



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101945988 A

(43) 申请公布日 2011. 01. 12

---

(21) 申请号 200980105134. 7 *C11D 1/72* (2006. 01)  
(22) 申请日 2009. 02. 12 *C11D 3/28* (2006. 01)  
(30) 优先权数据 *C11D 3/16* (2006. 01)  
61/065, 928 2008. 02. 15 US *C11D 3/34* (2006. 01)  
(85) PCT申请进入国家阶段日  
2010. 08. 13  
(86) PCT申请的申请数据  
PCT/US2009/033897 2009. 02. 12  
(87) PCT申请的公布数据  
W02009/102854 EN 2009. 08. 20  
(71) 申请人 宝洁公司  
地址 美国俄亥俄州  
(72) 发明人 M·米克 P·F·索特  
G·S·加雷特 C·W·桑德斯  
N·L·里德 B·X·宋 B·L·凯思  
(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公  
司 72001  
代理人 庞立志 李炳爱  
(51) Int. Cl. 权利要求书 2 页 说明书 25 页 序列表 4 页  
*C11D 3/386* (2006. 01) 附图 0 页

---

(54) 发明名称  
清洁组合物

(57) 摘要  
本发明涉及包含蛋白酶清洁体系和润湿剂的低磷酸盐或无磷酸盐以及低硼酸盐或无硼酸盐的清洁组合物, 以及用于制造和使用上述组合物的方法。上述组合物在产品中提供了更好的酶稳定性和消费者所期望的清洁模式。

1. 清洁组合物,所述清洁组合物包含:

a.) 包含选自由下列组成的组的物质的蛋白酶清洁体系:

(i) 蛋白酶和高效的可逆蛋白酶抑制剂;

(ii) 封装的蛋白酶;和

(iii) 它们的混合物;

b.) 润湿剂;

c.) 溶剂;和

d.) 按总的清洁组合物重量计 0% 至 0.1%, 优选 0% 至 0.05%, 更优选 0% 至 0.01%, 最优选 0.0001% 至 0.01% 的磷酸盐和 / 或多磷酸盐;

e.) 按总的清洁组合物重量计 0% 至 0.1%, 优选 0% 至 0.05%, 更优选 0% 至 0.01%, 更优选 0.0001% 至 0.01% 的硼酸盐;

f.) 按总的清洁组合物重量计 0% 至 0.1%, 优选 0% 至 0.05%, 更优选 0% 至 0.01%, 最优选 0.0001% 至 0.01% 的沸石;

所述组合物的余量包括一种或多种辅助成分,所述清洁组合物具有 10cps 至 100000cps, 优选 30cps 至 50,000cps, 更优选 50cps 至 30,000cps, 最优选 55cps 至 20,000cps 的粘度。

2. 如权利要求 1 所述的清洁组合物,所述清洁组合物包含按总的清洁组合物重量计:

a.) 0% 至 0.1%, 优选 0% 至 0.05%, 更优选 0 至 0.01% 的不是润湿剂的物质,所述物质选自由下列组成的组:阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、发泡性非离子表面活性剂以及它们的混合物;和

b.) 0% 至 5.0%、0% 至 2%、0% 至 1 重量%、0% 至 0.8%、0% 至 0.1%、或者甚至 0.001% 至 0.05% 的不是润湿剂的低润湿非离子表面活性剂。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的清洁组合物,其中所述润湿剂包括选自由下列组成的组的物质:

a.) 烷氧基化脂肪醇,所述烷氧基化脂肪醇具有低于约 60°C 的浊点,并且包含含有 6 至 24 个碳原子和 2 至 50 个侧挂烯化氧单元的烷基链;

b.) 环氧封端的多聚(烷氧基化的)醇;和

c.) 它们的混合物。

4. 如前述任一项权利要求所述的清洁组合物,所述组合物包含按总的清洁组合物重量计:

a.) 至少 0.00001%、0.0001% 至 1%、0.001% 至 0.5%、0.01% 至 0.2% 的蛋白酶和至少 0.00001%、0.0002% 至 2%、或者甚至 0.002% 至 1%、或者甚至 0.005% 至 0.5% 的高效的可逆蛋白酶抑制剂;和 / 或至少 0.001%、0.005% 至 25%、0.05% 至 10% 或者甚至 0.01% 至 2% 的封装的蛋白酶;和

b.) 至少 0.1%、0.3% 至 10%、0.5% 至 2%、或者甚至 0.6% 至 1.3% 的所述润湿剂。

5. 如前述任一项权利要求所述的清洁组合物,所述清洁组合物包含增稠剂,所述增稠剂包含按总的增稠剂重量计至少 1%、1% 至 39%、2% 至 28% 或者甚至 5% 至 19% 的醇部分,并且所述增稠剂优选地选自由下列组成的组:多糖和 / 或多糖衍生物,所述多糖或多糖衍生物在一个方面包括瓜耳胶、结冷胶、黄原胶以及它们的混合物。

6. 如前述任一项权利要求所述的清洁组合物,其中:
- a.) 所述蛋白酶选自自由下列组成的组:金属蛋白酶、丝氨酸蛋白酶以及它们的混合物;  
和
- b.) 所述高效的可逆蛋白酶抑制剂选自自由下列组成的组:肽醛、加拉定、苯基硼酸衍生物以及它们的混合物。
7. 如权利要求6所述的清洁组合物,其中:
- a.) 所述丝氨酸蛋白酶包括来自 E. C. 3. 4. 21. 62 类的碱性丝氨酸蛋白酶;并且
- b.) 所述苯基硼酸衍生物包括 4- 甲酰苯基硼酸。
8. 如权利要求1至6中任一项所述的清洁组合物,所述清洁组合物包含一种或多种酶,其中所述酶选自自由下列组成的组:半纤维素酶、纤维素酶、纤维二糖脱氢酶、过氧化物酶、蛋白酶、木聚糖酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、甘露聚糖酶、果胶酸裂解酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂氧合酶、木素酶、支链淀粉酶、鞣酸酶、戊聚糖酶、麦拉宁酶(melanase)、 $\beta$ -葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶、淀粉酶、以及它们的混合物。
9. 如权利要求1至6中任一项所述的清洁组合物,所述清洁组合物具有6至11、7至10、或者甚至8.3至9的pH。
10. 如权利要求1至6中任一项所述的清洁组合物,所述清洁组合物包含按总的清洁组合物重量计至少0.1%、0.1%至40%、0.5%至20%、或者甚至1%至10%的纳米颗粒组分。
11. 如权利要求1至6中任一项所述的清洁组合物,所述清洁组合物包含聚合物,所述聚合物选自自由下列组成的组:
- a.) 聚羧酸酯基聚合物;
- b.) 磺酸盐或磺酸共聚物;
- c.) 具有下式的聚合物:二((C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O)(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>n</sub>)(CH<sub>3</sub>)-N+-C<sub>x</sub>H<sub>2x</sub>-N+-((CH<sub>3</sub>)-二((C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O)(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>n</sub>),其中n为20至30的整数,并且x为3至8的整数,所述聚合物任选地为硫酸盐化的或磺化的;
- d.) 苯乙烯基共聚物;和
- e.) 它们的混合物。
12. 如权利要求1至6中任一项所述的清洁组合物,所述清洁组合物包含酶稳定剂成分,所述酶稳定剂成分包括:
- a.) 无机盐,所述无机盐选自自由下列组成的组:钙盐、镁盐以及它们的混合物,优选氯化钙和/或氯化镁;
- b.) 碳水化合物,所述碳水化合物选自自由下列组成的组:低聚糖、多糖以及它们的混合物;和
- c.) 它们的混合物。
13. 包含金属蛋白酶、高效的可逆蛋白酶抑制剂和辅助成分的清洁组合物,所述高效的可逆蛋白酶抑制剂优选地选自自由下列组成的组:加拉定、磷酸二肽、杆菌肽锌以及它们的混合物。

## 清洁组合物

### 发明领域

[0001] 本发明涉及包含蛋白酶清洁体系和润湿剂的低磷酸盐或无磷酸盐并且低硼酸盐或无硼酸盐的清洁组合物,以及用于制造和使用上述组合物的方法。

### [0002] 发明背景

[0003] 环境意识的增加导致了一场减少使用衍生自石油和 / 或以石油作为能源的物质的运动。这些物质包括:表面活性剂、聚合物、溶剂、硼酸盐、以及助洗剂如磷酸盐。此外,由于不断增加的环境压力,人们还期望减少这些物质在产品中的用量和使用这些产品时所需的水量,例如,对洗过的制品进行漂洗所需的水量。不幸的是,在消费品领域,当硼酸盐、合成聚合物和 / 或助洗剂如磷酸盐的量减少时,所期望的特性如清洁能力、光泽、粘度和金属护理通常会受到不利的影响。

[0004] 因此,对基本上不含磷酸盐并且基本上不含硼酸盐,并且以最低限度保持着消费者所期望的粘度 / 清洁 / 光泽 / 金属护理模式的产品存在需求。

### [0005] 发明概述

[0006] 本发明涉及包含蛋白酶和高效的 (mass efficient) 可逆蛋白酶抑制剂的无磷酸盐并且无硼酸盐的清洁组合物,以及用于制造和使用上述组合物的方法。

### [0007] 发明详述

#### [0008] 定义

[0009] 除非另有指明,本文所用术语“清洁组合物”包括粒状或粉状的通用或“重垢型”洗涤剂,尤其是清洁剂;形态为液体、凝胶或糊剂的多功能洗涤剂,尤其是所谓的重垢型液体型;液体精细织物洗涤剂;手洗餐具洗涤剂或轻垢型餐具洗涤剂,尤其是高发泡型的;机洗餐具洗涤剂,包括家用和机构用的各种片剂、颗粒状的、液体和漂洗助剂型;液体清洁剂和消毒剂,包括抗菌洗手型、清洁棒、漱口水、假牙清洁剂、牙粉、汽车或地毯香波、浴室清洁剂;洗发剂和护发剂;沐浴凝胶、泡沫浴露和金属清洁剂;还有清洁辅剂如衣物洗涤添加剂、漂白添加剂和“去污棒”或预处理型,基底负载产品如机用干燥片、干或湿的擦拭物和垫子,非织造材料基底,和海绵;以及喷剂和雾剂。

[0010] 如本文所用,“高效的蛋白酶抑制剂”是指具有约 0.00001mM 至约 10mM、约 0.0001mM 至约 5mM、约 0.005mM 至约 2mM、或者甚至约 0.001mM 至约 0.5mM KI 值的蛋白酶抑制剂。

[0011] 如本文所用,“封装的蛋白酶”是指平均粒度为约 0.05 微米至约 1000 微米、或约 0.2 微米至约 700 微米、或者甚至约 0.5 微米至约 150 微米的封装的蛋白酶。当所述封装的蛋白酶为酶的微粒 / 微球形式时,所述封装的蛋白酶通常具有约 200 微米至约 1000 微米的粒度。当所述封装的蛋白酶为酶的微胶囊形式时,所述微胶囊通常具有约 100 微米至约 0.05 微米、约 80 微米至约 0.05 微米、或者甚至约 50 微米至约 0.05 微米的粒度。

[0012] 如本文所用,“环境友好的螯合剂”是选自由下列组成的组的螯合剂:基于氨基酸的螯合剂、基于琥珀酸的螯合剂、柠檬酸及其盐。

[0013] 如本文所用,“低润湿非离子表面活性剂”是指具有小于或等于 20mm、小于或等于

10mm、或者甚至 10mm 至约 0.1mm 的罗斯-迈尔斯泡沫高度,和大于或等于 360 秒、或者甚至 360 秒至约 10,000 秒的德拉夫斯润湿时间的非离子表面活性剂。

[0014] 如本文所用,“润湿剂”是指具有小于 360 秒、小于 200 秒、小于 100 秒、小于 60 秒、或者甚至小于 60 秒至约 1 秒的德拉夫斯润湿时间,和小于或等于 20mm、小于或等于 10mm、或者甚至 10mm 至约 0.1mm 的罗斯-迈尔斯泡沫高度的化合物。

[0015] 如本文所用,术语“发泡非离子表面活性剂”是指具有大于 20mm、大于 20mm 至约 500mm、或者甚至大于 20mm 至约 100mm 的罗斯-迈尔斯泡沫高度的非离子表面活性剂。

[0016] 如本文所用,术语“浊点”是指可以看到混合物发生相分离时的温度。浊点可以通过标准方法如 EN1890 测定。

[0017] 如本文所用,当一项权利要求中使用了包括“一个”在内的冠词时,应理解为意指一个或多个所要求的或描述的对象。

[0018] 如本文所用“包括”的含义为非限制性的。

[0019] 本申请的测试方法部分中所公开的测试方法应被用于测定申请人的发明的各项参数的相应值。

[0020] 除非另外说明,所有成分或组分的水平均基于该成分或组分的活性部分,杂质不计算在内,所述杂质例如可能存在于这些成分或组分的商品化来源中的残余溶剂或副产物。

[0021] 除非另外指明,所有的百分比和比例均按重量计。除非另外指明,所有的百分比和比例均根据总的清洁组合物重量进行计算。

[0022] 应当理解,在本说明书中给出的每一上限值包括每一个下限值,即如同该下限值在本文中也有明确的表示。在本说明书全文中给出的每一最小数值限度将包括每一较高数值限度,如同此类较高数值限度在本文也有明确的表示。在本说明书全文中给出的每一数值范围将包括包含于此类较宽数值范围内的每一较窄数值范围,如同此类较窄数值范围在本文也有明确的表示。

[0023] 组合物

[0024] 在一个方面,清洁组合物可包含:

[0025] a.) 包含选自由下列组成的组的物质的蛋白酶清洁体系:

[0026] (i) 蛋白酶和高效的可逆蛋白酶抑制剂;

[0027] (ii) 封装的蛋白酶;

[0028] (iii) 它们的混合物;

[0029] b.) 润湿剂;

[0030] c.) 溶剂;和

[0031] d.) 按总的清洁组合物重量计 0%至约 0.1%、约 0%至约 0.05%、0%至约 0.01% 或者甚至约 0.0001%至约 0.01%的磷酸盐和 / 或多磷酸盐;

[0032] e.) 按总的清洁组合物重量计 0%至约 0.1%、约 0%至约 0.05%、0%至约 0.01% 或者甚至约 0.0001%至约 0.01%的硼酸盐;

[0033] f.) 按总的清洁组合物重量计 0%至约 0.1%、约 0%至约 0.05%、0%至约 0.01% 或者甚至约 0.0001%至约 0.01%的沸石;

[0034] 所述组合物的余量包括一种或多种辅助成分,所公开的清洁组合物具有约 10cps

至约 100,000cps、约 30cps 至约 50,000cps、约 50cps 至约 30,000cps、或者甚至约 55cps 至约 20,000cps 的粘度。

[0035] 在一个方面,前述清洁组合物可包含按总的清洁组合物重量计 0% 至约 0.1%、约 0% 至约 0.05% 或约 0% 至 0.01% 的不是润湿剂的物质,所述物质选自由下列组成的组:阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、发泡非离子表面活性剂以及它们的混合物;和 0% 至约 5.0%、0% 至约 2%、0% 至约 1% 重量比、0% 至约 0.8%、0% 至约 0.1% 或者甚至约 0.001% 至约 0.05% 的不是润湿剂的低润湿非离子表面活性剂。

[0036] 在前述清洁组合物的一个方面,所述润湿剂可包含选自由下列组成的组的物质:烷基脂肪醇、环氧封端的多聚(烷氧基化的)醇以及它们的混合物,其中所述烷基脂肪醇具有低于约 60°C 的浊点,并且包含具有约 6 至约 24 个碳原子和约 2 至约 50 个侧挂烯化氧单元的烷基链;环氧封端的多聚(烷氧基化的)醇;以及它们的混合物。

[0037] 在前述清洁组合物的一个方面,所述组合物可包含按总的清洁组合物重量计至少 0.00001%、约 0.0001% 至 1%、约 0.001% 至 0.5%、约 0.01% 至 0.2% 的蛋白酶和至少 0.00001%、约 0.0002% 至约 2%、或者甚至约 0.002% 至 1%、或者甚至约 0.005% 至 0.5% 的高效的可逆蛋白酶抑制剂;和 / 或至少 0.001%、约 0.005% 至约 25%、约 0.05% 至约 10%、或者甚至约 0.01% 至约 2% 的封装的蛋白酶;以及至少 0.1%、约 0.3% 至约 10%、约 0.5% 至约 2%、或者甚至约 0.6% 至 1.3% 的润湿剂。

[0038] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可具有至少 500cps、约 1000cps 至约 100,000cps、约 5000cps 至约 50,000cps、或者甚至约 10,000cps 至约 20,000cps 的粘度。

[0039] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含增稠剂,所述增稠剂可包含按总的增稠剂重量计至少 1%、约 1% 至约 39%、约 2% 至约 28%、或者甚至约 5% 至约 19% 的醇部分。在前述清洁组合物的一个方面,所述增稠剂可包含多糖和 / 或多糖衍生物,所述多糖或多糖衍生物可在一个方面包括瓜耳胶、结冷胶 (gellan gum)、黄原胶以及它们的混合物。

[0040] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含按总的清洁组合物重量计约 0.5% 至约 10%、约 0.6% 至约 5%、或者甚至约 1% 至约 3% 的硅酸钠和黄原胶,在所述清洁组合物中,所述黄原胶可以使硅酸钠与黄原胶的重量比为约 15 : 1 至约 1 : 2、约 10 : 1 至约 1 : 1.5、约 3 : 1 至约 1 : 1、或者甚至约 2.5 : 1 至约 1.5 : 1 的水平存在。

[0041] 在前述清洁组合物的一个方面,所述蛋白酶可选自由下列组成的组:金属蛋白酶、丝氨酸蛋白酶以及它们的混合物;所述高效的、可逆蛋白酶抑制剂可选自由下列组成的组:肽醛、加拉定 (galardin)、蛋白质水解产物、苯基硼酸衍生物以及它们的混合物。

[0042] 在前述清洁组合物的一个方面,所述丝氨酸蛋白酶可包括来自 E. C. 3. 4. 21. 62 的碱性丝氨酸蛋白酶;所述苯基硼酸衍生物可包括 4- 甲酰苯基硼酸。

[0043] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含一种或多种酶,其中所述酶选自包含下列的组:半纤维素酶,纤维素酶,纤维二糖脱氢酶,过氧化物酶,蛋白酶,木聚糖酶,脂肪酶,磷脂酶,酯酶,角质酶,果胶酶,甘露聚糖酶,果胶酸裂合酶,角蛋白酶,还原酶,氧化酶,酚氧化酶,脂氧合酶,木素酶,支链淀粉酶,鞣酸酶,戊聚糖酶,麦拉宁酶 (melanase),  $\beta$ - 葡聚糖酶,阿拉伯糖苷酶,透明质酸酶,软骨素酶,漆酶,淀粉酶、以及它们

的混合物。

[0044] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可具有约 6 至约 11、约 7 至约 10、或者甚至约 8.3 至约 9 的 pH 值。

[0045] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含按总的清洁组合物重量计至少 0.1%,约 0.1%至约 40%、约 0.5%至约 20%、或者甚至约 1%至约 10%的纳米颗粒组分。

[0046] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含纳米颗粒组分,所述纳米颗粒组分可包含纳米粘土,所述纳米粘土选自由下列组成的组:膨润土、锂蒙脱石以及它们的混合物。

[0047] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含多聚物,所述多聚物选自由下列组成的组:

[0048] (a) 聚羧酸酯类聚合物;

[0049] (b) 磺酸盐或磺酸共聚物;

[0050] (c) 具有下列分子式的聚合物:二((C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O)(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>n</sub>)(CH<sub>3</sub>)-N<sup>+</sup>-C<sub>x</sub>H<sub>2x</sub>-N<sup>+</sup>-(CH<sub>3</sub>)-二((C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O)(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>n</sub>),其中 n 为 20 至 30 的整数,并且 x 为 3 至 8 的整数,所述聚合物任选地为硫酸盐化的或磺酸化的;

[0051] (d) 苯乙烯基共聚物;和

[0052] (e) 它们的混合物。

[0053] 在上述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含酶稳定剂成分,所述酶稳定剂成分可包括:无机盐,所述无机盐选自由下列组成的组:钙盐、镁盐以及它们的混合物,包括氯化钙和/或氯化镁;碳水化合物,所述碳水化合物选自由下列组成的组:低聚糖、多糖以及它们的混合物;以及它们的混合物。

[0054] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含按总的清洁组合物重量计约 1%至约 30%、约 2%至约 20%、或者甚至约 3%至约 9%的对环境友好的螯合剂。

[0055] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含金属护理成分,所述金属护理成分包括选自由下列组成的组的物质:苯并三唑、金属络合物、金属盐、硅酸盐以及它们的混合物。

[0056] 在前述清洁组合物的一个方面,所述清洁组合物可包含金属护理成分,所述金属护理成分包括选自由下列组成的组的物质:锌盐、甲基苯并三氮唑、硅酸钠以及它们的混合物。

[0057] 在一个方面,公开了包含金属蛋白酶、高效的可逆蛋白酶抑制剂;和辅助成分的清洁组合物。此类清洁组合物可包含高效的可逆蛋白酶抑制剂,所述高效的可逆蛋白酶抑制剂可选自由下列组成的组:加拉定、磷酸二肽(phosphoramidon)、杆菌肽锌(bacitracin zinc)以及它们的混合物。

[0058] 在一个方面,公开了可包含本发明的或多种上述清洁组合物的制品和水溶性薄膜。

[0059] 在前述制品的一个方面,该制品可包含一种或多种根据本发明的流体的清洁组合物,所述流体的清洁组合物可具有约 50cps 至约 1000cps 的粘度,所述流体的清洁组合物包含按总的流体的清洁组合物重量计约 1%至约 90%、约 2%至约 10%或者甚至约 5%至约

8%的水。

[0060] 在一个方面,所述清洁组合物和包含相同组合物的制品可具有本说明书中所公开的参数和特性的任意组合。

[0061] 适当的蛋白酶包括金属蛋白酶和丝氨酸蛋白酶,包括中性或碱性的微生物丝氨酸蛋白酶,例如枯草杆菌蛋白酶 (EC 3.4.21.62)。适当的蛋白酶包括来源于动物、植物或微生物的蛋白酶。在一个方面,此类适当的蛋白酶可以是微生物来源的。适当的蛋白酶包括前述适当的蛋白酶经化学修饰或经遗传改性的突变型。在一个方面,适当的蛋白酶可以是丝氨酸蛋白酶,例如碱性微生物蛋白酶或 / 和胰蛋白酶型蛋白酶。适当的中性或碱性蛋白酶的实例包括:

[0062] (a) 枯草杆菌蛋白酶 (EC 3.4.21.62), 包括来自杆菌,例如在 US6,312,936 B1、US 5,679,630、US 4,760,025、DE102006022216A1 和 DE 102006022224A1 中所描述的迟缓芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短小芽孢杆菌和吉氏芽孢杆菌的枯草杆菌蛋白酶。

[0063] (b) 胰蛋白酶型或胰凝乳蛋白酶型蛋白酶,例如胰蛋白酶(如来源于猪或牛的),包括描述于 WO 89/06270 中的镰刀菌蛋白酶和描述于 WO 05/052161 和 WO 05/052146 中的衍生自单胞菌的胰凝乳蛋白酶。

[0064] (c) 金属蛋白酶,包括 WO 07/044993A2 中所描述的衍生自解淀粉芽孢杆菌的金属蛋白酶。

[0065] 在一个方面,本发明的蛋白酶为低温蛋白酶,其所包括的多肽表现出与来自迟缓芽孢杆菌的野生型酶具有至少 90%, 优选至少 95%, 更优选至少 98%, 甚至更优选至少 99%, 以及特别地 100% 的同一性,利用如 W000/37627 (该专利以引用方式并入本文) 中所图示的 BPN 编号体系和氨基酸缩写,所述蛋白酶在下列位点包含一个或多个,优选地两个或多个,更优选地三个或多个突变:

[0066] 68,87,99,101,103,104,118,128,129,130,167,170,194,205 和 222 优选地,所述突变选自下列中的一个或多个,优选两个或多个,更优选三个或多个:V68A, S87N, S99D, S101G, S103A, V104N/I, Y167A, R170S, A194P, V205I 和 / 或 M222S。

[0067] 若直接与 SEQ ID NO:1 的酶进行比较,则上述各组突变对应于下列位点处的突变:

[0068] 66,85,97,99,101,102,116,126,127,128,160,164,188,199 和 216

[0069] 优选地,所述突变选自相对于 SEQ ID NO:1 的酶的下列中的一个或多个,优选两个或多个,更优选三个或多个:

[0070] V66A, S85N, S97D, S99G, S101A, V102N/I, Y161A, R164S, A188P, V199I 和 / 或 M216S。

[0071] 最优选地,所述酶选自包括下列相对于 SEQ ID NO:1 的突变(突变直接相对于 SEQ ID NO:1 编号,而不是进行 BPN 编号)的组:

[0072] (i) G116V+S126L+P127Q+S128A

[0073] (ii) G116V+S126N+P127S+S128A+S160D

[0074] (iii) G116V+S 126L+P127Q+S128A+S160D

[0075] (iv) G116V+S126V+P127E+S128K

[0076] (v) G116V+S126V+P127M+S160D

- [0077] (vi)G116V+S126F+P127L+S128T  
[0078] (vii)G116V+S126L+P127N+S128V  
[0079] (viii)G116V+S126F+P127Q  
[0080] (ix)G116V+S126V+P127E+S128K+S160D  
[0081] (x)G116V+S126R+P127S+S128P  
[0082] (xi)S126R+P127Q+S128D  
[0083] (xii)S126C+P127R+S128D  
[0084] (xiii)S126C+P127R+S128G  
[0085] (xiv)S99G+V102N  
[0086] (xv)N74D+N85S+S101A+V102I  
[0087] (xvi)N85S+V66A+S99G+V102N

[0088] 那些具有突变 (i)、(ii)、(xv) 或 (xvi) 的为尤其优选的蛋白酶。

[0089] 适当的可商购获得的蛋白酶包括 Novozymes A/S(Denmark) 以商品名 Alcalase<sup>®</sup>、Savinase<sup>®</sup>、Primase<sup>®</sup>、Durazym<sup>®</sup>、Polarzyme<sup>®</sup>、Kannase<sup>®</sup>、Liquanase<sup>®</sup>、Ovozyme<sup>®</sup>、Neutrase<sup>®</sup>、Everlase<sup>®</sup> 和 Esperase<sup>®</sup> 所出售的, Genencor International 以商品名 Maxatase<sup>®</sup>、Maxacal<sup>®</sup>、Maxapem<sup>®</sup>、Properase<sup>®</sup>、Purafect<sup>®</sup>、Purafect Prime<sup>®</sup>、Purafect Ox<sup>®</sup>、FN3<sup>®</sup>、FN4<sup>®</sup>、Excellase<sup>®</sup> 和 Purafect OXP<sup>®</sup> 所出售的, 以及 Solvay Enzymes 以商品名 Opticlean<sup>®</sup> 和 Optimase<sup>®</sup> 所出售的。低温蛋白酶的实例包括 Polarzyme<sup>™</sup>、(Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark)、Properase<sup>®</sup>、Properase BS<sup>®</sup>、Excellase<sup>®</sup>、FN3<sup>®</sup> 和 FN4<sup>®</sup> (Genencor International Inc., Palo Alto, California, USA)。

[0090] 用于抑制丝氨酸蛋白酶的适当的高效的可逆蛋白酶抑制剂包括硼酸的衍生物, 尤其是苯基硼酸及其衍生物, 以及肽醛, 包括三肽醛。此类化合物的实例公开于 WO 98/13458 A1、WO 07/113241 A1 和 USP 5, 972, 873 中。

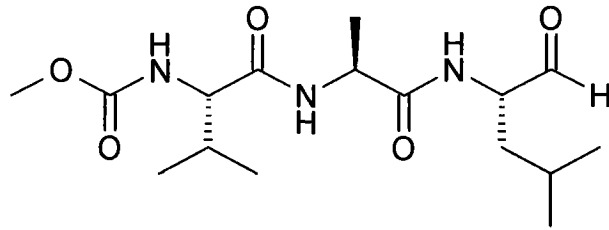
[0091] 在本发明的一个方面, 所述稳定剂可选自由下列组成的组: 噻吩-2 硼酸、噻吩-3 硼酸、乙酰氨基苯基硼酸、苯并呋喃-2 硼酸、萘-1 硼酸、萘-2 二硼酸、2- 甲酰苯基硼酸 (2-FPBA)、3-FBPA、4-FPBA、1- 噻萘硼酸、4- 二苯并呋喃硼酸、5- 甲基噻吩-2 硼酸、硫茛硼酸、呋喃-2 硼酸、呋喃-3 硼酸、4,4 二苯基二硼酸、6- 羟基-2- 萘、4-( 甲硫基) 苯基硼酸、4( 三甲基甲硅烷基) 苯基硼酸、3- 溴噻吩硼酸、4- 甲基噻吩硼酸、2- 萘硼酸、5- 溴噻吩硼酸、5- 氯噻吩硼酸、二甲基噻吩硼酸、2- 溴苯基硼酸、3- 氯苯基硼酸、3- 甲氧基-2- 噻吩、对甲基苯乙基硼酸、2- 噻萘硼酸、二苯并噻吩硼酸、4- 羧苯基硼酸、9- 萘基硼酸、3,5 二氯苯基硼酸、二苯基硼酸酐、邻氯苯基硼酸、对氯苯基硼酸、间溴苯基硼酸、对溴苯基硼酸、对氟苯基硼酸、对甲苯基硼酸、邻甲苯基硼酸、辛基硼酸、1,3,5 三甲苯基硼酸、3 氯-4- 氟苯基硼酸、3- 氨基苯基硼酸、3,5- 二-( 三氟甲基) 苯基硼酸、2,4 二氯苯基硼酸、4- 甲氧苯基硼酸以及它们的混合物。更多适于作为稳定剂的适当的硼酸衍生物描述于 USP 4, 963, 655、USP 5, 159, 060、WO 95/12655、W095/29223、WO 92/19707、WO 94/04653、WO 94/04654、USP 5, 442, 100、USP 5, 488, 157 和 USP 5, 472, 628 中。

[0092] 在一个方面, 所述高效的可逆蛋白酶抑制剂可包含 4- 甲酰苯基硼酸。

[0093] 在一个方面, 所述高效的可逆蛋白酶抑制剂包括可逆的肽蛋白酶抑制剂。适当的可逆肽蛋白酶抑制剂的实例及其制造方法可存在于 USP6, 165, 966 和 WO 98/13459 A1。

[0094] 在一个方面,所述三肽酶抑制剂具有下列结构:

[0095]



[0096] 合适的高效的可逆金属蛋白酶抑制剂可自由下列组成的组:

[0097] (i) 磷酰二肽和 / 或肽等排磷酰胺;

[0098] (ii) 硫醇,在一个方面包括,塞奥芬 (thiorphan)、卡托普利 (captopril)、硫普罗宁 (tiopronine) 和 / 或 N-2- 巯基丙酰甘氨酸;

[0099] (iii) 锌特异性螯合剂,包括四亚乙基戊胺和 / 或 1,10- 菲咯啉;

[0100] (iv) 次黄嘌呤,6- 甲基 6- 异丙色酮,3- 甲酰 6- 甲基色酮,和 / 或氯霉素;

[0101] (v) 异羟肟酸,在一个方面包括乙酰氧肟酸、苯甲羟肟酸、水杨羟肟酸和 / 或亮氨酸羟肟酸;

[0102] (vi) 二肽异羟肟酸,在一个方面包括具有一个琥珀酰 (二肽等排体) 基序的异羟肟酸,例如加拉定;

[0103] (vii) N- 羟基脲衍生物,在一个方面包括,二肽 N- 羟基脲衍生物;

[0104] (viii) 醇,羧基烷基胺肽,β- 硫酯肽,斯达汀,巴马司他 (Batimastat),和 / 或马立马司他 (Marimastat);

[0105] (ix) 三 (异丙醇胺),次黄嘌呤,3- 甲酰 6- 异丙基色酮,3- 甲酰 6- 甲基色酮,β- 乙基甲基苯甲醇,对氨基苯磺酸,氯霉素,和 / 或斑蝥素;

[0106] (x) N- 磷酰亮氨酸酰胺,和 / 或杆菌肽锌;

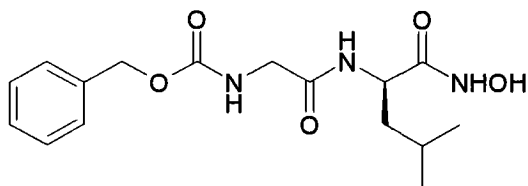
[0107] (xi) 氨基甲酸,N-[( 苯甲氧基) 羰基]N- 羟基 L- 亮氨酸酰胺 (N-CBZ-Leu-NHOH) 和 / 或 N-[( 苯甲氧基) 羰基] 甘氨酸-N- 羟基 L- 亮氨酸酰胺 (N-CBZ-Gly-Leu-NHOH);

[0108] (xii) 蛋白质水解产物选自包括下列的组:小麦谷蛋白水解产物 (如 HyPep 4601™),大豆蛋白酸水解产物 (如 Amisoy),来自牛奶的酪蛋白水解产物 (如 Amicase),来自植物蛋白的酶水解产物 (如示蛋白胨)、以及它们的任意组合。

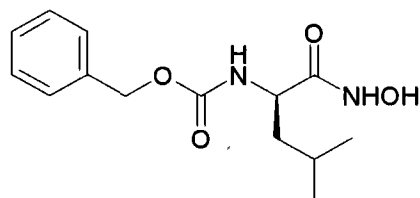
[0109] (xiii) 蛋白质水解产物混合物,所述蛋白质水解产物混合物选自包括下列的组:蛋白质水解产物;不含维生素的酪蛋白酸水解产物;酪蛋白水解产物;酪蛋白水解肉汤;酪蛋白镁肉汤;酪蛋白酵母镁琼脂;酪蛋白酵母镁肉汤;Edamin®K;明胶酶水解产物;来自玉米的谷蛋白酶水解产物;Hy-Case P;Hy-Case®M;乳清蛋白水解产物;肝脏水解产物;N-Z-Amine®B;N-Z-Amine®BT;N-Z-Amine®YTT;蛋白胨;酪蛋白胨,酸消化;来自乳清蛋白的蛋白胨,酶消化,易溶;来自肉类的蛋白胨,胃消化;来自牛奶固形物的蛋白胨;来自鲑鱼的蛋白胨;蛋白胨 Hy-Soy®T;蛋白胨 N-Z-Soy®BL 4、Primatone;蛋白质水解产物 Amicase®、蛋白质水解产物 N-Z-Amine®AS;示蛋白胨;大豆蛋白酸水解产物;胰蛋白胨;胰蛋白;和植物水解产物 (Vegetable Hydrolysate)No. 2;以及

[0110] (xiv) 它们的混合物。

[0111]



N-Cbz-Gly-Leu-NHOH

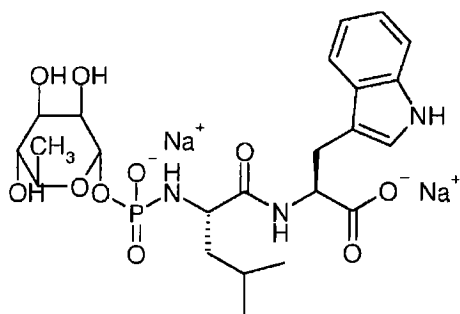


N-Cbz-Leu-NHOH

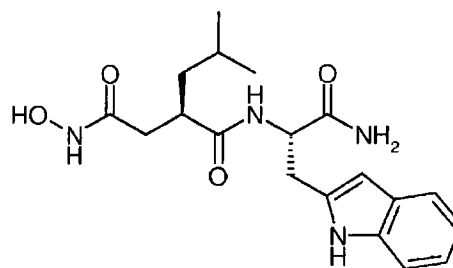
[0112] 另一个方面,适当的高效的可逆抑制剂可选自 EP 0558635 B1 和 EP0558648 B1 中所描述的那些。

[0113] 在一个方面,所述高效的可逆抑制剂可以是氧肟酸盐衍生物,例如加拉定,或磷酸二肽或杆菌肽锌。在一个方面,所述高效的可逆抑制剂可以是加拉定。上述化合物的商业来源包括 Sigma Aldrich (Milwaukee, WI, USA) 和 Calbiochem (San Diego, CA, USA)。本文所公开的单和二肽衍生物可以通过 Nishino, Norikazu ; Powers, James C., Biochemistry (1978), 17 (14), 2846-50 中所描述的方法合成。

[0114]



磷酸二肽



加拉定

[0115] 在一个方面,所述可逆的蛋白酶抑制剂选自任选地通过酶消化制得的蛋白质水解产物。在一个方面,所述蛋白质水解产物具有小于约 5000Da 的分子量。

[0116] 在一个方面,本发明的组合物包含按总的清洁组合物重量计约 0.0001% 至约 4%, 或约 0.0002% 至约 2%, 或约 0.002% 至约 1%, 或者甚至约 0.005% 至约 0.5% 的高效的可逆蛋白酶抑制剂。

[0117] 在一个方面,所述 4-甲酰苯基硼酸和所述蛋白酶可以约 10 : 1 至约 500 : 1, 或者甚至约 30 : 1 至约 200 : 1 的摩尔比存在于本发明的液体清洁组合物中。

[0118] 在一个方面,在本发明的液体清洁组合物中,所述可逆的肽蛋白酶抑制剂对蛋白酶的摩尔比可以是约 1 : 1 至约 20 : 1, 或者甚至约 1 : 1 至约 10 : 1。

[0119] 不受理论的束缚,据信在上述配方中,高效的可逆蛋白酶抑制剂必定与上述蛋白酶牢固结合,而在所述蛋白酶未被有效地释放的洗涤中,则在被稀释时结合不那么牢固。

[0120] 适当的封装的蛋白酶可以通过如下列的方法制备:

[0121] (i) 界面缩聚反应,包括通过酸性氯化物与包含至少两个胺基的化合物之间的反应和甲醛与三聚氰胺之间的缩聚反应形成的胶囊。此类方法的实例公开于 USP 4,906,396、USP 6,221,829、USP 6,359,031、US 6,242,405 和 WO 07/100501 A2 中。

[0122] (ii) 溶胶凝胶方法,包括通过氨基烷基硅烷前体和氨烷基-三烷氧基硅烷,和一种或多种烷氧基硅烷前体的反应制得的胶囊,其实例公开于 WO 05/028603 A1 和 WO

05/028604 A1 中 ;和

[0123] (iii) 聚电解质沉淀反应,包括通过脱乙酰壳多糖和海藻酸盐的反应或利用生物高分子如结冷胶形成的胶囊。这样的方法的实例公开于 EP 1,502,645 A1 中。

[0124] 在一个方面,所述封装的蛋白酶可包含按重量计至少 0.5%,或至少 1%,或至少 2%,或至少 5%,或至少 10%,或者甚至至少 20%的活性蛋白酶。

[0125] 在一个方面,封装的蛋白酶可包含按重量计约 5%至约 90%的活性蛋白酶。

[0126] 封装的蛋白酶可按总的清洁组合物重量计 0.001%至约 30%,或约 0.005%至约 25%,或约 0.05%至约 10%或者甚至约 0.01%至约 2%的水平掺入至本发明的组合物中。

[0127] 不受理论的束缚,据信具有较低的粒度有利于液相悬浮该微粒的能力,从而令液相尽可能地保持均匀。当所述封装的蛋白酶为酶的微胶囊形式时,所述微胶囊通常具有约 100 微米至约 0.05 微米、约 80 微米至约 0.05 微米、或者甚至约 50 微米至约 0.05 微米的粒度。因此,在一个方面,当此类微胶囊被掺入到清洁组合物中时,其所具有的粒度令其通常不能被消费者看见。

[0128] 在一个方面,在洗涤中经稀释时,所述封装的蛋白酶在 10 分钟、5 分钟、或者甚至 2 分钟内释放出其至少 80%的蛋白酶负载。在一个方面,上述释放速度可以于环境温度在 20°C、150rpm 搅拌和 100 倍稀释的条件下实现。蛋白酶活性可以通过任何标准的方法测定,例如利用 Sigma Aldrich (Milwaukee, Wisconsin, USA) 提供的蛋白酶分析试剂盒或者 ASTM 方法 D0348-89 (2003)。不受理论的束缚,据信当酶与污垢相互结合的时间增加时,能获得更好的洗涤效果模式。

[0129] 在一个方面,封装的蛋白酶可以是平均粒度为 200 至 1000 微米的酶的微粒 / 微球。此类酶的微粒 / 微球可按照 USP 4,106,991、USP 4,242,219、USP 4,689,297、USP 5,324,649 和 USP 7,018,821 B2 中的示范制得。在一个方面,此类酶的微粒 / 微球可包含染料和 / 或色素。在一个方面,此类酶的微粒 / 微球可包含包含羟丙基甲基纤维素和 / 或聚乙烯醇及其衍生物的包被。

[0130] 适当的润湿剂包括烷氧基脂肪醇,所述烷氧基脂肪醇具有低于约 60°C 的浊点,并且包含约 6 至约 24 个碳原子并结合了约 2 至约 50 个、或者甚至约 10 至约 50 个氧化烯部分。在一个方面,上述氧化物部分可以是环氧乙烷和 / 或环氧丙烷部分。适当的润湿剂包括 BASF Corporation, Ludwigshafen (Germany) 提供的 Plurafac SLF 4030®、Plurafac SLF-18®和 Poly-Tergent®SLF18B 45。更多的适当的润湿剂包括 WO 94/22800 中描述的环氧封端的多聚(烷氧基化的)醇。

[0131] 在一个方面,本发明的组合物可包含按总的清洁组合物重量计约 0.001%至约 15%,或约 0.1%至约 15%,或约 0.3%至约 10%,或约 0.5%至 2%或者甚至约 0.6%至 1.3%的润湿剂。

[0132] 溶剂 - 本发明的清洁组合物可包含选自水、醇类、硅酮、乙二醇、甘油以及它们的混合物的溶剂。在一个方面,上述清洁组合物可以是凝胶,并且所述溶剂可包含高于 80%、高于 90%或者甚至 100%的水。在一个方面,本发明的清洁组合物可以是可包含封装的液体的一个单位剂量。此类液体可包含选自由下列组成的组的物质:水、双丙二醇、甘油、乙醇以及它们的混合物。在一个方面,此类单位剂量的所述液相可包含按重量计约 1%至约 90%、约 2%至约 10%或者甚至约 5%至约 8%的水。

[0133] 在一个方面,本发明的清洁组合物具有约 10cps 至约 100000cps、约 30cps 至约 50,000cps、约 50cps 至约 30,000cps、或者甚至约 55cps 至约 20,000cps 的粘度。

[0134] 在一个方面,当所述清洁组合物为双相或多相的单位剂量,其中至少相为液相时,该组合物的所述液相可具有约 10cps 至约 500cps、约 30cps 至约 300cps、约 50cps 至约 200cps、或者甚至约 55cps 至约 180cps 的粘度。

[0135] 在一个方面,本发明的清洁组合物可以是凝胶,并且可具有约 500cps 或约 1000cps 至约 100,000cps、约 5,000cps 至约 50,000cps、约 10,000cps 至约 20,000cps、或者甚至约 12,000cps 至约 18,000cps 的粘度。

[0136] 在一个方面,所述凝胶还可包含增稠剂,所述增稠剂选自天然衍生的树胶聚合物的组,其中所述天然衍生的树胶聚合物在一个方面包括多糖或多糖衍生物,例如瓜耳胶、结冷胶和 / 或黄原胶。常规的洗涤剂配方可包含硼酸盐 / 二醇体系以实现组合物中蛋白酶的可逆抑制、合成聚合物如聚羧酸盐、以及高水平的助洗剂如磷酸盐以获得消费者所期望的粘度。

[0137] 不受理论的束缚,据信在一个低 / 无磷酸盐的配方中采用天然来源的聚合物,能为消费者提供对环境更加友好的洗涤剂,但却会令配方设计者陷入通过令配方包含硼酸盐 / 二醇而不含增稠剂从而提供良好的蛋白酶稳定性(以提供给消费者其所期望的清洁),或者通过包含增稠剂而不含硼酸盐从而给予消费者其所期望的粘度特征但却只有低于期望值的蛋白酶稳定性这样两难处境。本发明的组合物解决了上述这种两难处境,因为这样的组合物向消费者提供了其所期望的清洁模式,其所期望的粘度特征和对环境更加友好的洗涤剂。

[0138] 酶相关的术语

[0139] 氨基酸修饰的命名法

[0140] 本文中在描述酶的各种变体时,采用下列的命名法以便查阅:原始的氨基酸:位置:取代的氨基酸。

[0141] 根据这一命名法,举例来说,谷氨酸在 195 位对甘氨酸的取代表示为 G195E。甘氨酸在相同位置的缺失表示为 G195\*, 而一个额外的氨基酸残基如赖氨酸的插入表示为 G195GK。当特定的酶与其他酶相比包含一个“缺失”,并且在这样一个位点进行了一个插入,对于在 36 位的一个天冬氨酸插入表示为 \*36D。多重突变以加号分别,即: S99G+V102N, 代表在 99 和 102 位,丝氨酸和缬氨酸分别被甘氨酸和天冬酰胺取代的突变。当一个位点(例如 102 位)的氨基酸可能被选自一个氨基酸群体(例如由 N 和 I 组成的组)的另氨基酸取代,以 V102N/I 表示此种情况。

[0142] 就一切情况而言,公认的 IUPAC 单字母或三字母的氨基酸缩写均被采用。

[0143] 氨基酸同一性

[0144] 两种氨基酸序列之间的相关性以参数“同一性”描述。出于本发明的目的,两种氨基酸序列之间的比对利用 EMBOSS 软件包 (<http://emboss.org>) 2.8.0 版中的 Needle 程序进行。上述 Needle 程序采用的是 Needleman, S. B. and Wunsch, C. D. (1970) J. Mol. Biol. 48, 443-453 中描述的全序列比对算法。所采用的取代矩阵为 BLOSUM62, 空位开放罚分为 10, 空位延伸罚分为 0.5。

[0145] 本文中所述的酶的一段氨基酸序列(“发明序列”)与一段不同的氨基酸序列(“外

来序列”)之间的同一性程度,以这两段序列的比对方式中完全匹配的数量,除以上述“发明序列”和“外来序列”二者之中较短者的长度进行计算。其结果以同一性百分比表示。当上述“发明序列”和“外来序列”在上述重叠比对的相同位置有同样的氨基酸残基时,即存在一个完全匹配。一段序列的长度为该序列中的氨基酸残基数量。

#### [0146] 辅助成分

[0147] 虽然对于本发明的目的并非是必需的,但下文列举的非限制性辅助成分适合用于所述组合物中并且能够有利地并入到本发明的某些实施方案中,例如用以辅助或增强性能、用于处理待清洁的底物、或者如涉及香料、颜料、染料或类似辅助成分时,用以变更所述清洁组合物的审美特性。当然,此类辅助成分是在上文详述本发明的组合物的部分所列举的成分之外另加的。这些附加成分的精确特性以及它们的掺入水平取决于所述清洁组合物的物理形态和应用其的操作的特性。适当的辅助成分包括但不限于聚合物,例如阳离子聚合物、螯合剂、染料转移抑制剂、分散剂、酶、酶稳定剂、催化材料、漂白活化剂、高分子分散剂、粘土移除/抗再沉淀剂、增白剂、抑泡剂、染料、香料和香料递送体系、结构增弹剂、织物软化剂、载体、水溶助长剂、加工助剂和/或色素。除下文所公开的以外,上述其他辅助成分的适当实例及其使用水平参见 USP 5, 576, 282、USP 6, 306, 812 B1 和 USP6, 326, 348 B1。

[0148] 如上所述,上述辅助成分对申请人的清洁和织物护理组合物并非是必需的。因此,申请人的组合物的某些实施方案并不包含下列辅助成分中的一种或多种:漂白活化剂、表面活性剂、助洗剂、螯合剂、染料转移抑制剂、分散剂、酶、酶稳定剂、催化金属络合物、高分子分散剂、粘土和土壤移除/抗再沉淀剂、增白剂、抑泡剂、染料、附加的香料和香料递送体系、结构增弹剂、织物软化剂、载体、水溶助长剂、加工助剂和/或色素。但是,当一种或多种辅助成分存在时,此一种或多种辅助成分可如下文详述的方式存在:

[0149] 酶-所述清洁组合物可包含一种或多种提供洗涤性能和/或有益于织物护理的酶。适当的酶的实例包括但不限于半纤维素酶、纤维素酶、纤维二糖脱氢酶、过氧化物酶、蛋白酶、木聚糖酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、甘露聚糖酶、果胶酸裂合酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂氧合酶、木素酶、支链淀粉酶、鞣酸酶、戊聚糖酶、麦拉宁酶(melanase)、 $\beta$ -葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酸酶、软骨素酶、漆酶、淀粉酶以及它们的混合物。典型的组合为多酶混合物,所述多酶混合物可包含例如蛋白酶和与淀粉酶协同作用的脂肪酶。当存在于清洁组合物中时,前述附加的酶可以按所述组合物的重量计约 0.00001%至约 2%、约 0.0001%至约 1%、或者甚至约 0.001%至约 0.5%酶蛋白的水平存在。

[0150] 适当的 $\alpha$ -淀粉酶包括细菌或真菌的起源的那些。经化学修饰或遗传修饰的突变型(变异体)均包括在内。在一个方面,适当的碱性 $\alpha$ -淀粉酶来源于芽孢杆菌菌株,例如地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、芽孢杆菌、或者其他芽孢杆菌属,例如芽孢杆菌属的 NCIB 12289、NCIB 12512、NCIB 12513、DSM 9375(USP 7, 153, 818)、DSM12368、DSM 12649、KSM AP1378(WO 97/00324)、KSM K36 或 KSM K38(EP1, 022, 334) 菌株。适当的淀粉酶包括:

[0151] (a)WO 94/02597、WO 94/18314、WO 96/23874 和 WO 97/43424 中描述的变异体,以及在一个方面,相对于 WO 96/23874 中列为 SEQID No. 2 的酶,在下列位点中的一个或多个发生了取代的变异体:15、23、105、106、124、128、133、154、156、181、188、190、197、202、208、

209、243、264、304、305、391、408 和 444。

[0152] (b) USP 5, 856, 164, WO 99/23211、WO 96/23873、WO 00/60060 和 W006/002643 中描述的变异体, 以及在一个方面, 相对于 W006/002643 中列为 SEQ ID No. 12 的 AA560 酶, 在下列位点中的一个或多个发生了取代的变异体: 9、26、30、33、82、37、106、118、128、133、149、150、160、178、182、186、193、195、202、203、214、231、256、257、258、269、270、272、283、295、296、298、299、303、304、305、311、314、315、318、319、320、323、339、345、361、378、383、419、421、437、441、444、445、446、447、450、458、461、471、482、484 在一个方面还可包含缺失 D183\* 和 G184\*。

[0153] (c) 与 WO 06/002643 中的 SEQ ID No. 4 表现出至少 90% 同一性的变异体, 来自芽孢杆菌 SP722 的野生型酶, 以及在一个方面, 在 183 和 184 位具有缺失的变异体和 WO 00/60060 中描述的变异体。

[0154] (d) 来自芽孢杆菌 sp. 707 的变异体, 其序列显示为 SEQ ID NO :2, 优选地包含下列突变中的一个或多个: M202、M208、S255、R172 和 / 或 M261。优选地, 所述淀粉酶包含 M202L、M202V、M202S、M202T、M202I、M202Q、M202W、S255N 和 / 或 R172Q 中的一个或多个。包含 M202L 或 M202T 突变的变异体为特别优选的。

[0155] 在一个方面, 优选的淀粉酶包括那些相对于 WO 06/002643 中列为 SEQ ID No. 12 的 AA560 酶, 在下列位点具有一个或多个, 优选两个或多个, 更优选三个或多个, 尤其优选四个或多个取代的: 9、26、149、182、186、202、257、295、299、323、339 和 345; 并且选择性地下列位点具有一个或多个, 优选四个或多个, 更优选全部的取代和 / 或缺失的: 118、183、184、195、320 和 458, 其若存在, 则优选包含 R118K、D183\*、G184\*、N195F、R320K 和 / 或 R458K。

[0156] 在一个方面, 优选的变异体淀粉酶包括那些相对于 WO 06/002643 中列为 SEQ ID No. 12 的 AA560 酶, 包含下列突变组的:

[0157] (i) M9L+M323T;

[0158] (ii) M9L+M202L/T/V/I+M323T;

[0159] (iii) M9L+N195F+M202L/T/V/I+M323T;

[0160] (iv) M9L+R118K+D183\*+G184\*+R320K+M323T+R458K;

[0161] (v) M9L+R118K+D183\*+G184\*+M202L/T/V/I+R320K+M323T+R458K;

[0162] (vi) M9L+G149A+G182T+G186A+M202L+T257I+Y295F+N299Y+M323T+A339S+E345R;

[0163] (vii) M9L+G149A+G182T+G186A+M202I+T257I+Y295F+N299Y+M323T+A339S+E345R;

[0164] (viii) M9L+R118K+G149A+G182T+D183\*+G184\*+G186A+M202L+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K;

[0165] (ix) M9L+R118K+G149A+G182T+D183\*+G184\*+G186A+M202I+T257I+Y295F+N299Y+R320K+M323T+A339S+E345R+R458K;

[0166] (x) M9L+R118K+D183\*+D184\*+N195F+M202L+R320K+M323T+R458K;

[0167] (xi) M9L+R118K+D183\*+D184\*+N195F+M202T+R320K+M323T+R458K;

[0168] (xii) M9L+R118K+D183\*+D184\*+N195F+M202I+R320K+M323T+R458K;

[0169] (xiii) M9L+R118K+D183\*+D184\*+N195F+M202V+R320K+M323T+R458K;

[0170] (xiv) M9L+R118K+N150H+D183\*+D184\*+N195F+M202L+V214T+R320K+M323T+R458K;

或

[0171] (xv)M9L+R118K+D183\*+D184\*+N195F+M202L+V214T+R320K+M323T+E345N+R458K.

[0172] 适当的可商购获得的  $\alpha$ -淀粉酶包括 DURAMYL<sup>®</sup>、LIQUEZYME<sup>®</sup> TERMAMYL<sup>®</sup>、TERMAMYL ULTRA<sup>®</sup>、NATALASE<sup>®</sup>、SUPRAMYL<sup>®</sup>、STAINZYME<sup>®</sup>、STAINZYME PLUS<sup>®</sup>、STAINZYME ULTRA<sup>®</sup>、FUNGAMYL<sup>®</sup>、BIOAMYLASE-D(G)、BIOAMYLASE<sup>®</sup> L 和 BAN<sup>®</sup> (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark)、KEMZYM<sup>®</sup> AT 9000 (Biozym Biotech Trading GmbH Wehlistrasse 27b A-1200 Wien Austria)、RAPIDASE<sup>®</sup>、PURASTAR<sup>®</sup>、OPTISIZE HT PLUS<sup>®</sup>和 PURASTAROXAM<sup>®</sup> (Genencor International Inc., Palo Alto, California) 以及 KAM<sup>®</sup> 14-10 (Nihonbashi Kayabacho, 1-chome, Chuo-ku Tokyo 103-8210, Japan)。在一个方面,适当的淀粉酶包括 NATALASE<sup>®</sup>、STAINZYME<sup>®</sup>、STAINZYME PLUS<sup>®</sup>以及它们的混合物。

[0173] 酶稳定剂成分 - 适当的酶稳定剂包括低聚糖、多糖和二价金属无机盐,例如碱土金属盐类,尤其是钙盐。在一个方面,适当的酶稳定剂包括氯化物和硫酸盐。在一个方面,适当的酶稳定剂包括氯化钙。适当的低聚糖和多糖的实例例如糊精可见于 WO 07/145964 A2。

[0174] 环境友好的螯合剂 - 适当的对环境友好的螯合剂包括一种或多种基于氨基酸的螯合剂、基于琥珀酸的螯合剂、柠檬酸以及它们的盐。

[0175] 适当的基于氨基酸的化合物的实例包括 MGDA(甲基甘氨酸二乙酸)及其盐和衍生物,和 GLDA(谷氨酸-N,N-二乙酸)及其盐和衍生物。其他适当的助洗剂描述于 USP 6,426,229。特别适合的助洗剂包括例如天冬氨酸-N-单乙酸(ASMA)、天冬氨酸-N,N-二乙酸(ASDA)、天冬氨酸-N-单丙酸(ASMP)、亚氨基二琥珀酸(IDA)、N-(2-磺甲基)天冬氨酸(SMAS)、N-(2-磺乙基)天冬氨酸(SEAS)、N-(2-磺甲基)谷氨酸(SMGL)、N-(2-磺乙基)谷氨酸(SEGL)、N-甲基亚氨基二乙酸(MIDA)、 $\alpha$ -丙氨酸-N,N-二乙酸( $\alpha$ -ALDA)、丝氨酸-N,N-二乙酸(SEDA)、异丝氨酸-N,N-二乙酸(ISDA)、苯丙氨酸-N,N-二乙酸(PHDA)、邻氨基苯甲酸-N,N-二乙酸(ANDA)、对氨基苯磺酸-N,N-二乙酸(SLDA)、氨基乙磺酸-N,N-二乙酸(TUDA)和磺甲基-N,N-二乙酸(SMDA)以及它们的碱金属盐或铵盐。在一个方面,可使用 GLDA 盐及其衍生物。在一个方面,可使用 GLDA 的四钠盐。

[0176] 适当的琥珀酸化合物的实例描述于 USP 5,977,053。在一个方面,适当的琥珀酸化合物包括亚氨基琥珀酸四钠盐。

[0177] 功能性聚合物 - 适当的聚合物包括聚羧酸盐、磺化的聚合物、基于胺的聚合物、苯乙烯共聚物以及它们的混合物。

[0178] 在一个方面,基于聚羧酸盐的聚合物包括可具有约 500Da 至约 500,000Da、或约 1,000Da 至约 100,000Da、或者甚至约 3,000Da 至约 80,000Da 的平均分子量的聚羧酸盐聚合物。在一个方面,适当的聚羧酸盐可选自包括下列的组:包含丙烯酸的聚合物如 Sokalan PA30、PA20、PA15、PA10 和 sokalan CP10 (BASF GmbH, Ludwigshafen, Germany), Acusol<sup>™</sup> 45N、480N、460N 和 820 (Rohm and Haas 有售, Philadelphia, Pennsylvania, USA), 聚丙烯酸如 Acusol<sup>™</sup> 445 和 Acusol<sup>™</sup> 420 (Rohm and Haas 有售, Philadelphia, Pennsylvania, USA), 丙烯酸/马来酸共聚物如 Acusol<sup>™</sup> 425N 以及丙烯酸/甲基丙烯酸共聚物。此类聚合物的若干实例公开于 WO 95/01416 中。

[0179] 在一个方面,所述磺化的聚合物可选自包括下列的组:Acusol<sup>™</sup> 588 (Rohm and

Haas 有售, Philadelphia, Pennsylvania, USA), Versaflex Si™ (Alco Chemical 有售, Tennessee, USA), 以及 USP 5, 308, 532 和 WO2005/090541 中所描述的那些。

[0180] 在一个方面, 所述基于胺的聚合物包括具有下列一般结构的化合物: 二  $((C_2H_5O)(C_2H_4O)_n)(CH_3)-N+-C_xH_{2x}-N+-(CH_3)-$  二  $((C_2H_5O)(C_2H_4O)_n)$ , 其中  $n = 20$  至  $30$ ,  $x = 3$  至  $8$ , 或者它们的硫酸盐化或磺化的变体。

[0181] 在一个方面, 所述苯乙烯共聚物可选自包括下列的组: 苯乙烯与丙烯酸和任选地磺酸基团的共聚物, 其具有  $1,000$  至  $50,000$  或者甚至  $2,000$  至  $10,000$  范围内的平均分子量, 例如 Alco Chemical (Tennessee, USA) 以商品名 Alcosperse®729 和 747 所出售的那些。

[0182] 不受理论的束缚, 可包括上述功能性聚合物以在形成斑点和薄膜、分散性、清洁以及饮料污渍的洗涤这些方面中的一个或多个方面带来好处。

[0183] 适当的低润湿非离子表面活性剂包括环氧乙烷和环氧丙烷嵌段共聚物表面活性剂。适当的实例可具有下列化学结构和性质:

[0184]  $HO(C_2H_4O)_a(C_3H_6O)_b(C_2H_4O)_cH$

[0185] 在一个方面, 所述低润湿非离子表面活性剂可以从 BASF Corporation (Ludwigshafen, Germany) 以商品名 Pluronic®10R5、Pluronic®F127NF 和 Pluronic®L44NF 购得。

[0186] 增稠剂 - 适当的增稠剂, 例如触变性增稠剂, 包括粘土、树胶、聚合物和凝胶。上述增稠剂可提供消费者所期望的粘度并提高液态产品的稳定性。本文所用的增稠剂包括那些选自粘土、聚羧酸盐如 Polygel®、树胶、羧甲基纤维素、聚丙烯酸酯、以及它们的化合物的增稠剂。本文中的粘土增稠剂可具有双层结构。所述粘土可以是天然存在的, 例如膨润土, 或者是人工制造的, 例如 Laponite®。合成锂皂石由 Southern Clay Products, Inc. 提供。

[0187] 在一个方面, 所述增稠剂可包含按总的增稠剂重量计至少 1 重量%、约 1 重量% 至约 39 重量%、约 2 重量% 至约 28 重量%、或者甚至约 5 重量% 至约 19 重量% 的醇部分。

[0188] 另一个方面, 增稠剂可以是天然衍生的树胶聚合物, 所述天然衍生的树胶聚合物可表征为海生植物的、陆生植物的、微生物多糖的和多糖衍生物的。海生植物树胶的实例包括琼脂、藻酸盐、角叉菜胶和红藻胶。陆生植物树胶的实例包括瓜耳胶、阿拉伯胶、黄耆树胶、刺梧桐树胶、刺槐豆胶和果胶。微生物多糖的实例包括葡聚糖、结冷胶、鼠李聚糖胶、文莱胶和黄原胶。多糖衍生物的实例包括羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟乙基纤维素、丙二醇藻酸盐和羟丙基瓜耳胶。

[0189] 在一个方面, 增稠剂可以包括甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素如 Dow Chemical Company (Midland, Michigan, USA) 以商品名 Methocel® 出售的、黄原胶、结冷胶、瓜耳胶与羟丙基瓜耳胶、琥珀酰聚糖以及三羟基硬脂酸甘油酯。结构剂的其他示例包括非多聚的羟基功能结构剂, 例如蓖麻油及其衍生物。可商购获得的、基于蓖麻油的、结晶状的、包含羟基的结构剂包括来自 Rheox, Inc. (Hightstown, New Jersey, USA) 的 THIXCIN®。在一个方面, 可使用瓜耳胶、结冷胶和黄原胶以及它们的衍生物, 例如以商品名 Rhodopol™ 23 (Rhodia, Courbevoie, France 有售)、KELCOGEL™ (CPKelco, Houston, Texas, USA) 出售的, 和来源于野油菜黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris*) 并由 Jungbunzlauer International AG (Basel, Switzerland) 出售的黄原胶类。

[0190] pH 调节组分 - 在一个方面, 根据本发明的液体洗涤剂的 pH 可为约 6 至约 11、约

7 至约 10、或者甚至约 8.3 至约 9。可使用 pH 调节组分以获得期望的 pH。所述 pH 调节组分可选自钠或钾的氢氧化物、钠或钾的碳酸盐或倍半碳酸盐、钠或钾的硅酸盐,包括二硅酸钠、硅酸钠和结晶层状硅酸盐、钠或钾的碳酸氢盐、硫酸、硝酸、盐酸以及它们的混合物。在一个方面,所述 pH 调节组分可至少部分地包含硅酸盐,例如硅酸钠。不受理论的束缚,相信配方中的硅酸盐水平和其质量相对于上述增稠剂质量的比例对于提供消费者所期望的粘度是重要的。在一个方面,上述硅酸盐可包括硅酸钠,并且此类硅酸钠可以按总的清洁组合物重量计约 0.5% 至约 10%、约 0.6% 至约 5%、或者甚至约 1% 至约 3% 的含量存在。当上述结构剂包含可能存在的黄原胶时,所述硅酸钠则可按总的清洁组合物重量计约 0.5% 至约 2%、或者甚至约 0.7% 至约 1.2% 的含量存在。另一个方面,硅酸钠对黄原胶的重量比可为约 15 : 1 至约 1 : 2、约 10 : 1 至约 1 : 1.5、约 3 : 1 至约 1 : 1、或者甚至约 2.5 : 1 至约 1.5 : 1。

[0191] 金属护理剂 - 金属护理剂可防止或减少金属,包括铝、不锈钢和有色金属如银和铜的锈蚀、腐蚀或氧化。适当的实例包括下列中的一种或多种:

[0192] (a) 苯并三唑类,包括苯并三唑或二苯并三唑以及它们的取代衍生物。苯并三唑衍生物是芳环上可供取代的位点部分地或完全地发生了取代的化合物。适当的取代基包括线性或支链的  $C_1-C_{20}$ -烷基和羟基、硫代、苯基或卤素如氟、氯、溴和碘。

[0193] (b) 金属盐和络合物选自由下列组成的组:锌、锰、钛、锆、钨、钼、镓和铈的盐和 / 或络合物,上述金属处于氧化态 II、III、IV、V 或 VI 中的一者。在一个方面,适当的金属盐和 / 或金属络合物可选自由下列组成的组:硫酸锰 (II)、柠檬酸锰 (II)、硬脂酸锰 (II)、乙酰丙酮锰、 $K_2TiF_6$ 、 $K_2ZrF_6$ 、 $CoSO_4$ 、 $Co(NO_3)_2$  和  $Ce(NO_3)_3$ 、锌盐,例如硫酸锌、水锌矿或醋酸锌。

[0194] (c) 硅酸盐,包括硅酸钠或硅酸钾、二硅酸钠、硅酸钠、结晶层状硅酸盐以及它们的混合物。

[0195] 作为银 / 铜腐蚀抑制剂的更多适当的有机和无机的、具有氧化还原活性的物质公开于 WO 94/26860 和 WO 94/26859 中。

[0196] 在一个方面,本发明的清洁组合物中可使用六水合硫酸锌、甲基苯并三氮唑和硅酸钠中的一种或多种。

[0197] 漂白剂和非金属漂白催化剂 - 本发明的清洁组合物可包含一种或多种漂白剂。除漂白催化剂以外的适当的漂白剂包括光漂白剂、漂白活化剂、过氧化氢、过氧化氢源、预制过酸以及它们的混合物。通常,当使用漂白剂时,本发明的清洁组合物可包含按主题清洁组合物的重量计约 0.1% 至约 50% 或者甚至约 0.1% 至约 25% 的漂白剂。在一个方面,所存在的任何漂白剂均处于令其不能与存在于所述清洁组合物中的酶发生反应的形态。例如,这可以通过将漂白剂封装或者以其他方式将其与所述酶在物理上分隔而实现。适当的漂白剂的实例包括:

[0198] (1) 预制过酸:适当的预制过酸包括化合物,所述化合物选自由下列组成的组:过羧酸及其盐、过碳酸及其盐、过亚胺酸及其盐、过硫酸及其盐,例如 Oxone<sup>®</sup>、以及它们的混合物。适当的过羧酸包括具有分子式  $R-(C=O)O-O-M$  的疏水和亲水的过酸,其中 R 为烷基,其任选地带有分枝,当所述过酸为疏水的时,其具有 6 至 14 个碳原子或从 8 至 12 个碳原子,并且当所述过酸为亲水的时,其具有少于 6 个碳原子或者甚至少于 4 个碳原子;而 M 为抗衡

离子,例如钠、钾或氢离子。实例包括过苯甲酸和过氧羧酸,例如单或双过氧化邻苯二甲酸、2-辛基双过氧丁二酸、双过氧化十二烷二羧酸、双过氧化壬二酸和亚胺基过氧羧酸,以及任选地,它们的盐。在一个方面,可使用过氧壬酸和邻苯二甲酰亚氨基过氧己酸(PAP)。

[0199] (2) 过氧化氢源,例如无机的过氧化氢盐,包括碱金属盐,如过硼酸盐(通常为—或四水合物)、过碳酸盐、过硫酸盐、过磷酸盐和过硅酸盐的钠盐以及它们的混合物。在本发明的一个方面,上述无机的过氧化氢盐可选自由下列组成的组:过硼酸盐、过碳酸盐的钠盐以及它们的混合物。当使用无机的过氧化氢盐时,其可以相对于总的清洁组合物0.05%至40%或1%至30重量%的量存在,并可作为结晶固体掺入至这样的组合物中,并且其中所述结晶固体可以是被包被的。适当的包被剂包括无机盐如碱金属的硅酸盐、碳酸盐或硼酸盐或它们的混合物,或者有机材料如水溶性的或可分散的聚合物、蜡、油剂或脂肪酸皂;和

[0200] (3) 具有R-(C=O)-L结构的漂白活化剂,其中R为烷基,其任选地带有分枝;当所述漂白活化剂为疏水时,此烷基具有6至14个碳原子,或8至12个碳原子;并且当所述漂白活化剂为亲水时,具有少于6个的碳原子或者甚至少于4个的碳原子;并且L为离去基团。适当的离去基团的实例包括苯甲酸及其衍生物—尤其是苯磺酸盐。适当的漂白活化剂包括十二烷酰基氧苯磺酸盐、癸酰氧苯磺酸盐、癸酰水杨酸或其盐、3,5,5-三甲基己酰氧苯磺酸盐、四乙酰乙二胺(TAED)和壬酰氧苯磺酸盐(NOBS)。适当的漂白活化剂还公开于WO 98/17767中。虽然任何适当的漂白活化剂均可使用,在本发明的一个方面,主题清洁组合物可包含NOBS、TAED或它们的混合物。

[0201] (4) 适当的非金属漂白催化剂和此类催化剂在本发明的清洁组合物中使用时的适当水平公开于USP 7,169,744 B2和USP2006/0287210 A1。

[0202] 当上述过酸和/或漂白活化剂存在时,其一般按总的清洁组合物重量计约0.1%至约60%、约0.5%至约40%或者甚至约0.6%至约10%的重量百分比水平存在。一种或多种疏水的过酸或其前体可与一种或多种亲水的过酸或其前体联合使用。

[0203] 过氧化氢源和过酸或漂白活化剂的量可以是经过选择的,以使有效氧(来自过氧化氢源)与过酸的摩尔比例为1:1至35:1,或者甚至2:1至10:1。

[0204] 催化金属络合物—申请人的清洁组合物可包含催化金属络合物。包含金属的漂白催化剂的类型是包含具有确定的漂白催化活性的过渡金属阳离子,例如铜、铁、钛、钆、钨、钼或锰离子,没有或几乎没有漂白催化活性的辅助金属阳离子,例如锌或铝离子,和对上述催化性阳离子和辅助性阳离子具有确定的稳定常数的螯合剂,特别是乙二胺四乙酸、乙二胺四甲叉膦酸(methylenephosphonic acid)和它们的可溶性盐的催化体系。这样的催化剂的实例公开于USP 4,430,243。

[0205] 必要时,本文的清洁组合物可通过锰的化合物进行催化。这样的化合物及其使用水平为本领域所熟知,并且包括例如USP 5,576,282所公开的基于锰的催化剂。

[0206] 可用于本文的钴漂白催化剂是已知的并且描述于例如USP 5,597,936、USP 5,595,967中。上述钴催化剂通过已知的方法,例如USP 5,597,936,和USP 5,595,967中所描述的,可以容易地制得。

[0207] 本文所述的清洁组合物还适合包括过渡金属络合物配体如bispidone(WO 05/042532 A1),和/或大多环刚性配体—缩写为“MRL”。作为一个实际问题,而非作为

限制,可对本文中的清洁组合物和方法进行调整,以在水性洗涤液中提供大约至少一亿分之一的活性 MRL,并且通常将在所述洗液中提供约 0.005ppm 至约 25ppm、约 0.05ppm 至约 10ppm、或者甚至约 0.1ppm 至约 5ppm 的 MRL。上述速溶的过渡金属漂白催化剂中适当的过渡金属包括例如锰、铁和铬。适当的 MRL 包括 5,12-二乙基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷。适当的过渡金属 MRL 通过已知的方法,例如 W000/32601 和 USP 6,225,464 B1 中所描述的,可以容易地制得。

[0208] 控泡剂-适当的控泡剂包括硅酮和石蜡油。所述控泡剂可按总的清洁组合物重量计 5%或更少、或者甚至 2%或更少的量存在于所述清洁组合物中。

[0209] 纳米颗粒组分-纳米颗粒组分可包括纳米颗粒和任选地用以防止所述纳米颗粒聚集的分散剂。

[0210] 适当的纳米颗粒的实例公开于 EP 1,837,394 A1 中。在一个方面,纳米颗粒可选自粘土、金属氧化物、碳酸盐以及它们的混合物。在一个方面,纳米颗粒可选自二氧化钛、氧化锌、氧化铈以及它们的混合物。

[0211] 在一个方面,在本发明的清洁组合物中使用纳米颗粒,所述纳米颗粒选自由下列组成的组:粘土和金属氧化物。纳米粘土可以是具有成层结构的带电晶体。所述晶体的顶端和底部通常带负电,而其内部可带正电。由于纳米粘土的带电性质,据信其在溶液中倾向于聚集形成对洗涤不能发挥有效作用的大的结构。此外,此类结构还可能沉淀在洗过的制品上并留下不可取的薄膜。具体地讲,此类纳米粘土可在洗涤水中钙和镁离子的存在下趋于聚集。在本发明的一个方面,上述洗涤液体中的纳米粘土是剥离的。所谓“剥离的”是指所述纳米粘土以独立的晶体形态存在,特别是具有约 10nm 至约 300nm 粒度的单个晶体形态。上述晶体的粒度可以按照 ASTM E1037-84(版本 1,2004)的方法,用马尔文 zetalyzer 粒度仪测定。本文所提到的纳米粘土粒度是 z-平均直径,其为光强平均粒度。纳米粘土可以是天然来源或者合成来源。适用于本文的纳米粘土可具有约 10nm 至约 300nm、约 20nm 至约 100nm 或者甚至约 30nm 至约 90nm 的粒度(z-平均直径)。适合用于本发明中的分层的粘土矿物包括地质学分类上属于绿土、高岭土、伊利石、绿泥石、绿坡缕石以及混层粘土的矿物。例如,蒙脱石包括蒙脱石、膨润土、叶蜡石、锂蒙脱石、皂石、锌蒙脱石、囊脱石、滑石、贝得石、铬高岭石和蛭石。高岭土包括高岭石、地开石、珍珠陶土、叶蛇纹石、蠕陶土、多水高岭土、indellite 和温石绒。伊利石包括漂云母、白云母、钠云母、金云母和黑云母。绿泥石包括绿泥间蛭石、叶绿泥石、片硅铝石、须藤石、叶绿泥石和斜绿泥石。绿坡缕石包括海泡石和 polygorskyte。混层粘土包括钠板石(allevardite)和黑云母蛭石(vermiculitebiotite)。

[0212] 在本发明的一个方面,可使用的纳米粘土包括天然的或合成的锂蒙脱石、蒙脱土和膨润土。在本发明的一个方面,可使用合成的锂蒙脱石粘土。商品化锂蒙脱石的一般的来源包括来自 Rockwood Additives Limited Princeton, New Jersey, USA 或 Southern Clay Products, Inc., Texas, USA 的 LAPONITE 类;来自 R. T. Vanderbilt, Company Inc. (Norwalk, Connecticut, U. S. A.) 的 Veegum Pro 和 Veegum F;和来自 Baroid Division, National Read Company (Oklahoma, USA) 的 Barasymms, Macaloids 和 Propaloids。合成的锂蒙脱石由 Rockwood Additives Limited Princeton (New Jersey, USA) 和 Southern Clay Products, Inc. (Texas, USA) 以商品名 LAPONITE 在市场上出售。有多种等级的合成锂皂石或其变体

和同晶形取代在市场上出售。商品化的锂蒙脱石的实例包括 Lucentite SWN、LAPONITE S、LAPONITE XLS、LAPONITE RD 和 LAPONITE RDS。在本发明的一个方面,可使用 Laponite RD。

[0213] 微粒的最长径对微粒的最短径的比值通常称为该微粒的长宽比。可以认为,所述微粒在分散介质中的长宽比在若干微粒聚集在一起时要低于单个微粒的长宽比。分散体的长宽比可以通过 TEM(透射电子显微镜)得到恰当的检定。较高的长宽比对于可用于本文中的纳米粘土是可取的。在一个方面,所述清洁组合物中的纳米粘土的长宽比为从 5 至约 35,或者甚至约 10 至约 20。

[0214] 在本发明的一个方面,所述清洁组合物进一步包含分散剂。不受理论的约束,据信所述分散剂有助于令所述纳米颗粒保持剥离,尤其当处于硬水条件(硬度高于约 200ppm(以  $\text{CaCO}_3$  计))下时。在本发明的一个方面,所述纳米粘土和所示分散剂的重量比可为约 1 : 1 至约 1 : 10,或者甚至约 1 : 2 至约 1 : 8。在此范围之外则可能发生絮凝或聚集。

[0215] 可用于本文的适当的分散剂包括:

[0216] (a) 低分子量聚丙烯酸酯同聚物,其重均分子量为约 1,000Da 至约 30,000Da,约 2,000Da 至约 20,000Da 或者甚至约 3,000Da 至约 12,000Da ;

[0217] (b) 环境友好的螯合剂,特别是 MGDA(甲基-甘氨酸-二乙酸)和 GLDA(谷氨酸-N,N-二乙酸酯);

[0218] (c) 以及它们的混合物。

[0219] 发泡非离子表面活性剂-适当的发泡非离子表面活性剂包括线性或支链的烷氧基醇,例如 BASF Corporation(Ludwigshafen, Germany) 以商品名 Lutensol XL60、Lutensol XL70、Lutensol XL90 出售的非离子表面活性剂。

[0220] 溶剂-适当的溶剂包括水、醇类、乙二醇多元醇以及其他溶剂,例如亲脂性流体。在本发明的一个方面,适当的溶剂包括水、乙醇、丙二醇、双丙二醇、其他对环境友好的溶剂以及它们的混合物。

[0221] 水溶性薄膜-在本发明的一个方面,本发明的清洁组合物可为水溶性小袋的形式。在一个方面,多相的单位剂量小袋,例如注塑的、真空的或热成形的多隔室状小袋。用以实现单位剂量的适当生产方法描述于 WO 02/42408 和 EP 1,447,343 B1 中。任何与本发明的清洁组合物不矛盾,并且允许所述清洁组合物在一台洗碗机的主洗涤循环的掺入水溶性成膜聚合物均可用作封装材料。在一个方面,成膜材料可选自聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚亚烷基氧化物、纤维素、纤维素醚、纤维素酯、纤维素酰胺、聚乙酸乙烯酯、聚酰胺和聚丙烯酰胺。在一个方面,成膜材料可选自可选自聚酰胺、聚甲基丙烯酸酯、聚乙烯醇、聚乙烯醇共聚物、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、以及它们的混合物。在一个方面,所述成膜材料包括聚乙烯醇(PVA)。

[0222] 适当的小袋材料包括商品名为 Monosol M8630 的 PVA 薄膜,Chris-Craft Industrial Products(Gary, Indiana, US) 有售,以及具有相当的溶解度和可变形性的 PVA 薄膜。其他适合用于本文中的薄膜包括 Aicello Chemical Co Ltd(Toyohashi, Aichi, Japan) 提供的 PT 薄膜或 K- 系列薄膜,或由 Kuraray Co Ltd(Chiyoda-ku, Tokyo) 提供的 VF-HP 薄膜。

[0223] 不受理论的束缚,相信当用于单位剂量的配方包括液相时,所述液相应包含充分

量的水以防止薄膜破裂（含水量过低），但水量又不宜多至令薄膜溶解。在一个方面，所述清洁组合物的液相可包含按总的液相重量计约 1% 至约 90%、约 2% 至约 70%、约 2% 至约 10%、或者甚至约 5% 至约 8 重量% 的水。

#### [0224] 制造和使用组合物的方法

[0225] 本发明的组合物可被设计为任何适当的形态，并通过配方设计者所选择的任何方法制备，所述方法的非限制性的实例参见 USP 5, 879, 584、USP 5, 691, 297、USP 5, 574, 005、USP 5, 569, 645、USP 5, 565, 422、USP 5, 516, 448、USP 5, 489, 392、USP 5, 486, 303。

#### [0226] 使用方法

[0227] 如本领域的普通技术人员所应理解的，本发明的清洁组合物理想地适用于盘碟洗涤。因此，本发明包括用于洗涤厨房用具的方法。所述方法包括使厨房用具与盘碟洗涤清洁溶液接触的步骤。在一个方面，公开了使用本发明的清洁组合物的方法，所述方法包括使厨房用具与多种未经稀释或经稀释状态的清洁组合物接触，以及在接触步骤之前、期间和/或之后，任选地漂洗和/或冲洗所述厨房用具。

[0228] 所述溶液可具有约 8 至约 10.5 的 pH。所述组合物在溶液中可以约 2000ppm 至约 20,000ppm 的浓度使用。水温范围通常为约 40°C 至约 70°C。

#### [0229] 测试方法

[0230] 应当理解，本申请的测试方法部分所公开的测试方法，应用于按照本文所描述和主张的发明测定申请人的发明的各项参数的值。

#### [0231] $K_I$ 测定

[0232]  $K_I$  的测定：抑制常数  $K_I$  可以通过标准方法加以测定，参见 Keller et al, Biochem. Biophys. Res. Com. 176, 1991, pp. 401-405; J. Bieth in Bayer-Symposium "Proteinase Inhibitors", pp. 463-469, Springer-Verlag, 1974 and Lone Kierstein Hansen in "Determination of Specific Activities of Selected Detergent Proteases using Protease Activity, Molecular Weights, Kinetic Parameters and Inhibition Kinetics", PhD-report, Novo Nordisk A/S and University of Copenhagen, 1991 和 USP 5, 972, 873, 该专利以引用方式并入本文。

[0233] Savinase™ 的抑制常数  $K_I$  可用标准方法如 US 5, 972, 873 中所述地在下列条件下进行测量：

[0234] • 底物：琥珀酰 - 丙氨酸 - 丙氨酸 - 脯氨酸 - 苯丙氨酸 - 对硝基苯胺 = SAAPFpNA (Sigma S-7388)。

[0235] • 缓冲液：0.1M Tris-HCl pH 8.6 ; 25°C。

[0236] • 测试中的酶浓度：

[0237] • 所使用的蛋白酶为购自 Novozymes A/S 的 Savinase® :  $1 \times 10^{-10}$  -  $3 \times 10^{-10}$  M

[0238] 底物水解的初始速度在 0.01 至 2mM 范围内的九个底物浓度使用 Cobas Fara 自动分光光度计测定。动力学参数  $V_{max}$  和  $K_m$  利用 ENZFITTER (非线性回归数据分析程序) 测定。

[0239]  $k_{cat}$  根据方程式  $V_{max} = k_{cat} \times [E_0]$  算出。活性酶  $[E_0]$  的浓度通过利用紧密结合的蛋白酶抑制剂进行活性位置滴定测得。抑制常数  $K_I$  通过以  $K_m/k_{cat}$  作为抑制剂浓度的参数作图而算出。所述抑制剂被假定纯度为 100%，其摩尔浓度用称重值和分子量算出。

#### [0240] pH

- [0241] pH 按照 ES ISO 10523 :2001( 版本 1) 标准方法测定。
- [0242] 粘度测定方法
- [0243] 粘度用一台粘度计 (AR2000 型, TA Instruments (New Castle, Delaware, USA) 有售) 测定, 每一样品在 25°C 的样品温度, 用一 40mm<sup>2</sup> 的钢锥, 以 0.01 和 150s<sup>-1</sup> 之间的剪切速率检测。粘度以单位厘泊 (cps) 表示, 并以 1s<sup>-1</sup> 的剪切速率测定。
- [0244] 平均粒度
- [0245] 平均粒度按照 ASTM E1037-84( 版本 1, 2004) 测定。
- [0246] 罗斯-迈尔斯泡沫高度
- [0247] 罗斯-迈尔斯泡沫高度按照 DIN 53902-2, 1977 方法, 采用下列条件测定: 按重量计 0.1% 的水溶液的泡沫高度 (mm) 于 24°C ± 1°C 的温度, 在 5 分钟后测量。
- [0248] 德拉夫斯润湿时间
- [0249] 德拉夫斯润湿时间按照 ISO 8022 :1990 方法, 采用下列条件测定: 3-g 钩, 5-g 棉球, 温度为 25°C 的按重量计 0.1% 的水溶液。

## 实施例

- [0250] 除非另有说明, 物质可从 Aldrich, P. O. Box 2060, Milwaukee, WI53201, USA 购得。
- [0251] 实施例 1: 封装的蛋白酶的合成
- [0252] 在一个实施例中, 将 Novozymes A/S 提供的蛋白水解活性为 44KNPU/g 的 Savinase 水制剂 (777g) 与 45% 的聚乙烯吡咯烷酮 K60 溶液 (190g) 混合, 并向该混合物中加入 32.4g 的二亚乙基三胺 (DETA)。
- [0253] 通过将 221g 21% 的乳液稳定剂与 208g 的异链烷烃混合制得油相, 其中所述异构烷烃为挥发性的烃溶剂, 选自 ExxonMobil (Houston, Texas, USA) 所出售的挥发性烃 Isopar 类。
- [0254] 将上述包含 DETA 的酶的含水混合物加入到上述油相中, 并用高剪切力的 Silverson 混合器将其均质化, 以形成具有约 3 μm 的平均液滴粒度的油包水乳液。在此步骤中, 上述乳液的温度维持在低于 40°C。上述乳液形成后, 再加入 571g 的上述挥发性溶剂以稀释上述油包水乳液。
- [0255] 所得到的乳液被置于机械搅拌下并被加热至 37°C。通过将 34g 的对苯二酰氯 (TPC) 溶于 966g 的上述挥发性溶剂制得油单体相。此油单体相被加入至上述温热的乳液, 并经历 5 分钟以上以起始壁形成反应。围绕着上述细密的酶的含水液滴, 形成了聚酰胺膜。将上述反应混合物搅拌 30 分钟, 以完成界面聚合。
- [0256] 所得到的悬浮液具有一个约占此悬浮液总重量 33% 的分散相。
- [0257] 然后通过蒸馏令上述悬浮液脱水, 并以非离子表面活性剂对其进行溶剂交换处理, 以提供在非离子表面活性剂中充分稳定分散的微粒, 其中所述非离子表面活性剂充分地如 WO 94/25560 的实施例 1 中所述, 其中所述微粒具有约 3 μm 的平均粒度。上述悬浮液具有约 40KNPU/g 的蛋白水解活性。
- [0258] 在此过程中, 外壳的形成令人满意, 并且当稳定剂是下列共聚物中的任意一个时, 在上述溶剂交换步骤的最初和之后, 以及当被加入至洗涤剂浓缩物中时, 形成了稳定的单微粒分散相:

- [0259] 苯乙烯 / 甲基丙烯酸十八酯 / 甲基丙烯酸共聚物,重量比为 30/30/40。
- [0260] 甲基丙烯酸十八酯 / 甲基丙烯酸,66/34。
- [0261] 甲基丙烯酸十八酯 / 甲基丙烯酸甲酯 / 丙烯酸,50/25/25。
- [0262] 甲基丙烯酸十八酯 / 甲基丙烯酸,64/36。
- [0263] 甲基丙烯酸十八酯 / 甲基丙烯酸甲酯 / 丙烯酸 / 甲基丙烯酸,40/50/5/5。
- [0264] 丙烯腈 / 丙烯酸十二酯 / 丙烯酸,25/35/40。
- [0265] 甲基丙烯酸十二酯 / 苯乙烯 / 丙烯酸,40/50/10。
- [0266] 苯乙烯 / 丙烯酸二十二酯 (docosaryl acrylate) / 甲基丙烯酸,55/35/10。
- [0267] 甲基丙烯酸十八酯 / 乙酸乙烯酯 / 甲基丙烯酸甲酯 / 甲基丙烯酸,35/10/45/10。
- [0268] 然后将可以将所得到的非离子表面活性剂中的分散相与常规的液体洗涤剂浓缩物的其他组分混合,从而将上述非离子表面活性剂和包含酶的微粒均引入至该洗涤剂中。这种制备法进一步的细节描述于 USP 6, 242, 405 B1 中。
- [0269] 实施例 2-3 :ADW 双相小袋
- [0270] 小袋的制造方法 :
- [0271] 表 1 中的清洁组合物被引入具有两腔室、矩形底部的分层的 PVA 小袋。上述两腔室的小袋系由如 Chris-Craft Industrial Products 所提供的 Monosol M8630 薄膜制得。17. 2g 的所述微粒状组合物和 4g 的所述液体组合物被置于所述小袋的两个不同腔室中。载荷低于 2Kg 的小袋尺寸为 :长 3. 7cm,宽 3. 4cm,高 1. 5cm。如此,纵向 / 横向的长宽比为 1. 5 : 3. 2 或 1 : 2. 47。上述小袋系用双无穷表面方法制造,两个表面均作连续的水平直线运动。按照此方法,通过嵌于第一无穷表面的移动的第一开放小袋网络的成型和填充,制得第一小袋网络,并以与之同步移动的已填料和密封的第二小袋网络封闭此第一开放小袋网络。
- [0272] 表 1
- [0273]

	2 (重量%)	3 (重量%)
<u>微粒状组合物</u>		
十四烷基二甲胺氧化物	5	0
SLF-18 Poly-Tergent <sup>®</sup>	5	1.5
羟基亚乙基二膦酸 (HEDP) (62.5%活性)	1	0.4
Termamyl <sup>®</sup> (21.55mg 活性物质/g)	1.5	0.3
FN3 <sup>®</sup> (123mg 活性物质/g)	2	0
过碳酸钠	15	3.0
五胺乙酸-硝酸钴 (III) (1%活性)	0	0.5
碳酸钠	9	45
硅酸盐 2R (SiO <sub>2</sub> :Na <sub>2</sub> O 比例为 2:1) (48%活性)	6	0
二硅酸钠 (80%活性)	0	5.0
香料	0.5	0.5
甲基甘氨酸二乙酸 (83%活性)	0	14
Alcosperse <sup>™</sup> 725 (36%活性) <sup>6</sup>	0	2.0
辅助成分	余量至 100%	余量至 100%
<u>液体组合物</u>		
FN3 液 (48mg 活性物质/g) <sup>4</sup>	3.0	0.0
肽醛 <sup>5</sup>	0.05	0.0
Savinase Ultra XL (44mg 活性/g) <sup>2</sup>	0	6.0
甲酸钠	0	0.1
染料	0.5	0.2
双丙二醇和其他辅助成分	余量至 100%	余量至 100%

[0274] 实施例 4-15: 自动的盘碟洗涤凝胶

[0275] 表 2

[0276]

	4 (重量%)	5 (重量%)	6 (重量%)	7 (重量%)	8 (重量%)
润湿剂 <sup>1</sup>	1.0	1.3	0.8	1	0.9
苯甲酸钠 (33%活性)	0.61	0.61	0.61	0.6	0.6
黄原胶	1.0	0.8	1.2	1	1.1
硫酸钠	10.0	10.0	10.0	8	10
香料	0.03	0.05	0.03	0.06	0.1
硅酸钠	0	0	0	0	2
柠檬酸 (50%活性)	12.5	14	11	12	12
Savinase Ultra XL (44mg 活性/g) <sup>2</sup>	0.7	0	0.3	0	0
4-甲酰-苯基硼酸	0	0	0.05	0	0
封装的蛋白酶 (10mg/g) <sup>3</sup>	0.0	2.0	0.0	0	0
FN3 液 (48mg 活性物质/g) <sup>4</sup>	0.0	0.0	0	0.6	0
蛋白酶微粒 (123 mg 活性物质/g) <sup>4</sup>	0	0	0	0	0.5
肽醛 <sup>5</sup>	0.0	0.0	0	0.0025	0
乙醇	0.0	0.0	0	0.3	0
氢氧化钾 (45% 活性)	14.6	14.6	14.6	14	0
氯化钙 (25% 活性)	1.8	1.8	1.8	1.1	0.4
染料	0.05	0.05	0.05	0.05	0.02
Proxcel GXL™ (19% 活性) <sup>8</sup>	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Acusol™ 820 <sup>9</sup>	0.34	0.34	0.3	0.35	0.3
Acusol™ 425N (50% 活性) <sup>9</sup>	3.0	3.0	3.5	2.5	2
Termamyl Ultra® (25 mg/g 活性) <sup>2</sup>	0.2	0	0	0	0.1
Stainzyme Plus® (12 mg/g 活性) <sup>2</sup>	0	0.3	0.2	0	0.2
Natalase® (29 mg/g 活性) <sup>2</sup>	0	0	0	0.2	0
水和其他辅助成分	余量至 100%	余量至 100%	余量至 100%	余量至 100%	余量至 100%

[0277] 表 3

[0278]

	9 (重量%)	10 (重量%)	11 (重量%)	12 (重量%)	13 (重量%)	14 (重量%)	15 (重量%)
润湿剂 <sup>1</sup>	1.0	1.3	1.2	0.8	0.9	1	1
苯甲酸钠	0.2	0.2	0.3	0.1	0.2	0.2	0.2
黄原胶	0.8	0.8	1	1	0.7	0.8	0.8
香料	0.1	0.12	0.07	0.1	0.1	0.1	0.08

[0279]

硅酸钠	1.8	2	2.5	1.4	3	1.8	1.5
甲基甘氨酸二乙酸	5	6	4	5	5	0	0
丙烯酸甲基丙烯酸共聚物 <sup>7</sup>	7.5	8	8	6	7	7.5	6
谷氨酸-N, N-二乙酸	0	0	0	0	0	5	6
Savinase Ultra XL (44mg 活性/g) <sup>2</sup>	0.8	0	0.6	0	0	1	0
4-甲酰-苯基硼酸	0	0	0.05	0	0	0	0
封装的蛋白酶 (20mg/g) <sup>3</sup>	0.0	1.4	0.0	0	0	0	0
FN3 液 (48mg 活性物质/g) <sup>4</sup>	0.0	0.0	0	0.6	0	0	0
蛋白酶微粒 (123mg 活性物质/g) <sup>4</sup>	0	0	0	0	0.5	0	0.6
肽醛 <sup>5</sup>	0.0	0.0	0	0.0025	0	0	0
乙醇	0.0	0.0	0	0.3	0	0	0
氯化钙	0.45	0.4	0.5	0.3	0.6	0.45	0.45
染料 (7%活性)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.02	0.05	0.04
Proxcel GXL <sup>8</sup>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Acusol™ 425N (50%活性) <sup>6</sup>	0	3	0	1.5	2	0	1
bis ((C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O) (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>n</sub> ) (CH <sub>3</sub> )-N+-C <sub>x</sub> H <sub>2x</sub> -N+- (CH <sub>3</sub> )- bis ((C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O) (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>n</sub> )	2	1.5	1.7	2	2	0	1
Termamyl Ultra® (25 mg/g 活性) <sup>2</sup>	0.2	0	0	0	0.1	0	0.1
Stainzyme Plus® (12 mg/g 活性) <sup>2</sup>	0	0.3	0.2	0	0.2	0	0.4
Natalase® (29mg/g 活性) <sup>2</sup>	0	0	0	0.2	0	0.2	0
水和其他辅助成分	余量至 100%	余量至 100%	余量至 100%	余量至 100%	余量至 100%	余量至 100%	余量至 100%

[0280] <sup>1</sup> 由 BASF, Ludwigshafen, Germany 以商品名 Polytergent® SLF-18 出售。

[0281] <sup>2</sup> 由 Novozymes A/S, Denmark 出售。

[0282] <sup>3</sup> 本发明的封装的蛋白酶

[0283] <sup>4</sup> 由 Genencor International, California, USA 出售。出售。适当的蛋白酶微粒以商品名 FN3®和 Properase®出售。

[0284] <sup>5</sup> 本发明的肽醛。

[0285] <sup>6</sup> 由 Alco Chemical, Tennessee, USA 出售。

[0286] <sup>7</sup> 这样的适当的聚合物由 Nippon Shokubai, Japan 以商品名 Aqualic TL 出售。

[0287] <sup>8</sup> 由 Arch Chemicals Incorporated, Smyrna, Georgia, USA 出售。

[0288] <sup>9</sup> 由 Rohm and Haas, Philadelphia, Pennsylvania, USA 出售。

[0289] 关于清洁组合物实施例 2-15 的物质和注释

[0290] 2.0R 硅酸盐由 PQ Corporation, Malvern, PA, USA 提供

[0291] 碳酸钠由 Solvay, Houston, Texas, USA 提供

[0292] 过碳酸钠 ( $2\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}_2$ ) 由 Solvay, Houston, Texas, USA 提供

[0293] 羟基亚乙基二膦酸 (HEDP) 由 Dow Chemical, Midland, Michigan, USA 提供

[0294] 本文所公开的量纲和值不旨在被理解为严格地限于所述的精确值。相反,除非另外指明,每个上述尺寸旨在表示所述值以及该值附近的函数等效范围。例如,公开为“40mm”的量纲旨在表示“约 40mm”。

[0295] 在发明详述中引用的所有文件都在相关部分中以引用方式并入本文中。对于任何文件的引用不应当解释为承认其是有关本发明的现有技术。当本发明中术语的任何含义或定义与以引用方式并入的文件中术语的任何含义或定义矛盾时,应当服从在本发明中赋予该术语的含义或定义。

[0296] 虽然已经举例说明和描述了本发明的具体实施方案,但是对于本领域技术人员来说显而易见的是,在不背离本发明实质和范围的情况下可以做出多个其他改变和变型。因此,权利要求书意欲包括在本发明范围内的所有这样的改变和变型。

[0001]

## 序列表

&lt;110&gt; Procter &amp; Gamble

&lt;120&gt; 自动的盘碟洗涤组合物

&lt;130&gt; CM3267FM

&lt;160&gt; 2

&lt;170&gt; PatentIn 版本 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 269

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 嗜碱芽孢杆菌 PB92

&lt;400&gt; 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Ala Pro Gly Val Asn Val Gln Ser Thr Tyr Pro Gly Ser Thr Tyr

[0002]

195	200	205
Ala Ser 210	Leu Asn Gly Thr Ser Met Ala Thr Pro His Val Ala Gly Ala 215	
Ala Ala Leu Val Lys Gln Lys Asn Pro Ser Trp Ser Asn Val Gln Ile 225	230	235 240
Arg Asn His Leu Lys Asn Thr Ala Thr Ser Leu Gly Ser Thr Asn Leu 245	250	255
Tyr Gly Ser Gly Leu Val Asn Ala Glu Ala Ala Thr Arg 260	265	
<p>&lt;210&gt; 2                  &lt;211&gt; 485                  &lt;212&gt; PRT                  &lt;213&gt; 芽孢杆菌属 707                  &lt;400&gt; 2</p>		
His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr 1	5	10 15
Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Asn Ser Asp Ala Ser 20	25	30
Asn Leu Lys Ser Lys Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp 35	40	45
Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr 50	55	60
Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly 65	70	75 80
Thr Arg Ser Gln Leu Gln Ala Ala Val Thr Ser Leu Lys Asn Asn Gly 85	90	95
Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp 100	105	110
Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn 115	120	125
Gln Glu Val Thr Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Arg Phe Asp 130	135	140
Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Ser Phe Lys Trp Arg Trp Tyr 145	150	155 160
His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Arg Leu Asn Asn Arg 165	170	175

[0003]

Ile Tyr Lys Phe Arg Gly His Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp  
 180 185 190  
 Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met  
 195 200 205  
 Asp His Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr  
 210 215 220  
 Thr Asn Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His  
 225 230 235 240  
 Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala  
 245 250 255  
 Thr Gly Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu  
 260 265 270  
 Gly Ala Ile Glu Asn Tyr Leu Gln Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val  
 275 280 285  
 Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly  
 290 295 300  
 Gly Asn Tyr Asp Met Arg Asn Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg  
 305 310 315 320  
 His Pro Ser His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro  
 325 330 335  
 Glu Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala  
 340 345 350  
 Tyr Ala Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr  
 355 360 365  
 Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Arg Ser  
 370 375 380  
 Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Lys  
 385 390 395 400  
 Gln Asn Asp Tyr Leu Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu  
 405 410 415  
 Gly Asn Thr Ala His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp  
 420 425 430  
 Gly Ala Gly Gly Ser Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly  
 435 440 445

[0004]

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

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

Ile Trp Val Asn Lys  
485