydrolyzuje na formu peroxykyseliny, která je aktivní bělicí částicí, což vede ke zlepšení bělicího účinku. Také jsou jako aktivátory vhodné acylované estery citrátů, jako jsou ty, které jsou

popsány ve společně projednávané evropské patentové přihlášce č. 91870207.7 a nesymetrický acyklický imidový bělicí aktivátor obecného vzorce XIV:



který je popsán firmou Procter & Gamble ve společně projednávaných patentových přihláškách US sériového čísla 60/022,786 (podáno 30. července 1996) a čísla 60/028,122 (podáno 15. října 1996), kde R_1 je C_7 až C_{13} nasycený nebo nenasycený lineární nebo rozvětvený alkyl, R_2 je C_1 až C_8 nasycený nebo nenasycený lineární nebo rozvětvený alkyl a R_3 je C_1 až C_4 nasycený nebo nenasycený lineární nebo rozvětvený alkyl.

Použitelná bělicí činidla, včetně peroxykyselin a bělicích systémů, zahrnují bělicí aktivátory a peroxidové bělicí sloučeniny určené pro použití v detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou popsány v našich společně projednávaných přihláškách USSN 08/136,626, PCT/US95/07823, WO95/27772, WO95/27773, WO95/27774 a WO95/27775.

Peroxid vodíku může být také přítomen tak, že se přidá enzymatický systém (tj. enzym a jeho substrát), který je schopen produkovat na začátku nebo během praní a/nebo máchání peroxid vodíku. Takové enzymové systémy jsou popsány v EP patentové přihlášce 91202655.6 podaném 9. října 1991.

Katalyzátory obsahující kov určené pro použití v bělicích prostředcích, zahrnují katalyzátory obsahující kobalt, jako je pentaaminacetát kobaltitý a katalyzátory obsahující mangan, jako jsou ty, které jsou popsány v EPA 549,271, EPA 549,272, EPA 458 397, US 5,246,621, EPA 458 398, US 5,194,416 a US 5,114,611. Bělicí prostředky obsahující peroxidové sloučeniny, bělicí katalyzátor obsahující mangan a chelatační činidlo jsou popsány v patentové přihlášce č. 94870206.3.

V dané problematice jsou známa i jiná bělicí činidla než kyslíkatá bělicí činidla a lze je také použít. Jedním z typů nekyslíkatých bělicích činidel, která jsou zejména zajímavá, jsou fotoaktivovaná bělicí činidla, jako jsou sulfonované zinečnaté a/nebo hlinité ftalocyaniny. Tyto materiály se ukládají během praní na prané látky. Po ozáření světlem v přítomnosti kyslíku, jako na visících šatech nechaných uschnout na denním světle, se sulfonovaný zinečnatý ftalocyanin aktivuje a, následně, vybělí substrát. Preferovaný zinečnatý ftalocyanin a fotoaktivovaný bělicí postup jsou popsány v US patentu 4,033,718. Typicky obsahují detergentní prostředky 0,025 % hmotnostních až 1,25 % hmotnostních sulfonovaného zinečnatého ftalocyaninu.

System plnidel

Prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu s výhodou obsahují plnidlo, ještě výhodněji anorganické plnidlo, nejvýhodněji Zeolit A, vrstvený křemičitan a/nebo tripolyfosforečnan sodný. Překvapivě bylo zjištěno, že prací detergentní prostředek podle předkládaného vynálezu dále obsahující plnidlo má zlepšený účinek při odstraňování skvrn/nečistot z jídla, odstraňování zapranosti a bělení. Bez vazby na nějakou konkrétní teorii se předpokládá, že sacharidové gummy vychytávají vápník a tak omezují enzymatickou hydrolýzu. Proto se při použití plnidla očekává odstranění zachyceného vápníku a zlepšení působení enzymů odbourávajících sacharidové gummy.

Pro použití podle předkládaného vynálezu je vhodný jakýkoliv běžný systém plnidel, včetně hlinitokřemičitanových materiálů, křemičitanů, polykarboxylátů, alkyl- nebo alkenyljantarové kyseliny a mastných kyselin, materiálů, jako je ethylendiamintetraacetát, diethylentriaminpentamenthyleneacetát, látek vychytávajících kovové ionty, jako jsou aminopolyfosfonáty, konkrétně ethylendiamintetramethylenfosfonová kyselina a

diethylentriaminpentamethylenfosfonová kyselina. Také lze použít fosfátová plnidla.

Vhodná plnidla jsou anorganické iontově výměnné materiály, běžně anorganické hydratované hlinitokřemičitanové materiály, konkrétněji hydratované syntetické zeolity, jako je hydratovaný zeolit A, X, B, HS nebo MAP.

Další vhodný anorganický materiál na plnidlo je vrstvený křemičitan, např. SKS-6 (Hoechst). SKS-6 je krystalický vrstvený křemičitan sestávající z křemičitanu sodného ($\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_6$).

Vhodné polykarboxyláty obsahující jednu karboxylovou skupinu zahrnují kyselinu mléčnou, kyselinu glykolovou a jejich etherové deriváty, které jsou popsány v belgických patentech č. 831,368, 821, 369 a 821,370. Polykarboxyláty obsahující dvě karboxylové skupiny zahrnují ve vodě rozpustné soli kyseliny jantarové, kyseliny malonové, kyseliny ethylendioxydioctové, kyseliny maleinové, kyseliny diglykolové, kyseliny vinné, kyseliny tartronové a kyseliny fumarové stejně jako etherové karboxyláty popsané v German Offenlegenschrift 2,446,686 a 2,446,687 a US patentu č. 3,935,257 a sulfinylkarboxyláty popsané v belgickém patentu č. 840,623. Polykarboxyláty obsahující tři karboxylové skupiny zahrnují, zejména, ve vodě rozpustné citráty, akonitráty a citrakonáty stejně jako deriváty kyseliny jantarové, jako jsou karboxymethyloxysukcináty popsané v britském patentu č. 1,379,241, laktoxysukcináty popsané v nizozemské přihlášce 7205873 a oxypolykarboxylátové materiály, jako jsou 2-oxa-1,1,3-propantrikarboxyláty popsané v britském patentu č. 1,387,447.

Polykarboxyláty obsahující čtyři karboxylové skupiny zahrnují oxydisukcináty popsané v britském patentu č. 1,261,829, 1,1,2,2-ethantetrakarboxyláty, 1,1,3,3-propan-tetrakarboxyláty a 1,1,2,3-propantetrakarboxyláty. Polykarboxyláty obsahující sulfo substituenty zahrnují

sulfosukcinátové deriváty popsané v britských patentech č. 1,398,421 a 1,398,422 a v US patentu č. 3,936,448 a sulfonované pyrolyzované citráty popsané v britském patentu č. 1,082,179, zatímco polykarboxyláty obsahující fosfonové substituenty jsou popsány v britském patentu č. 1,439,000.

Alicyklické a heterocyklické polykarboxyláty zahrnují cyklopentan-cis,cis,cis-tetrakarboxyláty, cyklopentadienid-pentakarboxyláty, 2,3,4,5-tetrahydrofuran-cis,cis,cis-tetrakarboxyláty, 2,5-tetrahydrofuran-cis-dikarboxyláty, 2,2,5,5-tetrahydrofuran-tetrakarboxyláty, 1,2,3,4,5,6-hexanhexakarboxyláty a karboxymethylderiváty polyhydroxyalkoholů, jako je sorbitol, manitol a xylitol. Aromatické polykarboxyláty zahrnují deriváty kyseliny melitové, kyseliny pyromelitové a kyseliny ftalové popsané v britském patentu č. 1,425,343.

Preferované polykarboxyláty jsou hydroxykarboxyláty obsahující až tři karboxylové skupiny na jednu molekulu, konkrétněji citráty.

Preferované systémy plnidel určené pro použití podle předkládaného vynálezu zahrnují směs ve vodě nerozpustného hlinitokřemičitanového plnidla, jako je zeolit A, nebo vrstveného křemičitanu (SKS-6) a ve vodě rozpustného karboxylátového chelatačního činidla, jako je kyselina citrónová. Další preferované systémy plnidel zahrnují směs ve vodě nerozpustných hlinitokřemičitanových plnidel, jako je zeolit A a ve vodě rozpustného karboxylátového chelatačního činidla, jako je kyselina citrónová. Preferované systémy plnidel určené pro použití v tekutých detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou mýdla a polykarboxyláty.

Další materiály plnidel, které tvoří část systému plnidel určeného pro použití v granulovaných prostředcích, zahrnují anorganické materiály, jako jsou uhličitany, hydrogenuhličitany a křemičitany alkalických kovů a organické

materiály, jako jsou organické fosfonáty, aminopolyalkylenfosfonáty a aminopolykarboxyláty.

Další vhodné ve vodě rozpustné organické soli jsou homo- nebo kopolymerní kyseliny nebo jejich soli, ve kterých polykarboxylová kyselina sestává přinejmenším ze dvou karboxylových zbytků oddělených jeden od druhého ne více než dvěma atomy uhlíku. Polymery tohoto typu jsou popsány v GB-A-1,596,756. Příklady takových solí jsou polyakryláty o molekulové hmotnosti 2000 až 5000 a jejich kopolymery s anhydridem kyseliny maleinové, které mají molekulovou hmotnost 20 000 až 70 000 a zejména 40 000.

Plnidlové soli jsou v detergentech normálně použity v množstvích 5 % hmotnostních až 80 % hmotnostních vztaženo na hmotnost prostředku, s výhodou v množstvích 10 % hmotnostních až 70 % hmotnostních a nejvýhodněji v množstvích 30 % hmotnostních až 60 % hmotnostních.

Další systém tenzidů

Prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu také obsahují jiné kationtové, amfolytické, zwitteriontové a semipolární tenzidy, stejně jako neionogenní a/nebo aniontové tenzidy než ty, které již byly v předkládaném vynálezu popsány.

Amfolytické tenzidy jsou pro použití v pracích detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu také vhodné. Tyto tenzidy lze obecně popsat jako alifatické deriváty sekundárních nebo terciárních aminů nebo alifatické deriváty heterocyklických sekundárních a terciárních aminů, ve kterých má alifatický zbytek přímý nebo rozvětvený řetězec. Jeden z alifatických substituentů obsahuje přinejmenším osm atomů uhlíku, typicky 8 až 18 atomů uhlíku a přinejmenším jeden obsahuje aniontovou ve vodě solubilizující skupinu, např. karboxyl, sulfonát, sulfát. Viz US patent č. 3,929,678, Laughlin a kol., vydaný 30. prosince 1975 ve sloupci 19, řádky 18 až 35, pro příklady amfolytických tenzidů.

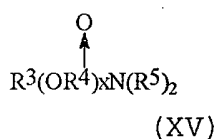
Pokud jsou použity, pak prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu typicky obsahují 0,2 % hmotnostních až 15 % hmotnostních, s výhodou 1 % hmotnostní až 10 % hmotnostních takových amfolytických tenzidů.

Pro použití v pracích prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou také vhodné zwitteriontové tenzidy. Tyto tenzidy lze obecně popsat jako deriváty sekundárních a terciárních aminů, deriváty heterocyklických sekundárních a terciárních aminů nebo deriváty kvarterních amoniových, kvarterních fosfoniových nebo terciárních sulfoniových sloučenin. Viz US patent č. 3,929,678, Laughlin a kol., vydaný 30. prosince 1975 ve sloupci 19, řádek 38 až sloupec 22, řádek 48, pro příklady zwitteriontových tenzidů.

Pokud jsou použity, pak prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu typicky obsahují 0,2 % hmotnostních až 15 % hmotnostních, s výhodou 1 % hmotnostní až 10 % hmotnostních takových zwitteriontových tenzidů.

Semipolární neionogenní tenzidy jsou zvláštní skupinou neionogenních tenzidů, které zahrnují ve vodě rozpustné aminoxidy obsahující jeden alkyl sestávající z 10 až 18 atomů uhlíku a 2 skupin vybraných ze skupiny sestávající z alkylů a hydroxyalkylů sestávajících z 1 až 3 atomů uhlíku, ve vodě rozpustné fosfinoxidy obsahující jeden alkyl sestávající z 10 až 18 atomů uhlíku a 2 skupin vybraných ze skupiny sestávající z alkylů a hydroxyalkylů sestávajících z 1 až 3 atomů uhlíku a ve vodě rozpustné sulfoxidy obsahující jeden alkyl sestávající z 10 až 18 atomů uhlíku a 2 skupin vybraných ze skupiny sestávající z alkylů a hydroxyalkylů sestávajících z 1 až 3 atomů uhlíku.

Semipolární neionogenní tenzidy zahrnují aminoxidové tenzidy obecného vzorce XV:



kde R^3 je alkyl, hydroxyalkyl nebo alkylfenyl nebo jejich směs sestávající z 8 až 22 atomů uhlíku, R^4 je alkylen nebo hydroxyalkylen sestávající ze 2 až 3 atomů uhlíku nebo jejich směsi, x je 0 až 3 a každé R^5 je alkyl nebo hydroxyalkyl sestávající z 1 až 3 atomů uhlíku nebo polyethylenoxid sestávající z 1 až 3 ethylenoxidových skupin. R^5 jsou případně připojeny jedna k druhé, např. přes atom kyslíku nebo atom dusíku, čímž tvoří cyklickou strukturu.

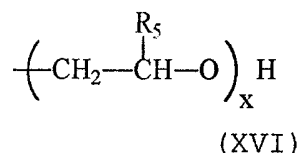
Tyto aminoxidové tenzidy zejména zahrnují C_{10} až C_{18} alkyldimethylaminoxidy a C_8 až C_{12} alkoxyethyldihydroxyethylaminoxidy.

Pokud jsou použity, pak prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu typicky obsahují 0,2 % hmotnostních až 15 % hmotnostních, s výhodou 1 % hmotnostních až 10 % hmotnostních takových semipolárních tenzidů.

Prací detergentní prostředek podle předkládaného vynálezu dále obsahuje kotenzid vybraný ze skupiny primárních nebo terciárních aminů. Primární aminy vhodné pro použití podle předkládaného vynálezu jsou typu R_1NH_2 , kde R_1 je C_6 až C_{12} , s výhodou C_6 až C_{10} alkyl nebo $R_4X(CH_2)_n$, kde X je $-O-$, $-C(O)NH-$ nebo $-NH-$, R_4 je C_6 až C_{12} alkyl a n je 1 až 5, s výhodou 3. R_1 alkyl je přímý nebo rozvětvený a je případně přerušen až 12, s výhodou méně než 5 ethylenoxidovými jednotkami.

Preferované aminy podle předkládaného vynálezu jsou n -alkylaminy. Vhodné aminy pro použití podle předkládaného vynálezu jsou vybrány ze skupiny sestávající z 1-hexylaminu, 1-oktylaminu, 1-decylaminu a laurylaminu. Další preferované primární aminy zahrnují C_8 až C_{10} oxypropylamin, oktyloxypropylamin, 2-ethylhexyloxypropylamin, laurylamido-propylamin a amidopropylamin.

Vhodné terciární aminy určené pro použití podle předkládaného vynálezu zahrnují terciární aminy typu $R_1R_2R_3N$, kde R_1 a R_2 jsou C_1 až C_8 alkyly nebo skupina obecného vzorce XVI:

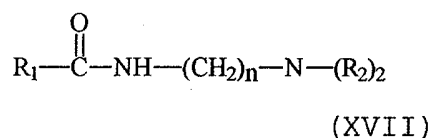


R_3 je buď C_6 až C_{12} , s výhodou C_6 až C_{10} , alkyl nebo R_3 je $\text{R}_4\text{X}(\text{CH}_2)_n$, kde X je $-\text{O}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ nebo $-\text{NH}-$, R_4 je C_4 až C_{12} , n je 1 až 5, s výhodou 2 až 3. R_5 je H nebo C_1 až C_2 alkyl a x je 1 až 6.

R_3 a R_4 jsou lineární nebo rozvětvené, R_3 je alkyl, který je případně přerušen až 12, s výhodou méně než 5, ethylenoxidovými skupinami.

Preferované terciární aminy jsou aminy typu $\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3\text{N}$, kde R_1 je C_6 až C_{12} alkyl, R_2 a R_3 jsou C_1 až C_3 nebo skupina obecného vzorce XVI, kde R_5 je H nebo CH_3 a $x = 1$ až 2.

Také jsou preferovány amidoaminy obecného vzorce XVII:



kde R_1 je C_6 až C_{12} alkyl, n je 2 až 4, s výhodou n je 3, R_2 a R_3 je C_1 až C_4 .

Nejpreferovanější aminy podle předkládaného vynálezu zahrnují 1-oktylamin, 1-hexylamin, 1-decylamin, 1-dodecylamin, C_8 až C_{10} oxypropylamin, N-koko-1,3-diaminopropan, (alkyl odvozený z kokosového oleje)dimethylamin, lauryldimethylamin, lauryl-bis(hydroxyethyl)amin, koko-bis(hydroxyethyl)amin, laurylamin propoxylovaný 2 moly, oktylamin propoxylovaný 2 moly, laurylamidopropyldimethylamin, C_8 až C_{10} amidopropyldimethylamin a C_{10} amidopropyldimethylamin.

Nejpreferovanější aminy určené pro použití v prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou 1-hexylamin, 1-oktylamin, 1-decylamin, 1-dodecylamin. Zejména žádaný je n-dodecyldimethylamin a bishydroxyethyl(alkyl odvozený z kokosového oleje)amin a sedmkrát ethoxylovaný oleylamin, laurylamidopropylamin a kokoamidopropylamin.

Péče o barvy a prospěšné účinky při péči o tkaniny

Do předkládaného vynálezu lze také zahrnout technologie, které poskytují určitý typ péče o barvy. Příklady takových technologií jsou kovové katalyzátory určené pro údržbu barev. Takové kovové katalyzátory jsou popsány ve společně projednávané evropské patentové přihlášce č. 92870181.2. Činidla fixující barvy, polyolefinové disperze proti mačkání a pro zlepšenou absorpci vody, vonná látka a aminofunkční polymer určený pro péči o barvy a vonná látka jsou další příklady technologií péče o barvy / péče o tkaniny a jsou popsány ve společně projednávané patentové přihlášce č. 968701140.9, podané 9. listopadu 1996.

Do pracích detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu lze také zahrnout činidla změkčující tkaniny. tato činidla jsou anorganického typu nebo organického typu. Příklady anorganických změkčujících činidel jsou smektitové hlínky uvedené v GB-A-1 400 898 a v USP 5,019,292. Organická změkčující činidla zahrnují ve vodě rozpustné terciární aminy, které jsou popsány v GB-A-1 514 276 a EP-B 0 011 340 a jejich kombinace s mono C12 až C14 kvarterními amoniiovými solemi, které jsou popsány v EP-B-0 026 527 a EP-B-0 026 528 a di(dlouhý řetězec)amidy, které jsou popsány v EP-B-0 242 919. Další použitelné organické složky do systému pro změkčování tkanin jsou polyethylenoxidové materiály o vysoké molekulové hmotnosti, které jsou popsány v EP-A-0 299 575 a 0 313 146.

Množství smektitové hlínky je normálně 2 % hmotnostní až 20 % hmotnostních, s výhodou 5 % hmotnostních až 15 % hmotnostních s tím, že materiál se přidává do zbytku prostředku ve formě suché směsné složky. Organická činidla na změkčování tkanin, jako jsou ve vodě nerozpustné terciární aminy nebo amidy se dvěma dlouhými řetězcí se používají v množství 0,5 % hmotnostních až 5 % hmotnostních, normálně 1 % hmotnostní až 3 % hmotnostní, zatímco polyethylenoxidy o vysoké molekulové hmotnosti a ve vodě rozpustné kationtové

materiály se přidávají v množstvích 0,1 % hmotnostních až 2 % hmotnostních, normálně 0,15 % hmotnostních až 1,5 % hmotnostních. Tyto materiály se normálně přidávají do té části prostředku, která se suší natřikáním, ačkoliv v některých případech je lepší přidat je jako suchou směs částic nebo je nastříkat jako roztavenou směs na nebo do pevných složek prostředku.

Chelatační činidla

Prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu nepovinně obsahují jedno nebo více činidel chelatujících železo a/nebo mangan. Taková chelatační činidla lze vybrat ze skupiny sestávající z aminokarboxylátů, aminofosfonátů, polyfunkčně substituovaných aromatických chelatačních činidel a jejich směsí, které jsou všechny dále definovány. Bez vazby na nějakou konkrétní teorii se předpokládá, že kladné účinky těchto materiálů jsou způsobeny částečně jejich výjimečnou schopností odebírat ionty železa a manganu z pracích roztoků tak, že vznikají cheláty.

Aminokarboxyláty použitelné jako nepovinná chelatační činidla zahrnují ethylendiamintetraacetáty, N-hydroxyethylendiamintetraacetáty, nitriltriacetáty, ethylendiamin tetrapropionáty, triethylentetraminhexacetáty, diethylentriaminpentaacetáty a ethanoldiglyciny, jejich soli s alkalickými kovy, amoniakem a substituovaných amoniakem a jejich směsí.

Pro použití v prostředcích podle předkládaného vynálezu, pokud jsou v detergentním prostředku povolena alespoň malá celková množství fosforu, jsou také vhodné aminofosfonáty zahrnující ethylendiamintetrakis(methylenfosfonáty) jako je DEQUEST. S výhodou tyto aminofosfonáty neobsahují alkyly nebo alkenyly delší než je 6 atomů uhlíku.

V prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou také použitelná polyfunkčně substituovaná aromatická chelatační činidla. Viz US patent 3,812,044, vydaný 21. května 1974,

Connor a kol. Preferované sloučeniny tohoto typu v kyselinové formě jsou dihydroxydisulfobenzeny, jako je 1,2-dihydroxy-3,5-disulfobenzen.

Preferované biologicky odbouratelné chelatační činidlo určené pro použití podle předkládaného vynálezu je ethylendiamindisukcinát (EDDS), zejména jeho [S,S] izomer, který je popsán v US patentu 4,704,233, 3. listopadu 1987, Hartman a Perkins.

Prostředky podle předkládaného vynálezu případně také jako chelatační činidla nebo koplnidla použitelná například s nerozpustnými plnidly, jako jsou zeolity, vrstvené křemičitany a podobně, obsahují ve vodě rozpustné soli methylglycindioktové kyseliny (MGDA) nebo její kyselinovou formu.

Pokud jsou použity, pak tato chelatační činidla obecně tvoří 0,1 % hmotnostních až 15 % hmotnostních detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu. Ještě výhodněji, pokud jsou použita, chelatační činidla tvoří 0,1 % hmotnostních až 3,0 % hmotnostních takových prostředků.

Činidlo tlumící vznik mydlin

Další nepovinnou složkou je činidlo tlumící vznik mydlin, jehož příkladem jsou silikony a směsi silikon - oxid křemičitý. Silikony lze obecně popsat jako alkylované polysiloxanové materiály, zatímco oxid křemičitý se normálně používá v jemně dělené formě, jejímž příkladem jsou aerogely oxidu křemičitého a hydrofobní oxidy křemičité různých typů. Tyto materiály lze použít jako částice, ve kterých je činidlo tlumící vznik mydlin s výhodou uvolnitelně zahrnuto do ve vodě rozpustného nebo ve vodě dispergovatelného, v zásadě povrchově neaktivního detergentního nepropustného nosiče. Alternativně lze činidlo tlumící vznik mydlin rozpustit nebo dispergovat v tekutém nosiči a aplikovat nastříkáním na jednu nebo více dalších složek.

Preferovaná silikonová činidla tlumící vznik mydlin jsou popsána v US patentu 3 933 672, Bartollota a kol. Další zvláště použitelná činidlo tlumící vznik mydlin jsou samo elulgující se silikonová činidla tlumící vznik mydlin, popsána v německé patentové přihlášce DTOS 2 646 126 vydané 28. dubna 1977. Příkladem takové sloučeniny je DC-544, komerčně dostupný od firmy Dow Corning, což je kopolymer siloxan-glykol. Zejména preferovaná činidla tlumící vznik mydlin jsou systémy činidel tlumících vznik mydlin obsahující směs silikonových olejů a 2-alkylalkanolů. Vhodné 2-alkylalkanol je 2-butyloktanol, který je komerčně dostupný pod obchodním názvem Isofol 12 R.

Takový systém tlumící vznik mydlin je popsán ve společně projednávané evropské patentové přihlášce č. 92870174.7 podané 10. listopadu 1992.

Zejména preferovaná silikonová činidla tlumící vznik mydlin jsou popsána ve společně projednávané evropské patentové přihlášce č. 92201649.8. Takové prostředky obsahují směsi silikon / oxid křemičitý v kombinaci s neporézním oxidem křemičitým, jako je Aerosil®.

Činidla tlumící vznik mydlin jsou normálně použita v množstvích 0,001 % hmotnostních až 2 % hmotnostní prostředku, s výhodou 0,01 % hmotnostních až 1 % hmotnostní.

Další složky

Lze použít i další složky používané v pracích detergentních prostředcích, jako jsou činidla uspendující nečistoty, činidla uvolňující nečistoty, optická zjasňovadla, abrasiva, baktericidy, látky bránící blednutí barev, barvicí činidla a/nebo zapouzďené nebo nezapouzďené vonné látky.

Zejména vhodné materiály pro zapouzďení jsou ve vodě rozpustné kapsule, které sestávají z matrice polysacharidových a polyhydroxylových sloučenin, které jsou popsány v GB 1,464,616. Další vhodné ve vodě rozpustné zapouzďující materiály jsou dextry odvozené z neželatinovaných esterů kyselin se škrobem, a to se substituovanými dikarboxylovými

kyselinami, které jsou popsány v US 3,455,838. Tyto dextrinové estery s kyselinami jsou, s výhodou, připravovány z takových škrobů, jako je kukuřičný, ze saga, z tapioky a bramborový. Vhodné příklady takových zapouzdřujících materiálů zahrnují N-Lok vyráběný firmou National Starch. N-Lok zapouzdřující materiál sestává z modifikovaného kukuřičného škrobu a glukosy. Škrob je modifikován přidáním monofunkčně substituovaných skupin, jako je anhydrid oktenyljantarové kyseliny.

Činidla bránící opětovnému usazování nečistot a činidla suspendující nečistoty podle předkládaného vynálezu zahrnují celulosové deriváty, jako je methylcelulosa, karboxymethylcelulosa a hydroxyethylcelulosa a homo- nebo kopolymerní polykarboxylové kyseliny nebo jejich soli. Polymery tohoto typu zahrnují polyakryláty a kopolymery anhydridu kyseliny maleinové a kyseliny akrylové, které již byly zmíněny jako plnidla, stejně jako kopolymery anhydridu kyseliny maleinové s ethylenem, methylvinyletherem nebo kyselinou methakrylovou, přičemž anhydrid kyseliny maleinové tvoří přinejmenším 20 molárních procent kopolymeru. Tyto materiály se normálně používají v množstvích 0,5 % hmotnostních až 10 % hmotnostních, ještě výhodněji 0,75 % hmotnostních až 8 % hmotnostních, nejvýhodněji 1 % hmotnostní až 6 % hmotnostních prostředku.

Preferovaná optická zjasňovadla jsou aniontového charakteru a jejich příklady jsou disodná sůl 4,4'-bis-(2-diethanolamino-4-anilino-s-triazin-6-ylamino)stilben-2:2'-disulfonátu, disodná sůl 4,4'-bis-(2-morfolino-4-anilino-s-triazin-6-ylamino)stilben-2:2'-disulfonátu, disodná sůl 4,4'-bis-(2,4-dianilino-s-triazin-6-ylamino)stilben-2:2'-disulfonátu, monosodná sůl 4',4''-(2,4-dianilino-s-triazin-6-ylamino)-stilben-2-sulfonátu, disodná sůl 4,4'-bis-(2-anilino-4-(N-methyl-N-2-hydroxyethylamino)-s-triazin-6-ylamino)stilben-2,2'-disulfonátu, disodná sůl 4,4'-bis-(4-fenyl-2,1,3-

-triazol-2-yl)stilben-2,2'-disulfonátu, disodná sůl 4,4'-bis-(2-anilino-4-(1-methyl-2-hydroxyethylamino)-s-triazin-6-yl-amino)stilben-2,2'-disulfonátu, sodná sůl 2-(stilbyl-4''-(nafto-1',2':4,5)-1,2,3-triazol-2''-sulfonátu a 4,4'-bis-(2-sulfostyryl)bifenyl. Vysoce preferovaná zjasňovadla jsou konkrétně zjasňovadla ze společně projednávané evropské patentové přihlášky č. 95201943.8.

Další použitelné polymerní materiály jsou polyethylenglykoly, zejména ty, které mají molekulovou hmotnost 1000 až 10 000, konkrétněji 2000 až 8000 a nejvýhodněji 4000. Ty se používají v množstvích 0,20 % hmotnostních až 5 % hmotnostních, výhodněji 0,25 % hmotnostních až 2,5 % hmotnostních. Tyto polymery a dříve uvedené soli homo- nebo kopolymerních polykarboxylátů jsou hodnotné pro zlepšení bělicích účinků a čisticích účinků na hlinku, protonovatelné a oxidovatelné nečistoty v přítomnosti nečistot z přechodných kovů.

Činidla uvolňující nečistoty použitelná v prostředcích podle předkládaného vynálezu jsou běžně používané kopolymery nebo terpolymery kyseliny tereftalové s ethylenglykolovými a/nebo propylenglykolovými jednotkami v různých uspořádáních. Příklady takových polymerů jsou popsány v US patentech č. 4116885 a 4711730 a evropské publikované patentové přihlášce č. 0 272 033. Konkrétní preferované polymery podle EP-A-0 272 033 jsou $(\text{CH}_3(\text{PEG})_{43})_{0,75}(\text{POH})_{0,25}[(\text{T-PO})_{2,8}(\text{T-PEG})_{0,4}]\text{T}(\text{PO-H})_{0,25}((\text{PEG})_{43}\text{CH}_3)_{0,75}$ kde PEG je $-(\text{OC}_2\text{H}_4)\text{O}-$, PO je $(\text{OC}_3\text{H}_6\text{O})$ a T je $(\text{pOC}_6\text{H}_4\text{CO})$.

Také jsou velmi použitelné modifikované polyestery jako náhodné kopolymery dimethyltereftalátu, dimethylsulfoisofthalátu, ethylenglykolu a 1,2-propandiolu, kdy koncové skupiny sestávají primárně ze sulfobenzoátu a sekundárně z monoesterů ethylenglykolu a/nebo propandiolu. Cílem je získání polymeru ukončeného na obou koncích sulfobenzoátovými skupinami, "primárně" v předkládaném kontextu znamená, že

většina kopolymerů podle předkládaného vynálezu je ukončena sulfobenzoátovými skupinami. Nicméně, některé kopolymery jsou méně než úplně ukončeny, a proto jejich koncové skupiny sestávají z monoesteru ethylenglykolu a/nebo propan-1,2-diolu, proto "sekundárně" označuje takové sloučeniny.

Vybrané polyestery podle předkládaného vynálezu obsahují 46 % hmotnostních kyseliny dimethyltereftalové, 16 % hmotnostních propan-1,2-diolu, 10 % hmotnostních ethylenglykolu, 13 % hmotnostních kyseliny dimethylsulfobenzoové a 15 % hmotnostních kyseliny sulfoisofthalové a mají molekulovou hmotnost 3000. Polyestery a jejich způsoby přípravy jsou podrobněji popsány v EPA 311 342.

V dané problematice je dobře známo, že volný chlór ve vodovodní vodě prudce deaktivuje enzymy obsažené v detergentních prostředcích. Proto použitím lapačů chlóru, jako je peroxyboritan, síran amonný, siřičitan sodný nebo polyethylenimin v množství 0,1 % hmotnostních celkového prostředku dojde ke zlepšení stability detergentních enzymů při praní. Prostředky obsahující lapače chlóru jsou popsány v evropské patentové přihlášce 92870018.6, podané 31. ledna 1992.

Alkoxylované polykarboxyláty, jako jsou ty, které se připravují z polyakrylátů, jsou použitelné podle předkládaného vynálezu pro lepší účinnost při odstraňování mastnot. takové materiály jsou popsány ve WO 91/08281 a PCT 90/01815 na str. 4 a následujících, které jsou zde uvedeny jako reference. Chemicky, tyto materiály zahrnují polyakryláty, které mají jeden ethoxylový postranní řetězec na každých 7 až 8 akrylátových jednotek. Postranní řetězce jsou $-(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_nCH_3$, kde m je 2 až 3 a n je 6 až 12. Postranní řetězce jsou připojeny esterově k polyakrylátovému základnímu řetězci, čímž vzniká polymerní struktura typu "hřebenu". Molekulová hmotnost se mění, ale typicky je v rozsahu 2000 až 50 000. Takové alkoxylované polykarboxyláty obsahují 0,05 %

hmotnostních až 10 % hmotnostních prostředků podle předkládaného vynálezu.

Dispergátory

Prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu také obsahují dispergátory. Vhodné ve vodě rozpustné organické soli jsou homo- nebo kopolymery kyselin nebo jejich solí, ve kterých polykarboxylová kyselina zahrnuje přinejmenším dva karboxylové zbytky oddělené jeden od druhého ne více než dvěma atomy uhlíku. Polymery tohoto typu jsou popsány v GB-A-1,596,756. Příklady takových solí jsou polyakryláty o molekulové hmotnosti 2000 až 5000 a jejich kopolymery s anhydridem kyseliny maleinové, které mají molekulovou hmotnost 1000 až 100 000.

Zejména lze do pracích detergentních prostředků podle předkládaného vynálezu přidat kopolymer akrylátu a methakrylátu jako je 480N o molekulové hmotnosti 4000 v množství 0,5 % hmotnostních až 20 % hmotnostních prostředku.

Prostředky podle předkládaného vynálezu případně obsahují peptizátorovou sloučeninu pro jádrové mýdlo, která má s výhodou disperzní sílu pro jádrové mýdlo (LSDP), která je definována v předkládaném vynálezu, ne vyšší než 8, s výhodou ne vyšší než 7, nejvýhodněji ne více než 6. Peptizátorová sloučenina pro jádrové mýdlo je s výhodou použita v množství 0 % hmotnostních až 20 % hmotnostních.

Číselné měření účinnosti peptizátoru pro jádrové mýdlo je dáno disperzní silou pro jádrové mýdlo (LSDP), která se stanovuje disperzním testem pro jádrové mýdlo, který je popsán v článku H.C. Boghetty a C.A. Bergman, J. Am. Oil. Chem. Soc., sv. 27, strany 88 až 90, (1950). Tento disperzní test pro jádrové mýdlo odborníci v dané problematice široce využívají, viz například následující přehledné články, W.N. Linfield, Surfactant Science Series, sv. 7, str. 3, W.N. Linfield, Tenside surf. det., sv. 27, strany 159 až 163 (1990) a M.K. Nagarajan, W.F. Masler, Cosmetics and Toiletries, sv.

104, strany 71 až 73 (1989). LSDP je % hmotnostní poměr disperzního činidla ku oleátu sodnému potřebnému pro disperzi usazeniny jádrového mýdla vzniklé 0,025 g oleátu sodného ve 30 ml vody o tvrdosti 333 ppm CaCO_3 ($\text{Ca} : \text{Mg} = 3 : 2$) ekvivalentu.

Tenzidy, které mají dobrou schopnost peptizace jádrového mýdla, zahrnují některé aminoxidy, betainy, sulfobetainy, alkylethoxysulfáty a ethoxylované alkoholy.

Příklady tenzidů, které mají LSDP ne vyšší než 8 určených pro použití podle předkládaného vynálezu zahrnují C_{16} až C_{18} dimethylaminoxidy, C_{12} až C_{18} alkylethoxysulfáty se středním stupněm ethoxylace 1 až 5, zejména C_{12} až C_{15} alkylethoxysulfátové tenzidy se stupněm ethoxylace 3 (LSDP = 4) a C_{14} až C_{15} ethoxylované alkoholy se středním stupněm ethoxylace buď 12 (LSDP = 6) nebo 30, prodávané pod obchodními názvy Lutensol A012 a Lutensol A030 firmou BASF GmbH.

Polymerní peptizátory jádrového mýdla vhodné pro použití podle předkládaného vynálezu jsou popsány v článku M.K. Nagarajan, W.F. Masler, Cosmetics and Toiletries, svazek 104, strany 71 až 73 (1989).

Také lze jako sloučeniny peptizující jádrové mýdlo použít hydrofobní bělidla, jako je 4-[N-oktanoyl-6-aminohexanoyl]-benzensulfonát, 4-[N-nonanoyl-6-aminohexanoyl]benzensulfonát, 4-[N-dekanoyl-6-aminohexanoyl]benzensulfonát a jejich směsi a nonanoyloxybenzensulfonát spolu s hydrofilními / hydrofobními bělicími prostředky.

Tlumení přenosu barev

Prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu také obsahují sloučeniny tlumící přenos barev z jedné tkaniny na druhou vznikajícímu při solubilizaci a suspendování barviv během praní barevných tkanin.

Polymerní činidla tlumící přenos barev

Prací detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu také obsahují 0,001 % hmotnostních až 10 % hmotnostních, s

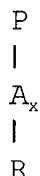
výhodou 0,01 % hmotnostních až 2 % hmotnostní, ještě výhodněji 0,05 % hmotnostních až 1 % hmotnostní polymerních činidel tlumících přenos barev. Tato polymerní činidla tlumící přenos barev se normálně používají do pracích detergentních prostředků, aby se zabránilo přenosu barviv z barevných tkanin na jiné tkaniny, které se perou zároveň s nimi. Tyto polymery mají schopnost komplexovat nebo adsorbovat nestálá barviva, která se vypírají z barvených tkanin dříve než dojde k obarvení dalších tkanin v pracím roztoku.

Zejména vhodná polymerní činidla tlumící přenos barev jsou polyamin-N-oxidové polymery, kopolymery N-vinylpyrrolidonu a N-vinylimidazolu, polyvinylpyrrolidonové polymery, polyvinylloxazolidony a polyvinylimidazoly nebo jejich směsi.

Přidání takových polymerů také zlepší účinnost enzymů podle předkládaného vynálezu.

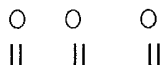
a) polyamin-N-oxidové polymery

Polyamin-N-oxidové polymery vhodné pro použití podle předkládaného vynálezu obsahují jednotky obecného vzorce XVIII:



(XVIII)

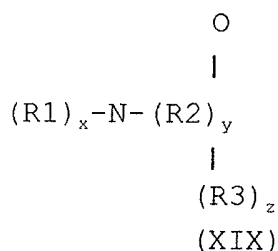
kde P je polymerovatelná jednotka, ke které je připojena skupina R-N-O nebo kde skupina R-N-O tvoří část polymerovatelné jednotky nebo kombinace obojího,



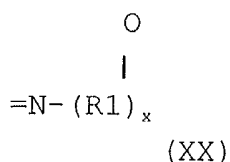
A je NC, CO, C, -O-, -S-, -N-, x je 0 nebo 1,

R jsou alifatické, ethoxylované alifatické, aromatické, heterocyklické nebo alicyklické skupiny nebo jakákoliv jejich kombinace, ke které je dusík skupiny N-O připojen nebo, ve které je dusík skupiny N-O částí těchto skupin.

Skupina N-O je skupina obecného vzorce XIX:



nebo XX:



kde R1, R2 a R3 jsou alifatické skupiny, aromatické, heterocyklické nebo alicyklické skupiny nebo jejich kombinace, x a/nebo y a/nebo z je 0 nebo 1 a dusík skupiny N-O je k nim připojen nebo dusík skupiny N-O tvoří část těchto skupin.

Skupina N-O je částí polymerovatelné jednotky (P) nebo je připojen k polymernímu základnímu řetězci nebo se jedná o kombinaci obojího.

Vhodné polyamin-N-oxidy, ve kterých skupina N-O tvoří část polymerovatelné jednotky, zahrnují polyamin-N-oxidy ve kterých R je vybráno z alifatických, aromatických, alicyklických nebo heterocyklických skupin.

Jedna skupina těchto polyamin-N-oxidů zahrnuje skupinu polyamin-N-oxidů, ve kterých dusík skupiny N-O tvoří část skupiny R. Preferované polyamin-N-oxidy jsou takové, ve kterých R je heterocyklická skupina jako je pyridin, pyrrol, imidazol, pyrrolidin, piperidin, chinolin, akridin a jejich deriváty.

Další skupina polyamin-N-oxidů zahrnuje skupinu polyamin-N-oxidů, ve kterých je dusík skupiny N-O připojen ke skupině R.

Další vhodné polyamin-N-oxidy jsou polyaminoxidy, ve kterých je skupina N-O připojena k polymerovatelné jednotce.

Preferovaná skupina těchto polyamin-N-oxidů jsou polyamin-N-oxidy obecného vzorce XVIII, kde R jsou aromatické,

heterocyklické nebo alicyklické skupiny, ve kterých je dusík funkční skupiny N-O částí skupin R.

Příklady těchto skupin jsou polyaminoxidy, ve kterých R je heterocyklická sloučenina, jako je pyridin, pyrrol, imidazol a jejich deriváty.

Další preferovanou skupinou polyamin-N-oxidů jsou polyaminoxidy obecného vzorce XVIII, ve kterých R jsou aromatické, heterocyklické nebo alicyklické skupiny, ve kterých je dusík funkční skupiny N-O připojen ke skupinám R.

Příklady této skupiny jsou polyaminoxidy, ve kterých jsou skupiny R aromatické, jako je fenyl.

Lze použít jakýkoliv polymerní základní řetězec, pokud je vzniklý aminoxidový polymer ve vodě rozpustný a působí proti přenosu barviv. Příklady vhodných polymerních základních řetězců jsou polyvinyl, polyalkyleny, polyestery, polyethery, polyamidy, polyimidy, polyakryláty a jejich směsi.

Amin-n-oxidové polymery podle předkládaného vynálezu mají typicky poměr aminu ku amin-N-oxidu 10 : 1 až 1 : 1 000 000. Nicméně množství aminoxidových skupin přítomných v polyaminoxidovém polymeru se mění podle příslušného kopolymerace nebo podle příslušného stupně N-oxidace. S výhodou je poměr aminu ku amin-N-oxidu 2 : 3 až 1 : 1 000 000. Ještě výhodněji je 1 : 4 až 1 : 1 000 000, nejvýhodněji 1 : 7 až 1 : 1 000 000. Polymery podle předkládaného vynálezu zahrnují náhodné nebo blokové kopolymery, ve kterých je jedním typem monomeru amin-N-oxid a dalším typem monomeru je nebo není amin-N-oxid. Aminoxidová jednotka polyamin-N-oxidů má $pK_a < 10$, s výhodou $pK_a < 7$, nejvýhodněji $pK_a < 6$.

Polyaminoxidy lze získat většinou v jakémkoliv stupni polymerace. Stupeň polymerace není pro materiál kritický pokud má požadovanou rozpustnost ve vodě a příslušnou sílu suspendovat barviva.

Typicky je střední molekulová hmotnost 500 až 1 000 000, s výhodou 1000 až 50 000, ještě výhodněji 2000 až 30 000 a nejvýhodněji 3000 až 20 000.

b) kopolymery N-vinylpyrrolidonu a N-vinylimidazolu

N-vinylimidazol / N-vinylpyrrolidonové polymery použité v předkládaném vynálezu mají střední molekulovou hmotnost 5000 až 1 000 000, s výhodou 5000 až 200 000.

Vysoce preferované polymery určené pro použití v detergentních prostředcích podle předkládaného vynálezu zahrnují polymer vybraný z N-vinylimidazol / N-vinylpyrrolidonových kopolymerů, ve kterých má polymer střední molekulovou hmotnost 5000 až 50 000, ještě výhodněji 8000 až 30 000, nejvýhodněji 10 000 až 20 000.

Střední molekulová hmotnost se zjišťuje rozptylem světla, který je popsán v práci Barth, H.G. a Mays J.W., Chemical Analysis sv. 113, "Modern Methods of Polymer Characterization".

Vysoce preferované N-vinylimidazol / N-vinylpyrrolidonové kopolymery mají střední molekulovou hmotnost 5000 až 50 000, výhodněji 8000 až 30 000 a nejvýhodněji 10 000 až 20 000.

N-vinylimidazol / N-vinylpyrrolidonové kopolymery o uvedené střední molekulové hmotnosti poskytují vynikající výsledky při tlumení přenosu barviv a neovlivňují negativně čisticí účinek detergentních prostředků, ve kterých jsou obsaženy.

N-vinylimidazol / N-vinylpyrrolidonové kopolymery podle předkládaného vynálezu mají molární poměr N-vinylimidazolu ku N-vinylpyrrolidonu 1 až 0,2, výhodněji 0,8 až 0,3 a nejvýhodněji 0,6 až 0,4.

c) Polyvinylpyrrolidon

Detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu také využívají polyvinylpyrrolidon ("PVP") o střední molekulové hmotnosti 2500 až 400 000, s výhodou 5000 až 200 000, výhodněji 5000 až 50 000 a nejvýhodněji 5000 až 15 000. Vhodné polyvinylpyrrolidony jsou komerčně dostupné od firmy ISP

Corporation, New York, NY a Montreal, Kanada pod obchodními názvy PVP K-15 (viskozitní molekulová hmotnost 10 000), PVP K-30 (střední molekulová hmotnost 40 000), PVP K-60 (střední molekulová hmotnost 160 000) a PVP K-90 (střední molekulová hmotnost 360 000). Další vhodné polyvinylpyrrolidony, které jsou komerčně dostupné od firmy BASF Corporation, zahrnují Sokalan HP 165 a Sokalan HP 12 a dále polyvinylpyrrolidony známé odborníkům v problematice detergentů (viz například EP-A-262,897 a EP-A-256,696).

d) Polyvinylloxazolidon

Detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu také využívají jako činidlo tlumící přenos barviv polyvinylloxazolidon. Polyvinylloxazolidony mají střední molekulovou hmotnost 2500 až 400 000, s výhodou 5000 až 200 000, ještě výhodněji 5000 až 50 000 a nejvýhodněji 5000 až 15 000.

e) Polyvinylimidazol

Detergentní prostředky podle předkládaného vynálezu také využívají jako činidlo tlumící přenos barviv polyvinylimidazol. Tyto polyvinylimidazoly mají střední molekulovou hmotnost 2500 až 400 000, s výhodou 5000 až 200 000, ještě výhodněji 5000 až 50 000 a nejvýhodněji 5000 až 15 000.

f) Zesítňované polymery

Zesítňované polymery jsou polymery jejichž základní řetězce jsou do určité míry propojeny, tato spojení jsou chemické nebo fyzikální povahy, třeba s aktivními skupinami na základním řetězci nebo na rozvětveních, zesítňované polymery byly popsány v Journal of Polymer Science, svazek 22, strany 1035 až 1039.

V jednom provedení byly zesítňované polymery vyrobeny tak, že vytvořily trojrozměrnou pevnou strukturu, která uvězní barviva v pórech tvořených touto trojrozměrnou strukturou. V dalším provedení zachycují zesítňované polymery barviva bobtnáním.

Takové zesíťované polymery jsou popsány ve společně projednávané patentové přihlášce 94870213.9.

Příklady provedení vynálezu

Způsob praní

Prostředky podle předkládaného vynálezu lze použít v zásadě při jakémkoliv pracím nebo čisticím způsobu, včetně namáčení, předpírání a způsobech, které zahrnují máchání, při kterém se přidává zvláštní složka určená do máchání.

Postup popsáný v předkládaném vynálezu zahrnuje uvedení tkaniny do kontaktu s pracím roztokem obvyklým způsobem a blíže je popsán v následujících příkladech.

Postup podle předkládaného vynálezu se běžně provádí jako čisticí postup. Čištění se s výhodou provádí při teplotě 5 °C až 95 °C, zejména 10 °C až 60 °C. pH vzniklého roztoku je s výhodou 7 až 11. S výhodou bude mít práci detergentní složka podle předkládaného vynálezu ve formě 1% roztoku ve vodě, vyjádřeno v procentech hmotnostních, phodnotu pH 7 až 9,5 (díky čemuž se označuje jako "alkalický" detergent).

Následující příklady jsou zamýšleny jako přiblížení prostředků podle předkládaného vynálezu, ale neznamenají žádné omezení nebo jinou definici rámce předkládaného vynálezu.

Množství enzymů jsou v detergentních prostředcích vyjádřena jako hmotnost čistého enzymu ve hmotnosti celkového prostředku a pokud není uvedeno jinak, složky detergentu jsou vyjádřeny ve formě hmotnosti celkových složek. Zkratky složek mají následující význam:

LAS	: lineární C ₁₁ až C ₁₃ alkylbenzen sulfonát sodný
TAS	: (alkyl odvozený z loje)sulfát sodný
CxyAS	: C _{1x} až C _{1y} alkylsulfát sodný
CxySAS	: C _{1x} až C _{1y} sekundární(2,3)sulfát sodný
CxyEz	: C _{1x} až C _{1y} hlavně lineární primární alkohol kondenzovaný průměrně se z moly ethylenoxidu

- CxyEzS : C_{1x} až C_{1y} alkylsulfát sodný kondenzovaný průměrně se z moly ethylenoxidu
- QAS : $R_2 \cdot N^+ (CH_3)_2 (C_2H_4OH)$ s $R_2 = C_{12}$ až C_{14}
- QAS 1 : $R_2 \cdot N^+ (CH_3)_2 (C_2H_4OH)$ s $R_2 = C_8$ až C_{11}
- APA : C_8 až C_{10} amidopropyldimethylamin
- Mýdlo : Lineární alkylkarboxylát sodný odvozený ze směsi 80/20 mastných kyselin z loje a kokosového oleje
- Neionogenní: C_{13} až C_{15} směsně ethoxylovaný/propoxylovaný mastný alkohol s průměrným stupněm ethoxylace 3,8 a průměrným stupněm propoxylace 4,5
- Neodol 45-13: C_{14} - C_{15} lineární primární alkohol ethoxylát, prodáváný firmou Shell Chemical Co.
- Quat : kvarterní tenzid vybraný z jednoho nebo více následujících: lauryltrimethylamoniumchlorid, myristyltrimethylamoniumchlorid, palmityltrimethylamoniumchlorid, (alkyl odvozený z kokosového oleje)-trimethylamoniumchlorid, (alkyl odvozený z kokosového oleje)trimethylamoniummethylsulfát, (alkyl odvozený z kokosového oleje)dimethylmonohydroxyethylamoniumchlorid, (alkyl odvozený z kokosového oleje)dimethylmonohydroxyethylamoniummethylsulfát, stearyldimethylmonohydroxyethylamoniumchlorid, stearyldimethylmonohydroxyethylamoniummethylsulfát, di- C_{12} až C_{14} alkyl dimethylamoniumchlorid
- STS : toluensulfonát sodný
- CFAA : C_{12} až C_{14} alkyl N-methylglukamin
- TFAA : C_{16} až C_{18} alkyl N-methylglukamin
- TPKFA : C_{12} až C_{14} ukončené, zcela rozštěpené mastné kyseliny
- DEQA : di(alkyl odvozený z loje - oxyethyl)dimethylamoniumchlorid
- DEQA(2) : di(alkyl odvozený z loje - oxyethyl)hydroxyethyl-dimethylamoniummethylsulfát
- DTDMAMS : di(alkyl odvozený z loje)dimethylamonium-

methylsulfát

SDASA : stearyldimethylamin : trojitě stlačení kyselina
stearová v poměru 1 : 2

Křemičitan: amorfni křemičitan sodný (poměr SiO_2 : NaO_2 = 1,6
až 3,2)

Zeolit A : hydratovaný hlinitokřemičitan sodný
 $\text{Na}_{12}(\text{AlO}_2\text{SiO}_2)_{12} \cdot 27\text{H}_2\text{O}$ lehož velikost částic je
0,1 mikrometr až 10 mikrometrů (hmotnost je
vyjádřena na bezvodém základě)

Na-SKS-6 : krystalický vrstvený křemičitan $\delta\text{-Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$

Citrát : dihydrát citrátu trisodného o aktivitě 86,4 % a
velikosti částic 425 mikrometrů až 850 mikrometrů

Boritan : boritan sodný

Uhličitan : bezvodý uhličitan sodný s velikostí částic
200 mikrometrů až 900 mikrometrů

Hydrogen-

uhličitan : bezvodý hydrogenuhličitan sodný s velikostí částic
400 mikrometrů až 1200 mikrometrů

Síran : bezvodý síran sodný

Mg síran : bezvodý síran hořečnatý

STPP : polyfosforečnan trisodný

TSPP : pyrofosforečnan tetrasodný

MA/AA : náhodný kopolymer akrylátu s maleátem v poměru
4 : 1 se střední molekulovou hmotností 70 000 až
80 000

MA/AA 1 : náhodný kopolymer akrylátu s maleátem v poměru
6 : 4 se střední molekulovou hmotností 10 000

AA : polymer polyakrylátu sodného se střední
molekulovou hmotností 4 500

PB1 : bezvodý monohydrát peroxyboritanu sodného $\text{NaBO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$

PB4 : bezvodý tetrahydrát peroxyboritanu sodného
 $\text{NaBO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2$

Peroxy-

uhličitan : bezvodý peroxyuhličitan sodný $2\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}_2$
 NaDCC : dichlorisokyanurát sodný
 TAED : tetraacetylethylendiamin
 NOBS : nonanoyloxybenzensulfonát ve formě sodné soli
 NACA-OBS : (6-nonamidokaproyl)oxybenzensulfonát
 DTPA : diethylentriaminpentaoctová kyselina
 HEDP : 1,1-hydroxyethandifosfonová kyselina
 DETPMP : diethyltriaininpenta(methylen)fosfonát prodáváný firmou Monsanto pod obchodním názvem Dequest 2060
 EDDS : ethylendiamin-N,N'-dijantarová kyselina, (S,S)izomer ve formě sodné soli

Fotoaktivované

bělidlo : sulfonovaný zinečnatý ftalocyanin zapouzdřený v dextrinovém rozpustném polymeru

Fotoaktivované

bělidlo 1: sulfonovaný hlinitý ftalocyanin zapouzdřený v dextrinovém rozpustném polymeru

PAAC : pentaaminacetát kobaltitý

Mananasa : mananasa prodáváná pod obchodním názvem Gamanasa® firmou Novo Nordisk A/S a/nebo galaktomanasa extrahovaná z enzymového produktu prodáváného pod obchodním názvem Rohapec® B1L firmou Rohm

Alkalická

mananasa : mananasa z *Bacillus agaradherens*, NCIMB 40482

Proteasa : proteolytický enzym prodáváný pod obchodním názvem Savinasa, Alcalasa, Durazym firmou Novo Nordisk A/S, Maxacal, Maxapem prodáváný firmou Gist-Brocades a proteasy posané v patentech WO91/06637 a/nebo WO95/10591 a/nebo EP 251 446.

Amylasa : amylolytický enzym prodáváný pod obchodním názvem Purafact OX Am® popsáný ve WO94/18314, WO96/05265 prodáváný firmou Genencor, Termamyl®, Fungamyl® a Duramyl®, které jsou všechny dostupné od firmy Novo Nordisk A/S a dále ty, které jsou popsány ve

W095/26397

Lipasa : lipolytický enzym prodáváný pod obchodním názvem Lipolase, Lipolase Ultra firmou Novo Nordisk A/S a Lipomax prodáváný firmou Gist-Brocades.

Celulasa : celulytický enzym prodáváný pod obchodním názvem Carezym, Celuzym, a/nebo Endolase firmou Novo Nordisk A/S

CMC : karboxymethylcelulosa sodná

PVP : polyvinylový polymer se střední molekulovou hmotností 60 000

PVNO : polyvinylpyridin-N-oxid se střední molekulovou hmotností 50 000

PVPVI : kopolymer vinylimidazolu a vinylpyrrolidonu se střední molekulovou hmotností 20 000

Zjasňovadlo 1: 4,4'-bis(2-sulfostyryl)bifenyl disodný

Zjasňovadlo 2: 4,4'-bis(4-anilin-6-morfolin-1,3,5-triazin-2-yl)stilben-2,2'-disulfonát disodný

Silikonové

čínidlo proti

pěnění : polydimethylsiloxanové čínidlo tlumící pěnění se siloxanoxyalkylenovým kopolymerem jako disperzním čínidlem s poměrem čínidla tlumícího pěnění k disperznímu čínidlu 10 : 1 až 100 : 1

Čínidlo

tlumící vznik

mydlin : 12% silikon/oxid křemičitý, 18% stearylalkohol, 70% škrob v granulované formě

Čínidlo

způsobující

zákal : na vodě založená monostyrenlatexová směs, prodávána firmou BASF Aktiengesellschaft pod obchodním názvem Lytron 621

SRP 1 : aniontově ukončené poylestery

SRP 2 : diethoxylovaný poly(1,2-propylentereftalátový)

krátký blokový polymer

QEA : $\text{bis}((\text{C}_2\text{H}_5\text{O})(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n)(\text{CH}_3)-\text{N}^+-\text{C}_6\text{C}_{12}-\text{N}^+(\text{CH}_3)$

$\text{bis}((\text{C}_2\text{H}_5\text{O})(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}))_n$, kde $n = 20$ až 30

PEI : polyethylenimin se střední molekulovou hmotností
1800 a středním stupněm ethoxylace 7

Polymer A : modifikované polyaminy PEI ($M_r = 182$) se středním
stupněm ethoxylace = 15

Polymer B : modifikované polyaminy PEI ($M_r = 600$) se středním
stupněm ethoxylace = 20

Polyamid-

polyamin : polyamidové polyaminy podle předkládaného vynálezu
jsou komerčně prodávány pod obchodními názvy: Kymen[®],
Kymen 557H[®], Kymen 557LX[®], Reten[®] a Cartaretin[®]

SCS : kumensulfonát sodný

HMWPEO : polyethylenoxid o vysoké molekulové hmotnosti

PEG_x : polyethylenglykol o molekulové hmotnosti x

PEO : polyethylenoxid se střední molekulovou hmotností
5 000

TEPAE : tetraethylenpentamin ethoxylát

Příklad 1

Následující prací detergentní prostředky o vysoké hustotě
byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV	V	VI
LAS	8,0	8,0	8,0	2,0	6,0	6,0
TAS	-	0,5	-	0,5	1,0	0,1
C46(S)AS	2,0	2,5	-	-	-	-
C25AS	-	-	-	7,0	4,5	5,5
C68AS	2,0	5,0	7,0	-	-	-
C25E5	-	-	3,4	10,0	4,6	4,6
C25E7	3,4	3,4	1,0	-	-	-
C25E3S	-	-	-	2,0	5,0	4,5
QAS	-	0,8	-	-	-	-
QAS 1	-	-	-	0,8	0,5	1,0
Zeolit A	18,1	18,0	14,1	18,1	20,0	18,1
Citronová k.	-	-	-	2,5	-	2,5

Uhličitan	13,0	13,0	27,0	10,0	10,0	13,0
Na-SKS-6	-	-	-	10,0	-	10,0
Křemičitan	1,4	1,4	3,0	0,3	0,5	0,3
Citrát	-	1,0	-	3,0	-	-
Síran	26,1	26,1	26,1	6,0	-	-
Mg síran	0,3	-	-	0,2	-	0,2
MA/AA	0,3	0,3	0,3	4,0	1,0	1,0
CMC	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4
PB4	9,0	9,0	5,0	-	-	-
Peroxy- uhličitan	-	-	-	-	18,0	18,0
TAED	1,5	0,4	1,5	-	3,9	4,2
NACA-OBS	-	2,0	1,0	-	-	-
DETPMP	0,25	0,25	0,25	0,25	-	-
SRP 1	-	-	-	0,2	-	0,2
EDDS	-	0,25	0,4	-	0,5	0,5
CFAA	-	1,0	-	2,0	-	-
HEDP	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4
QEA	-	-	-	0,2	-	0,5
Mananasa	0,005	0,002	0,0008	0,001	0,002	0,001
Proteasa	0,009	0,009	0,01	0,04	0,05	0,03
Amylasa	0,002	0,002	0,002	0,006	0,008	0,008
Celulasa	0,0007	-	-	0,0007	0,0007	0,0007
Lipasa	0,006	-	-	0,01	0,01	0,01
Fotoaktivované bělidlo (ppm)	15	15	15	-	20	20
PVNO/PVPVI	-	-	-	0,1	-	-
Zjasňovadlo 1	0,09	0,09	0,09	-	0,09	0,09
Vonná látka	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4
Silikonové čínidlo proti pění	0,5	0,5	0,5	-	0,3	0,3
Hustota v g/l	850	850	850	850	850	850
Různé a malé zbytky				Zbytek do 100 %		

Příklad 2

Následující granulované prací detergentní prostředky, které jsou použitelné zejména při podmínkách praní v evropské pračce, byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV	V	VI
LAS	5,5	7,5	5,0	5,0	6,0	7,0
TAS	1,25	1,9	-	0,8	0,4	0,3
C24AS/C25AS	-	2,2	5,0	5,0	5,0	2,2
C25E3S	-	0,8	1,0	1,5	3,0	1,0
C45E7	3,25	-	-	-	-	3,0
TFAA	-	-	2,0	-	-	-
C25E5	-	5,5	-	-	-	-
QAS	0,8	-	-	-	-	-
QAS 1	-	0,7	1,0	0,5	1,0	0,7
STPP	19,7	-	-	-	-	-
Zeolit A	-	19,5	25,0	19,5	20,0	17,0
NaSKS-6/citrónová kyselina (79:21)	-	10,6	-	10,6	-	-
Na-SKS-6	-	-	9,0	-	10,0	10,0
Uhličitan	6,1	21,4	9,0	10,0	10,0	18,0
Hydrogen-uhličitan	-	2,0	7,0	5,0	-	2,0
Křemičitan	6,8	-	-	0,3	0,5	-
Citrát	-	-	4,0	4,0	-	-
Síran	39,8	-	-	5,0	-	12,0
Mg síran	-	-	0,1	0,2	0,2	-
MA/AA	0,5	1,6	3,0	4,0	1,0	1,0
CMC	0,2	0,4	1,0	1,0	0,4	0,4
PB4	5,0	12,7	-	-	-	-
Peroxy-uhličitan	-	-	-	-	18,0	15,0
TAED	0,5	3,1	-	-	5,0	-
NACA-OBS	1,0	3,5	-	-	-	2,5
DETPMP	0,25	0,2	0,3	0,4	-	0,2
HEDP	-	0,3	-	0,3	0,3	0,3
QEA	-	-	1,0	1,0	1,0	-
Mananasa	0,005	0,002	0,008	0,005	0,002	0,001
Proteasa	0,009	0,03	0,03	0,05	0,05	0,02

Lipasa	0,003	0,003	0,006	0,006	0,006	0,004
Celulasa	0,0006	0,0006	0,0005	0,0005	0,0007	0,0007
Amylase	0,002	0,002	0,006	0,006	0,01	0,003
PVNO/PVPVI	-	-	0,2	0,2	-	-
PVP	0,9	1,3	-	-	-	0,9
SRP 1	-	-	0,2	0,2	0,2	-
Fotoaktivované bělidlo (ppm)	15	27	-	-	20	20
Fotoaktivované bělidlo 1 (ppm)	15	-	-	-	-	-
Zjasňovadlo 1	0,08	0,2	-	-	0,09	0,15
Zjasňovadlo 2	-	0,04	-	-	-	-
Vonná látka	0,3	0,5	0,4	0,3	0,4	0,3
Silikonové čínidlo proti pění	0,5	2,4	0,3	0,5	0,3	2,0
Hustota v g/l	750	750	750	750	750	750
Různé a malé zbytky	Zbytek do 100 %					

Příklad 3

Následující detergentní prostředky, které jsou použitelné zejména při podmínkách praní v evropské pračce, byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV	V	VI
Foukaný prášek						
LAS	6,0	5,0	11,0	11,0	6,0	6,0
TAS	2,0	-	-	-	2,0	2,0
Zeolit A	24,0	-	-	-	20,0	20,0
STPP	-	27,0	24,0	24,0	-	-
Síran	4,0	6,0	13,0	13,0	-	-
MA/AA	1,0	4,0	6,0	6,0	2,0	2,0
Křemičitan	1,0	7,0	3,0	3,0	3,0	3,0
CMC	1,0	1,0	0,5	0,5	0,6	0,6
Zjasňovadlo 1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Silikonové čínidlo proti pění	1,0	1,0	1,0	1,0	0,3	0,3
DETPMP	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4	0,4

Nastříkáno						
Zjasňovadlo	0,02	-	-	-	0,02	0,02
C45E7	-	-	-	-	5,0	5,0
C45E2	2,5	2,5	2,0	2,0	-	-
C45E3	2,6	2,5	2,0	2,0	-	-
Vonná látka	0,5	0,3	0,5	0,5	0,2	0,2
Silikonové činidlo proti pěnění	0,3	0,3	0,3	0,3	-	-
Suchá aditiva						
QEA	-	-	-	-	1,0	1,0
EDDS	0,3	-	-	-	-	-
Síran	2,0	3,0	5,0	5,0	10,0	10,0
Uhličitan	6,0	13,0	15,0	15,0	14,0	14,0
Citrónová k.	2,5	-	-	-	2,0	2,0
QAS 1	0,5	-	-	-	0,5	0,5
Na-SKS-6	10,0	-	-	-	-	-
Peroxy- uhličitan	18,5	-	-	-	-	-
PB4	-	18,0	10,0	10,0	21,5	21,5
TAED	2,0	2,0	-	-	2,0	2,0
NACA-OBS	3,0	2,0	4,0	4,0	-	-
Mananasa	0,005	0,002	0,0008	-	0,001	-
Alkalická mananasa	-	-	-	0,001	-	0,002
Proteasa	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Lipasa	0,008	0,008	0,008	0,008	0,004	0,004
Amylase	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
Zjasňovadlo 1	0,05	-	-	-	0,05	0,05
Různé a malé zbytky						
						Zbytek do 100 %

Příklad 4

Následující granulované detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV	V	VI
Foukaný prášek						
LAS	23,0	8,0	7,0	9,0	7,0	7,0
TAS	-	-	-	-	1,0	-

C45AS	6,0	6,0	5,0	8,0	-	-
C45AES	-	1,0	1,0	1,0	-	-
C45E35	-	-	-	-	2,0	4,0
Zeolit A	10,0	18,0	14,0	12,0	10,0	10,0
MA/AA	-	0,5	-	-	-	2,0
MA/AA 1	7,0	-	-	-	-	-
AA	-	3,0	3,0	2,0	3,0	3,0
Síran	5,0	6,3	14,3	11,0	15,0	19,3
Křemičitan	10,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Uhličitan	15,0	20,0	10,0	20,7	8,0	6,0
PEG 4000	0,4	1,5	1,5	1,0	1,0	1,0
DTPA	-	0,9	0,5	-	-	0,5
Zjasňovadlo 2	0,3	0,2	0,3	-	0,1	0,3
Nastříkáno						
C45E7	-	2,0	-	-	2,0	2,0
C25E9	3,0	-	-	-	-	-
C23E9	-	-	1,5	2,0	-	2,0
Vonná látka	0,3	0,3	0,3	2,0	0,3	0,3
Aglomeráty						
C45AS	-	5,0	5,0	2,0	-	5,0
LAS	-	2,0	2,0	-	-	2,0
Zeolit A	-	7,5	7,5	8,0	-	7,5
Uhličitan	-	4,0	4,0	5,0	-	4,0
PEG 4000	-	0,5	0,5	-	-	0,5
Různé (voda atd.)	-	2,0	2,0	2,0	-	2,0
Suchá aditiva						
QAS	-	-	-	-	1,0	-
Citrónová k.	-	-	-	-	2,0	-
PB4	-	-	-	-	12,0	1,0
PB1	4,0	1,0	3,0	2,0	-	-
Peroxy-uhličitan	-	-	-	-	2,0	10,0
Uhličitan	-	5,3	1,8	-	4,0	4,0
NOBS	4,0	-	6,0	-	-	0,6
Methylcelulosa	0,2	-	-	-	-	-
Na-SKS-6	8,0	-	-	-	-	-
STS	-	-	2,0	-	1,0	-

Kulmen	-	1,0	-	-	-	2,0
sulfonová kyselina						
Mananasa	0,005	0,002	0,001	0,008	0,001	0,001
Proteasa	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02
Lipasa	0,004	-	0,004	-	0,004	0,004
Amylase	0,003	-	0,002	-	0,003	-
Celulasa	0,0005	0,0005	0,0005	0,0007	0,0005	0,0005
PVPVI	-	-	-	-	0,5	0,1
PVP	-	-	-	-	0,5	-
PVNO	-	-	0,5	0,3	-	-
QEA	-	-	-	-	1,0	-
SRP 1	0,2	0,5	0,3	-	0,2	-
Silikonové čínidlo proti pěnění	0,2	0,4	0,2	0,4	0,1	-
Mg síran	-	-	0,2	-	0,2	-
Různé a malé zbytky			Zbytek do 100 %			

Příklad 5

Následující detergentní prostředky neobsahující žádné bělidlo, které jsou vhodné zejména pro praní barevných tkanin, byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV	V
Foukaný prášek					
Zeolit A	15,0	15,0	15,0	-	-
Síran	-	-	5,0	-	-
LAS	3,0	3,0	3,0	-	-
DETPMP	0,4	0,4	0,5	-	-
CMC	0,4	0,4	0,4	-	-
MA/AA	4,0	4,0	4,0	-	-
Aglomeráty					
C45AS	-	-	-	11,0	11,0
LAS	6,0	6,0	5,0	-	-
TAS	3,0	3,0	2,0	-	-
Křemičitan	4,0	4,0	4,0	-	-
Zeolit A	10,0	10,0	15,0	13,0	13,0
CMC	-	-	-	0,5	0,5

MA/AA	-	-	-	2,0	2,0
Uhličitan	9,0	9,0	7,0	7,0	7,0
Nastříkáno					
Vonná látka	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5
C45E7	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
C25E3	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Suchá aditiva					
MA/AA	-	-	-	3,0	3,0
Na-SKS-6	-	-	-	12,0	12,0
Citrát	10,0	10,0	-	8,0	8,0
Hydrogenuhlíčan	7,0	7,0	3,0	5,0	5,0
Uhličitan	8,0	8,0	5,0	7,0	7,0
PVPVI/PVNO	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Mananasa	0,0008	-	0,0005	0,001	-
Alkalická mananasa	-	0,0008	-	-	0,002
Proteasa	0,03	0,03	0,02	0,05	0,05
Lipasa	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
Amylase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Celulasa	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Silikonové čínidlo proti pění	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Síran	-	-	9,0	-	-
Hustota (g/l)	700	700	700	700	700
Různé a malé zbytky			Zbytek do 100 %		

Příklad 6

Následující detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV
Základní granule				
Zeolit A	30,0	22,0	24,0	10,0
Síran	10,0	5,0	10,0	7,0
MA/AA	3,0	-	-	-
AA	-	1,6	2,0	-
MA/AA 1	-	12,0	-	6,0
LAS	14,0	10,0	9,0	20,0

C45AS	8,0	7,0	9,0	7,0
C45AES	-	1,0	1,0	-
Křemičitan	-	1,0	0,5	10,0
Mýdlo	-	2,0	-	-
Zjasňovadlo 1	0,2	0,2	0,2	0,2
Uhličitan	6,0	9,0	10,0	10,0
PEG 4000	-	1,0	1,5	-
DTPA	-	0,4	-	-
Nastríkáno				
C25E9	-	-	-	5,0
C45E7	1,0	1,0	-	-
C23E9	-	1,0	2,5	-
Vonná látka	0,2	0,3	0,3	-
Suchá aditiva				
Uhličitan	5,0	10,0	18,0	8,0
PVPVI/PVNO	0,5	-	0,3	-
Mananasa	0,005	0,002	0,0008	0,001
Proteasa	0,03	0,03	0,03	0,02
Lipasa	0,008	-	-	0,008
Amylasa	0,002	-	-	0,002
Celulasa	0,0002	0,0005	0,0005	0,0002
NOBS	-	4,0	-	4,5
PB 1	1,0	5,0	1,5	6,0
Síran	4,0	5,0	-	5,0
SRP 1	-	0,4	-	-
Činidlo tlumící vznik mydlin	-	0,5	0,5	-
Různé a malé zbytky		Zbytek do 100 %		

Příklad 7

Následující granulované detergentní prostředky byl
připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV
Foukaný prášek				
Zeolit A	20,0	-	15,0	15,0
STPP	-	20,0	-	-
Síran	-	-	5,0	5,0
Uhličitan	-	-	5,0	5,0

TAS	-	-	1,0	1,0
LAS	6,0	6,0	6,0	6,0
C68AS	2,0	2,0	-	-
Křemičitan	3,0	8,0	-	-
MA/AA	4,0	2,0	2,0	2,0
CMC	0,6	0,6	0,2	0,2
Zjasňovadlo 1	0,2	0,2	0,1	0,1
DETPMP	0,4	0,4	0,1	0,1
STS	-	-	1,0	1,0
Nastříkáno				
C45E7	5,0	5,0	4,0	4,0
Silikonové činidlo proti pěnění	0,3	0,3	0,1	0,1
Vonná látka	0,2	0,2	0,3	0,3
Suchá aditiva				
QEA	-	-	1,0	1,0
Uhličitan	14,0	9,0	10,0	10,0
PB 1	1,5	2,0	-	-
PB 4	18,5	13,0	13,0	13,0
TAED	2,0	2,0	2,0	2,0
QAS	-	-	1,0	1,0
Fotoaktivované bělidlo	15 ppm	15 ppm	15 ppm	15 ppm
Na-SKS-6	-	-	3,0	3,0
Mananasa	0,005	0,002	0,0008	-
Alkalická mananasa	-	-	-	0,001
Proteasa	0,03	0,03	0,007	0,007
Lipasa	0,004	0,004	0,004	0,004
Amylase	0,006	0,006	0,003	0,003
Celulasa	0,0002	0,0002	0,0005	0,0005
Síran	10,0	20,0	5,0	5,0
Hustota (g/l)	700	700	700	700
Různé a malé zbytky		Zbytek do 100 %		

Příklad 8

Následující detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III
Foukaný prášek			
Zeolit A	15,0	15,0	15,0
Síran	-	5,0	-
LAS	3,0	3,0	3,0
QAS	-	1,5	1,5
DETPMP	0,4	0,2	0,4
EDDS	-	0,4	0,2
CMC	0,4	0,4	0,4
MA/AA	4,0	2,0	2,0
Aglomerát			
LAS	5,0	5,0	5,0
TAS	2,0	2,0	1,0
Křemičitan	3,0	3,0	4,0
Zeolit A	8,0	8,0	8,0
Uhličitan	8,0	8,0	4,0
Nastříkáno			
Vonná látka	0,3	0,3	0,3
C45E7	2,0	2,0	2,0
C25E3	2,0	-	-
Suchá aditiva			
Citrát	5,0	-	2,0
Hydrogenuhličitan	-	3,0	-
Uhličitan	8,0	15,0	10,0
TAED	6,0	2,0	5,0
PB 1	14,0	7,0	10,0
PEO	-	-	0,2
Bentonitová hlínka	-	-	10,0
Mananasa	0,005	0,002	0,0008
Proteasa	0,03	0,03	0,03
Lipasa	0,008	0,008	0,008
Celulasa	0,001	0,001	0,001
Amylasa	0,01	0,01	0,01
Silikonové činidlo proti pěnění	5,0	5,0	5,0

Síran	-	3,0	-
Hustota (g/l)	850	850	850
Různé a malé zbytky		Zbytek do 100 %	

Příklad 9

Následující detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV
LAS	18,0	14,0	24,0	20,0
QAS	0,7	1,0	-	0,7
TFAA	-	1,0	-	-
C25E56.5	-	-	1,0	-
C45E7	-	1,0	-	-
C45E3S	1,0	2,5	1,0	-
STPP	32,0	18,0	30,0	22,0
Křemičitan	9,0	5,0	9,0	8,0
Uhličitan	11,0	7,5	10,0	5,0
Hydrogenuhlíčan	-	7,5	-	-
PB 1	3,0	1,0	-	-
PB 4	-	1,0	-	-
NOBS	2,0	1,0	-	-
DETPMP	-	1,0	-	-
DTPA	0,5	-	0,2	0,3
SRP 1	0,3	0,2	-	0,1
MA/AA	1,0	1,5	2,0	0,5
CMC	0,8	0,4	0,4	0,2
PEI	-	-	0,4	-
Síran	20,0	10,0	20,0	30,0
Mg síran	0,2	-	0,4	0,9
Mananasa	0,005	0,002	0,005	0,001
Proteasa	0,03	0,03	0,02	0,02
Amylasa	0,008	0,007	-	0,004
Lipasa	0,004	-	0,002	-
Celulasa	0,0003	-	-	0,0001
Fotoaktivované bělidlo	30 ppm	20 ppm	-	10 ppm
Vonná látka	0,3	0,3	0,1	0,2
Zjasňovadlo 1/2	0,05	0,02	0,08	0,1

Různé a malé zbytky

Zbytek do 100 %

Příklad 10

Následující tekuté detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu (množství jsou uvedena jako díly hmotnosti, enzymy jsou uvedeny jako čistý enzym):

	I	II	III	IV	V
LAS	11,5	8,8	-	3,9	-
C25E2.5S	-	3,0	18,0	-	16,0
C45E2.25S	11,5	3,0	-	15,7	-
C23E9	-	2,7	1,8	2,0	1,0
C23E7	3,2	-	-	-	-
CFAA	-	-	5,2	-	3,1
TPKFA	1,6	-	2,0	0,5	2,0
Citrónová k. (50%)	6,5	1,2	2,5	4,4	2,5
Ca formiát	0,1	0,06	0,1	-	-
Na formiát	0,5	0,06	0,1	0,05	0,05
SCS	4,0	1,0	3,0	1,2	-
Boritan	0,6	-	3,0	2,0	2,9
Na hydroxid	5,8	2,0	3,5	3,7	2,7
Ethanol	1,75	1,0	3,6	4,2	2,9
1,2-propandiol	3,3	2,0	8,0	7,9	5,3
Monoethanolamin	3,0	1,5	1,3	2,5	0,8
TEPAE	1,6	-	1,3	1,2	1,2
Mananasa	0,005	0,001	0,002	0,0005	0,0002
Proteasa	0,03	0,01	0,03	0,02	0,02
Lipasa	-	-	0,002	-	-
Amylase	-	-	-	0,002	-
Celulasa	-	-	0,0002	0,0005	0,0001
SRP 1	0,2	-	0,1	-	-
DTPA	-	-	0,3	-	-
PVNO	-	-	0,3	-	0,2
Zjasňovadlo 1	0,2	0,07	0,1	-	-
Silikonové čínidlo proti pění	0,04	0,02	0,1	0,1	0,1
Různé a voda					

Příklad 11

Následující tekuté detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu (množství jsou uvedena jako díly hmotnosti, enzymy jsou uvedeny jako čistý enzym):

	I	II	III	IV
LAS	10,0	13,0	9,0	-
C25AS	4,0	1,0	2,0	10,0
C25E3S	1,0	-	-	3,0
C25E7	6,0	8,0	13,0	2,5
TFAA	-	-	-	4,5
APA	-	1,4	-	-
TPKFA	2,0	-	13,0	7,0
Citrónová k.	2,0	3,0	1,0	1,5
Dodecenyl/tetra- decenyl jantarová kyselina	12,0	10,0	-	-
Mastná kyselina z řepky	4,0	2,0	1,0	-
Ethanol	4,0	4,0	7,0	2,0
1,2-Propandiol	4,0	4,0	2,0	7,0
Monoethanolamin	-	-	-	5,0
Triethanolamin	-	-	8,0	-
TEPAE	0,5	-	0,5	0,2
DETPMP	1,0	1,0	0,5	1,0
Mananasa	0,0002	0,0005	0,005	0,0005
Proteasa	0,02	0,02	0,01	0,008
Lipasa	-	0,002	-	0,002
Amylase	0,004	0,004	0,01	0,008
Celulasa	-	-	-	0,002
SRP 2	0,3	-	0,3	0,1
Kyselina Boritá	0,1	0,2	1,0	2,0
Ca chlorid	-	0,02	-	0,01
Zjasňovadlo 1	-	0,4	-	-
Činidlo tlumící vznik mydlin	0,1	0,3	-	0,1
Činidlo způsobující zákal	0,5	0,4	-	0,3
NaOH tak, aby výsledné pH bylo	8,0	8,0	7,6	7,7

Různé a voda

Příklad 12

Následující tekuté detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu (množství jsou uvedena jako díly hmotnosti, enzymy jsou uvedeny jako čistý enzym):

	I	II	III	IV	V
LAS	25,0	-	-	-	-
C25AS	-	13,0	18,0	15,0	18,0
C25E3S	-	2,0	2,0	4,0	2,0
C25E7	-	-	4,0	4,0	4,0
TFAA	-	6,0	8,0	8,0	8,0
APA	3,0	1,0	2,0	-	2,0
TPKFA	-	15,0	11,0	11,0	11,0
Citrónová k.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Dodecenyl/tetra- decenyl jantarová kyselina	15,0	-	-	-	-
Mastná kyselina z řepky	1,0	-	3,5	-	3,5
Ethanol	7,0	2,0	3,0	2,0	3,0
1,2-Propandiol	6,0	8,0	10,0	13,0	10,0
Monoethanolamin	-	-	9,0	9,0	9,0
TEPAE	-	-	0,4	0,3	0,4
DETPMP	2,0	1,2	1,0	-	1,0
Mananasa	0,0001	0,0002	0,005	0,0005	-
Alkalická mananasa	-	-	-	-	0,005
Proteasa	0,08	0,02	0,01	0,02	0,01
Lipasa	-	-	0,003	0,003	0,003
Amylasa	0,004	0,01	0,01	0,01	0,01
Celulasa	-	-	0,004	0,003	0,004
SRP 2	-	-	0,2	0,1	0,2
Kyselina Boritá	1,0	1,5	2,5	2,5	2,5
Bentonitová hlinka	4,0	4,0	-	-	-
Zjasňovadlo 1	0,1	0,2	0,3	-	0,3
Činidlo tlumící vznik mydlin	0,4	-	-	-	-

Činidlo	0,8	0,7	-	-	-
způsobující zákal					
NaOH tak, aby	8,0	7,5	8,0	8,2	8,0
výsledné pH bylo					
Různé a voda					

Příklad 13

Následující tekuté detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu (množství jsou uvedena jako díly hmotnosti, enzymy jsou uvedeny jako čistý enzym):

	I	II	III
LAS	27,6	18,9	27,6
C45AS	13,8	5,9	13,8
C13E8	3,0	3,1	3,0
Olejová kyselina	3,4	2,5	3,4
Citrónová kyselina	5,4	5,4	5,4
Na hydroxid	0,4	3,6	0,4
Ca formiát	0,2	0,1	0,2
Na formiát	-	0,5	-
Ethanol	7,0	-	7,0
Monoethanolamin	16,5	8,0	16,5
1,2-propandiol	5,9	5,5	5,9
Xylensulfonová kyselina	-	2,4	-
TEPAE	1,5	0,8	1,5
Proteasa	0,05	0,02	0,05
Mananasa	0,005	0,0002	-
Alkalická mananasa	-	-	0,001
PEC	-	0,7	-
Zjasňovadlo 2	0,4	0,1	0,4
Vonná látka	0,5	0,3	0,5
Voda a malé zbytky			

Příklad 14

Následující gelové detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV	V
C12-15E2.5S	21	20,2	22,7	13,6	20,2

C12LAS	-	-	-	9,1	-
C12-14 glukosamid	4,0	2,5	-	-	2,5
C12-14EO7	4,5	-	-	-	-
C12-15EO9	-	0,6	0,6	0,6	0,6
C8-10 amidopropylamin	1,3	-	-	-	-
C10 amidopropylamin	-	1,3	1,3	1,3	1,3
Citrónová k.	1,0	5,0	1,0	1,0	5,0
C12/14 mastná kyselina	-	10,0	10,0	10,0	10,0
Mastná kyselina z palmového jádra	8,0	-	-	-	-
Mastná kyselina z řepky	8,0	-	-	-	-
Mananasa	0,0001	0,0002	0,005	0,0005	-
Alkalická mananasa	-	-	-	-	0,0008
Proteasa	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03
Lipasa	0,001	0,002	0,003	0,002	0,002
Amylase	0,003	0,002	0,002	0,002	0,002
Celulasa	0,0007	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Zjasňovadlo 1	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Polymer A	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6
Polymer B	-	1,2	1,2	1,2	1,2
Polyamin-polyamid	2,0	1,0	1,0	-	1,0
Polyethoxylované polyaminy	-	2,0	-	-	2,0
Činidlo uvolňující nečistoty	-	0,1	0,1	0,1	0,1
Ethanol	0,7	0,5	0,5	0,5	0,5
1,2-propandiol	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Monoethanolamin	0,7	0,5	0,5	0,5	0,5
NaOH	2,8	7,0	7,0	7,0	7,0
Boritá kyselina	2,0	-	-	-	-
Borax	-	2,5	2,5	2,5	2,5
Činidlo potlačující vznik mydlin	-	0,1	0,1	0,1	0,1

Polydimethyl- siloxan	0,2	-	-	-	-
Vonná látka	0,5	0,75	0,75	0,75	0,75
Barvivo	-	0,04	0,04	0,04	0,04
Různé a voda		Zbytek do 100 %			

Příklad 15

Následující gelové detergentní prostředky byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV
C12-15E2.5S	18,2	22,6	27,6	22,6
C12-15EO9	0,6	0,6	0,6	0,6
C10 amidopropylamin	1,3	1,3	1,3	1,3
Citrónová k.	1,0	1,0	1,0	1,0
C12/14 mastná kyselina	10,0	10,0	7,5	10,0
Quat	1,0	5,0	-	-
Mananasa	0,005	0,001	0,002	0,0005
Proteasa	0,03	0,01	0,03	0,03
Lipasa	0,002	0,002	0,002	0,002
Amylase	0,003	0,002	0,001	0,002
Celulasa	0,0001	0,0004	0,0001	0,0001
Zjasňovadlo 1	0,15	0,15	0,15	0,15
Polymer A	0,6	0,3	0,6	0,6
Polymer B	1,2	0,6	1,2	1,2
Činidlo uvolňující nečistoty	0,1	0,1	0,1	0,1
Ethanol	0,5	0,5	0,5	0,5
1,2-propandiol	4,0	4,0	4,0	4,0
Monoethanolamin	0,5	0,5	0,5	0,5
NaOH	7,0	7,0	7,0	7,0
Boritá kyselina	-	-	-	-
Borax	2,5	2,5	2,5	-
Činidlo potlačující vznik mydlin	0,1	0,1	0,1	0,1
Vonná látka	0,75	0,75	0,75	0,75
Barvivo	0,04	0,04	0,04	0,04
Různé a voda		Zbytek do 100 %		

Příklad 16

Následující granulované detergentní prostředky pro praní tkanin, které mají schopnost provádět "změkčení během praní" byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II
C45AS	-	10,0
LAS	7,6	-
C68AS	1,3	-
C45E7	4,0	-
C25E3	-	5,0
Koko-alkyldimethylhydroxy- ethylamoniumchlorid	1,4	1,0
Citrónová k.	5,0	3,0
Na-SKS-6	-	11,0
Zeolit A	15,0	15,0
MA/AA	4,0	4,0
DETPMP	0,4	0,4
PB 1	15,0	-
Peroxyuhličitan	-	15,0
TAED	5,0	5,0
Smektitová hlínka	10,0	10,0
PEO o vysoké molekulové hmotnosti	-	0,1
Mananasa	0,01	0,001
Proetasa	0,02	0,01
Lipasa	0,02	0,01
Amylase	0,03	0,005
Celulasa	0,001	-
Křemičitan	3,0	5,0
Uhličitan	10,0	10,0
Činidlo potlačující vznik mydlin	1,0	4,0
CMC	0,2	0,1
Různé a voda	Zbytek do 100 %	

Příklad 17

Následující změkčovací prostředky přidávané do máchání byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II
DEQA (2)	20,0	20,0
Alkalická mananasa	-	0,002
Mananasa	0,0008	-
Celulasa	0,001	0,001
HCL	0,03	0,03
Činidlo proti pění	0,01	0,01
Modré barvivo	25 ppm	25 ppm
CaCl ₂	0,20	0,20
Vonná látka	0,90	0,90
Různé a voda	Zbytek do 100 %	

Příklad 18

Následující změkčovací prostředky na tkaninu a prostředky přidávané k tkaninám před sušením byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV	V
DEQA	2,6	19,0	-	-	-
DEQA (2)	-	-	-	-	51,8
DTMAMS	-	-	-	26,0	-
SDASA	-	-	70,0	42,0	40,2
Stearová kyselina z IV=0	0,3	-	-	-	-
Neodol 45-13	-	-	13,0	-	-
Chlorovodíková kyselina	0,02	0,02	-	-	-
Ethanol	-	-	1,0	-	-
Mananasa	0,0008	0,0002	0,0005	0,005	0,0002
Vonná látka	1,0	1,0	0,75	1,0	1,5
Glykoperse S-20	-	-	-	-	15,4
Glycerol monostearát	-	-	-	26,0	-
Digeranylsukcinát	-	-	0,38	-	-
Silikonové činidlo proti pění	0,01	0,01	-	-	-
Elektrolyt	-	0,1	-	-	-
Hlinka	-	-	-	3,0	-
Barvivo	10 ppm	25 ppm	0,01	-	-

Voda a malé 100 % 100 % - - -
zbytky

Příklad 19

Následující prací detergentní prostředky ve formě tyčinky byly připraveny podle předkládaného vynálezu (množství jsou uvedena jako díly hmotnosti, enzymy jsou uvedeny jako čistý enzym):

	I	II	III	IV	V	III	VI	V
LAS	-	-	19,0	15,0	21,0	6,75	8,8	-
C28AS	30,0	13,5	-	-	-	15,75	11,2	22,5
Na laurát	2,5	9,0	-	-	-	-	-	-
Zeolit A	2,0	1,25	-	-	-	1,25	1,25	1,25
Uhličitan	20,0	3,0	13,0	8,0	10,0	15,0	15,0	10,0
Ca	27,5	39,0	35,0	-	-	40,0	-	40,0
Uhličitan								
Síran	5,0	5,0	3,0	5,0	3,0	-	-	5,0
TSPP	5,0	-	-	-	-	5,0	2,5	-
STPP	5,0	15,0	10,0	-	-	7,0	8,0	10,0
Bentonitová hlinka	-	10,0	-	-	5,0	-	-	-
DETPMP	-	0,7	0,6	-	0,6	0,7	0,7	0,7
CMC	-	1,0	1,0	1,0	1,0	-	-	1,0
Talek	-	-	10,0	15,0	10,0	-	-	-
Křemičitan	-	-	4,0	5,0	3,0	-	-	-
PVNO	0,02	0,03	-	0,01	-	0,02	-	-
MA/AA	0,4	1,0	-	-	0,2	0,4	0,5	0,4
SRP 1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Mananasa	0,0005	0,0005	0,0008	0,0005	0,0002	0,0002	0,0001	0,0005
Amylasa	-	-	0,01	-	-	-	0,002	-
Proteasa	-	0,004	-	0,003	0,003	-	-	0,003
Lipasa	-	0,002	-	0,002	-	-	-	-
Celulasa	-	0,0003	-	-	0,0003	0,0002	-	-
PEO	-	0,2	-	0,2	0,3	-	-	0,3
Vonná látka	1,0	0,5	0,3	0,2	0,4	-	-	0,4
Mg síran	-	-	3,0	3,0	3,0	-	-	-
Zjasňovadlo	0,15	0,1	0,15	-	-	-	-	0,1

Fotoakti- - 15,0 15,0 15,0 15,0 - - 15,0
vované bě-
lidlo (ppm)

Příklad 20

Následující prostředky určené jako přídavek do detergentu
byly připraveny podle předkládaného vynálezu:

	I	II	III	IV
LAS	-	5,0	5,0	5,0
STPP	30,0	-	20,0	20,0
Zeolit A	-	35,0	20,0	20,0
PB 1	20,0	15,0	-	-
TAED	10,0	8,0	-	-
Mananasa	0,005	0,0002	0,001	-
Alkalická mananasa	-	-	-	0,005
Proteasa	-	0,3	0,3	0,3
Amylasa	-	0,06	0,06	0,06
Malé zbytky, voda a různé		Zbytek do 100 %		

Seznam sekvencí

(1) Obecné informace

Předkladatel:

Jméno: The Procter & Gamble Company

Ulice: One Procter & Gamble Plaza

Město: Cincinnati, Ohio

Země: USA

Poštovní kód: 45202

Název vynálezu: Prací detergentní prostředky obsahující
enzymy, které odbourávají sacharidové gumy

Počet sekvencí: 6

Forma čitelná pro počítač:

Typ média: disketa

Počítač: IBM PC kompatibilní
Operační systém: PC-DOS / MS-DOS
Software: PatentIn 1.0 verze 1.25 (EPO)

Sekvence identifikační číslo 1

Charakteristiky sekvence:

Délka: 1407 párů bází
Typ: nukleová kyselina
Vláknitost: jednoduchá
Topologie: lineární

Typ molekuly: genová DNA
Původní zdroj

Vlastnosti:

Jméno / klíč: CDS
Umístění: 1-1428

Popis sekvence: sekvence identifikační číslo 1

ATGAAAAAAAAAGTTATCACAGATTTATCATTTAATTATTTGCACACTTATAATA
AGTGTGGGAATAATGGGGATTACAACGTCCCCATCAGCAGCAAGTACAGGC
TTTTATGTTGATGGCAATACGTTATATGACGCAAATGGGCAGCCATTTGTCAT
GAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTATAAAGACACCGCTTCAACAGCT
ATTCCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTCGTATTGTTTTATCAG
ATGGCGGTCAATGGGAAAAAGACGACATTGACACCATTTCGTGAAGTCATTG
AGCTTGCGGAGCAAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCA
CGGGTCGCGATTTCGCGCAGTGATTTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAG
AAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAAGAAGATACGGTTATTATTAACATTGCA
AACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGGGCCGATGGCTATATT
GATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACACCTTAATGGTTG
ATGCAGCAGGATGGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAG
ATGTGTTTAATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTAT

GAGTATGCTGGTGGTGATGCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCA
TAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGTGAATTCGGTCATAGACATACTGA
TGGTGATGTTGATGAAGATAACAATCCTTAGTTATTCTGAAGAACTGGCACA
GGGTGGCTCGCTTGGTCTTGGAAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA
GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAA
TTGTCCACGGGGCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTAT
TTACAGATGATAACGGTGGTCACCCTGAACCGCCAACTGCTACTACCTTGTA
TGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGGTGGCATGGAAGCAACGTGACCGGTG
GCCCTTGGTCCGTAAACAGAATGGGGTGCTTCAGGTAACACTACTCTTTAAAAGC
CGATGTAAATTTAACCTCAAATTTCTTCACATGAACTGTATAGTGAACAAAGTC
GTAATCTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTCGCCATGCCAATTG
GGGAAATCCCGGTAATGGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTC
TGATTATACATGGCATAGCGGTCCTTTTACACGTATCAATAGCTCCAACTCA
GGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAATAGTCATCATGTTAG
GGAAATAGGCGTGCAATTTTCAGCGGCAGATAATAGCAGTGGTCAAACCTGC
TCTATACGTTGATAACGTTACTTTAAGATAG

Sekvence identifikační číslo 2

Charakteristiky sekvence:

Délka: 493 aminokyselin

Typ: aminokyselinová

Topologie: lineární

Typ molekuly: protein

Popis sekvence: sekvence identifikační číslo 2

MKKKLSQIYHLIICTLIISVGIMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGIN
HGHAWYKDTASTAIPAIAEQGANTIRIVLSDGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNM
VAWEVHDATGRDSRSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGS
AWADGYIDVIPKLRDAGLTHTLMVDAAGWGQYPQSLHDYGQDVFNADPLKNTM
FSIHMYEYAGGDANTVRSNIDRVIDQDLALVIGFEGHRHTDGDVDEDTILSYSEE
TGTGWLAWSWKGNSTEWLDLSEDWAGQHLTDWGNRIVHGADGLQETSKP

STVFTDDNGGHPEPPTATTLYDFEGSTQGWHGSNVTGGPWSVTEWGASGNY
SLKADVNLTSNSSHELYSEQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNPGNGMNARLW
KTGSDYTWHSHPFTRINSSNSGTTLSTFDLNNIENSHHVREIGVQFSAADNSSGQ
TALYVDNVTLR

Sekvence identifikační číslo 3

Charakteristiky sekvence:

Délka: 1407 párů bází

Typ: nukleová kyselina

Vláknitost: jednoduchá

Topologie: lineární

Typ molekuly: genová DNA

Popis sekvence: sekvence identifikační číslo 3

ATGAAAAAAAAAGTTATCACAGATTTATCATTTAATTATTTGCACACTTATAATA
AGTGTGGGAATAATGGGGATTACAACGTCCCCATCAGCAGCAAGTACAGGC
TTTTATGTTGATGGCAATACGTTATATGACGCAAATGGGCAGCCATTTGTCAT
GAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTATAAAGACACCGCTTCAACAGCT
ATTCCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTCGTATTGTTTTATCAG
ATGGCGGTCAATGGGAAAAAGACGACATTGACACCATTCGTGAAGTCATTG
AGCTTGCGGAGCAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCA
CGGGTCGCGATTTCGCGCAGTGATTTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAG
AAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAAGAAGATACGGTTATTATTAACATTGCA
AACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGGGCCGATGGCTATATT
GATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACACCTTAATGGTTG
ATGCAGCAGGATGGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAG
ATGTGTTTAATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTAT
GAGTATGCTGGTGGTGATGCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCA
TAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGTGAATTCGGTCATAGACATACTGA
TGGTGATGTTGATGAAGATACAATCCTTAGTTATTCTGAAGAACTGGCACA
GGGTGGCTCGCTTGGTCTTGGAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA

GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAA
TTGTCCACGGGGCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTAT
TTACAGATGATAACGGTGGTCACCCTGAACCGCCAACCTGCTACTACCTTGTA
TGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGGTGGCATGGAAGCAACGTGACCGGTG
GCCCTTGGTCCGTAACAGAATGGGGTGCTTCAGGTAACACTCTTTAAAGC
CGATGTAAATTTAACCTCAAATTCCTTACATGAACTGTATAGTGAACAAAGTC
GTAATCTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTCGCCATGCCAATTG
GGGAAATCCCGGTAATGGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTC
TGATTATACATGGCATAGCGGTCCTTTTACACGTATCAATAGCTCCAACCTCA
GGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAATATCATCATGTTAGG
GAAATAG

Sekvence identifikační číslo 4

Charakteristiky sekvence:

Délka: 468 aminokyselin

Typ: aminokyselinová

Topologie: lineární

Typ molekuly: protein

Popis sekvence: sekvence identifikační číslo 4

MKKKLSQfYHLLICTLIISVGIMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGIN
HGHAWYKDTASTAiPAIAEQGANTIRIVLSDDGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNK
VAVVEVHDATGRDSRSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGS
AWADGYIDVIPKLRDAGLTHTLMVDAAGWGQYPQSIHDYQDVFNADPLKNTM
FSIHMYEYAGGDANTVRSNIDRVIDQDLALVIGFEGHRHTDGDVDEDTILSYSEE
TGTGWLAWSWKGNSTEWLDYLDLSEDWAGQHLTDWGNRIVHGADGLQETSKP
STVFTDDNGGHPEPPTATTLYDFEGSTQGWHGNSVTGGPWSVTEWGASGNY
SLKADVNLTSNSSHELYSEQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNPGNGMNRALYV
KTGSDYTWHS GPFTTRINSSNSGTTLSFDLNNIENIIMLGK

Sekvence identifikační číslo 5

Charakteristiky sekvence:

Délka: 1029 párů bází

Typ: nukleová kyselina

Vláknitost: jednoduchá

Topologie: lineární

Typ molekuly: genová DNA

Popis sekvence: sekvence identifikační číslo 5

5' AAT TGG CGC ATA CTG TGT CGC CTG TGA ATC CTA ATG CCC AGC AGA
CAA CAA AAA CAG TGA TGA ACT GGC TTG CGC ACC TGC CGA ACC GAA
CGG AAA ACA GAG TCC TTT CCG GAG CGT TCG GAG GTT ACA GCC ATG
ACA CAT TTT CTA TGG CTG AGG CTG ATA GAA TCC GAA GCG CCA CCG
GGC AAT CGC CTG CTA TTT ATG GCT GCG ATT ATG CCA GAG GAT GGC
TTG AAA CAG CAA ATA TTG AAG ATT CAA TAG ATG TAA GCT GCA ACG
GCG ATT TAA TGT CGT ATT GGA AAA ATG GCG GAA TTC CGC AAA TCA
GTT TGC ACC TGG CGA ACC CTG CTT TTC AGT CAG GGC ATT TTA AAA
CAC CGA TTA CAA ATG ATC AGT ATA AAA ACA TAT TAG ATT CAG CAA
CAG CGG AAG GGA AGC GGC TAA ATG CCA TGC TCA GCA AAA TTG CTG
ACG GAC TTC AAG AGT TGG AGA ACC AAG GTG TGC CTG TTC TGT TCA
GGC CGC TGC ATG AAA TGA ACG GCG AAT GGT TTT GGT GGG GAC TCA
CAT CAT ATA ACC AAA AGG ATA ATG AAA GAA TCT CTC TAT ATA AAC
AGC TCT ACA AGA AAA TCT ATC ATT ATA TGA CCG ACA CAA GAG GAC
TTG ATC ATT TGA TTT GGG TTT ACT CTC CCG ACG CCA ACC GAG ATT
TTA AAA CTG ATT TTT ACC CGG GCG CGT CTT ACG TGG ATA TTG TCG
GAT TAG ATG CGT ATT TTC AAG ATG CCT ACT CGA TCA ATG GAT ACG
ATC AGC TAA CAG CGC TTA ATA AAC CAT TTG CTT TTA CAG AAG TCG
GCC CGC AAA CAG CAA ACG GCA GCT TCG ATT ACA GCC TGT TCA TCA
ATG CAA TAA AAC AAA AAT ATC CTA AAA CCA TTT ACT TTC TGG CAT
GGA ATG ATG AAT GGA GCG CAG CAG TAA ACA AGG GTG CTT CAG CTT

TAT ATC ATG ACA GCT GGA CAC TCA ACA AGG GAG AAA TAT GGA ATG
GTG ATT CTT TAA CGC CAA TCG TTG AGT GAA TCC GGG ATC 3'

Sekvence identifikační číslo 6

Charakteristiky sekvence:

Délka: 363 aminokyselin

Typ: aminokyselinová

Topologie: lineární

Typ molekuly: protein

Popis sekvence: sekvence identifikační číslo 6

ydhT	1
LFFKHTISLLIIFLLASAVLAKPIEAHTVSPVNPNAQQTTKTVMNWLHL 50	
ydhT	51
PNRTENRVLSGAFGGYSHDTFSMAEADRIRSATGOSPAIYGCDYARGWLE 100	
ydhT	101
TANIEDSIDVSCNGDLMSYWKNGGIPQISLHLANPAFOSGHFKTPITNDQ 150	
ydhT	151
YKNILDSATAEGKRLNAMLSKIADGLQELNQGVPLFRPLHEMNGEWF 200	
ydhT	201
WGLTSYNQKDNERISLYKOLYKKIYHYMTDTRGLDHLIWWVSPDANRDFK 250	
ydhT	251
TDFYPGASYVDIVGLDAYFQDAYSINGYDQLTALNKPFAFTEVGPOANG 300	
ydhT	301
SFDYSLFINAIKQKYPKTIYFLAWNDEWSAAVNKGASALYHDSWTLNKGE 350	
ydhT	351
IWNGDSLTPIVE*. 363	

Průmyslová využitelnost

Prostředky podle předkládaného vynálezu jsou průmyslově využitelné při výrobě detergentů určených pro čištění tkanin a/nebo odstraňování skvrn z tkaniny a/nebo bělení tkanin a/nebo změkčování tkanin a/nebo péči o barevný vzhled tkaniny a/nebo tlumení přenosu barviv z tkaniny.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Prací detergentní prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje detergentní složku, enzym odbourávající sacharidovou gumu, kdy tento enzym odbourává neškrobové, necelulosové potravinářské polysacharidy o viskozitě vyšší než 800 cPs v 1% roztoku, vyjádřeno v procentech hmotnostních.

2. Prací detergentní prostředek podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že polysacharid je vybrán z agaru, alginu, karawa, tragakanthu, guarové gumy, svatojánského chleba, xanthanu a/nebo jejich směsí.

3. Prací detergentní prostředek podle nároků 1 až 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že enzym odbourávající sacharidové gumy je vybrán z manosidasy, zejména β -manosidasy, endo-1,4- β -D-manosidasy, endo-1,2- β -D-manosidasy; galaktosidasy, zejména exo-1,3- β -D-manosidasy, exo-1,6- β -D-galaktosidasy a 1,3- β -D-galaktosidasy; glukuronidasy, glukuronosidasy, exo-1,2 nebo 1,4-glukuronidasy; arabinasy, zejména endo-a-1,5-arabinosidasy, exo-arabanasy, exo-A-(α -1,2; α -1,3)arabinofuranosidasy, exo-B-(α -1,3; α -1,5)arabinofuranosidasy; xanthanlyasy, poly(α -L-gulukonát)lyasy; agarasy, karageenasy a/nebo jejich směsi.

4. Prací detergentní prostředek podle nároků 1 až 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že enzym odbourávající sacharidové gumy je β -manosidasa (EC 3.2.1.78-mananasa).

5. Prací detergentní prostředek podle nároků 1 až 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že enzym odbourávající sacharidové gumy je přítomen v množství 0,0001 % hmotnostních až 2 % hmotnostních, s výhodou 0,0005 % hmotnostních až 0,1 % hmotnostních, ještě výhodněji 0,0006 % hmotnostních až 0,015 % hmotnostních čistého enzymu vztaženo na hmotnost celkového prostředku.

6. Prací detergentní prostředek podle nároků 1 až 6, v y z n a č u j í c í s e t í m, že dále obsahuje tenzid vybraný z neionogenního a aniontového tenzidu, kationtového tenzidu a/nebo jejich směsí.

7. Prací detergentní prostředek podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, v y z n a č u j í c í s e t í m, že dále obsahuje další enzym, s výhodou celulasu a/nebo amylasu.

8. Prací detergentní prostředek podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, v y z n a č u j í c í s e t í m, že dále obsahuje plnidlo, s výhodou anorganické plnidlo, ještě výhodněji plnidlo vybrané ze zeolitu A, vrstveného křemičitanu, tripolyfosforečnanu sodného a/nebo jejich směsí.

9. Prací detergentní prostředek podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, v y z n a č u j í c í s e t í m, že dále obsahuje aktivovaný bělicí systém.

10. Prací detergentní prostředek podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, v y z n a č u j í c í s e t í m, že je tento prostředek v tekuté formě, ve formě pasty, gelu, tyčinky, tablet, spreje, pěny, prášku nebo granulí.

11. Prací detergentní prostředek ve formě gelu podle nároku 10, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje 15 % hmotnostních až 40 % hmotnostních aniontové tenzidové složky, která obsahuje:

(i) 5 % hmotnostních až 25 % hmotnostních alkylpolyethoxylátsulfátů, ve kterých alkyl sestává z 10 až 22 atomů uhlíku a polyethoxylátový řetězec sestává z 0,5 až 15, s výhodou z 0,5 až 5 a ještě výhodněji z 0,5 až 4, ethylenoxidových jednotek a

(ii) 5 % hmotnostních až 20 % hmotnostních mastných kyselin.

12. Detergentní aditivum, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje enzym odbourávající sacharidové gumy.

13. Prostředek změkčující tkaniny, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje enzym odbourávající sacharidové gumy,

kdy tento enzym odbourává neškrobové, necelulosové potravinářské polysacharidy o viskozitě vyšší než 800 cPs v 1% roztoku, vyjádřeno v procentech hmotnostních, a dále obsahuje kationtový tenzid obsahující dva řetězce velké délky.

14. Použití enzymu odbourávajícího sacharidové gumy, kdy tento enzym odbourává neškrobové, necelulosové potravinářské polysacharidy o viskozitě vyšší než 800 cPs v 1% roztoku, vyjádřeno v procentech hmotnostních, v pracím detergentním prostředku pro čištění tkanin a/nebo odstraňování skvrn z tkaniny a/nebo bělení tkanin a/nebo změkčování tkanin a/nebo péči o barevný vzhled tkaniny a/nebo tlumení přenosu barviv z tkaniny.

15. Použití enzymu odbourávajícího sacharidové gumy podle nároku 14 pro odstranění neškrobových, necelulosových potravinářských polysacharidů o viskozitě vyšší než 800 cPs v 1% roztoku, vyjádřeno v procentech hmotnostních.

16. Použití enzymu odbourávajícího sacharidové gumy podle nároků 14 až 15, kdy polysacharid je vybrán z agaru, alginu, karawa, tragakanthu, guarové gumy, svatojánského chleba, xanthanu a/nebo jejich směsí.

17. Použití enzymu odbourávajícího sacharidové gumy podle nároků 14 až 16 a celulasy pro odstranění neškrobových potravinářských polysacharidů o viskozitě vyšší než 800 cPs v 1% roztoku, vyjádřeno v procentech hmotnostních.