

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
23. November 2017 (23.11.2017)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2017/198463 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
C11D 3/386 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2017/060497

(22) Internationales Anmeldedatum:
03. Mai 2017 (03.05.2017)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2016 208 408.9
17. Mai 2016 (17.05.2016) DE

(71) Anmelder: HENKEL AG & CO. KGAA [DE/DE]; Henkelstr. 67, 40589 Düsseldorf (DE).

(72) Erfinder: MUSSMANN, Nina; Am Kuhbusch 109, 47877 Willich (DE). O'CONNELL, Timothy; Mehlbeerstr. 10, 86899 Landsberg am Lech (DE). HERBST, Daniela; Achenbachstraße 75, 40237 Düsseldorf (DE). VAN LIER, Margret; Einsiedelstraße 5, 40597 Düsseldorf (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT,

LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)

— mit dem Sequenzprotokollteil der Beschreibung (Regel 5 Absatz 2 Buchstabe a)

(54) Title: WASHING OR CLEANING AGENT CONTAINING A POLYETHYLENE TEREPHTHALATE HYDROLASE

(54) Bezeichnung: WASCH- ODER REINIGUNGSMITTEL ENTHALTEND EINE POLYETHYLENTEREPHTHALAT HYDROLASE

(57) Abstract: The present invention relates to the field of enzyme technology, in particular the anti-pilling action of enzymes, as used, for example, in washing or cleaning agents. The invention relates to an agent, in particular a washing or cleaning agent, which contains a PETase (polyethylene terephthalate hydrolase), as defined herein. The present invention further relates to a method for cleaning textiles using the agent and to the use of the claimed agent for removing stains. The invention also relates to the use of a PETase for reducing pilling effects and/or for reducing anti-grey effects and/or for improving the cleaning performance of an agent, preferably a washing or cleaning agent.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung liegt auf dem Gebiet der Enzymtechnologie, insbesondere der Enzyme mit Anti-Pilling Wirkung, wie sie zum Beispiel in Wasch- oder Reinigungsmitteln verwendet werden. Die Erfindung betrifft ein Mittel, insbesondere Wasch- oder Reinigungsmittel, welches eine PETase (Polyethylenterephthalat Hydrolase), wie hierin definiert, enthält. Ferner betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Reinigung von Textilien unter Verwendung des Mittels sowie die Verwendung des erfindungsgemäßen Mittels zur Entfernung von Anschmutzungen. Des Weiteren richtet sich die Erfindung auf die Verwendung einer PETase zur Verringerung von Pilling-Effekten und/oder zur Verringerung von Anti-Grau-Effekten und/oder zur Verbesserung der Reinigungsleistung in einem Mittel, vorzugsweise einem Wasch- oder Reinigungsmittel.



WO 2017/198463 A1

„Wasch- oder Reinigungsmittel enthaltend eine Polyethylenterephthalat Hydrolase“

Die vorliegende Erfindung liegt auf dem Gebiet der Enzymtechnologie, insbesondere der Enzyme mit Anti-Pilling Wirkung, wie sie zum Beispiel in Wasch- oder Reinigungsmitteln verwendet werden. Die Erfindung betrifft ein Mittel, insbesondere Wasch- oder Reinigungsmittel, welches eine PETase (Polyethylenterephthalat Hydrolase), wie hierin definiert, enthält. Ferner betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Reinigung von Textilien unter Verwendung des Mittels sowie die Verwendung des erfindungsgemäßen Mittels zur Entfernung von Verschmutzungen. Des Weiteren richtet sich die Erfindung auf die Verwendung einer PETase zur Verringerung von Pilling-Effekten und/oder zur Verringerung von Anti-Grau-Effekten in einem Mittel, vorzugsweise einem Wasch- oder Reinigungsmittel.

Bei mehrfacher Wäsche von Kleidungsstücken weisen diese mit der Zeit Pilling auf. Dies gilt für Textilien jeglicher Art und ist vom Konsumenten unerwünscht, da das Kleidungsstück dadurch älter und unansehnlich wirkt. Als Pilling bezeichnet man die Knötchen- oder Fusselbildung bei Stoffen. Diese kleinen Fussel entstehen insbesondere bei kurzfasrigen Stoffen. Bei langfasrigen und verzwirnten Fasern entsteht Pilling dagegen weniger stark. Allgemein entstehen diese Knötchen durch lose Fasern im Stoff oder solche die sich aus dem Gewebe gelöst haben. Synthetische Fasern neigen durch ihre glatte Oberfläche eher zum Pilling als Naturfasern, weil synthetische Fasern schneller aus dem Gewebe gelöst werden können als raue Naturfasern. Bei Wollstoffen „verfilzen“ diese Fasern hauptsächlich durch mechanische Reibung und bilden Knötchen an der Oberfläche.

Die Hauptauswirkung von Pilling ist eine optische Beeinträchtigung. Durch die Knötchenbildung an der Oberfläche sehen Stoffe schnell gebraucht und älter aus als sie sind. Dagegen wird die Funktionalität des Stoffes kaum bis gar nicht beeinträchtigt. Zum Beispiel wird durch die andauernde Ausdünnung des Stoffes die Atmungsaktivität sogar gesteigert. Pilling findet insbesondere an mechanisch stark beanspruchten Stellen statt, meist sind dies Schulter- und Bundbereich. Durch die fortlaufende Ausdünnung des Stoffes sind vor allem diese beanspruchten Bereiche gefährdet Löcher zu bilden oder gar zu reißen.

Eine technische Lösung um den Pilling-Effekt zu verringern liegt bislang nur für Baumwoll-Textilien vor. Hierbei werden Cellulasen im Reinigungsmittel verwendet um den Pilling-Effekt zu verringern (siehe beispielsweise DE 69632910 T3). Das heißt, dass Cellulasen im Waschmittel eingesetzt

werden, um Anti-Pilling bzw. Anti-Grau Wirkung zu zeigen und so dafür zu sorgen, dass Kleidung länger wie neu wirkt. Cellulasen wirken jedoch ausschließlich auf Baumwolltextilien. Für andere Textilien, wie z.B. Polyester Textilien, gibt es keine vergleichbare Möglichkeit Pilling zu reduzieren. Daher ist es wünschenswert und es besteht eine Nachfrage nach Lösungen, die das Pilling von Textilien, insbesondere Textilien, die synthetische Fasern wie Polyester enthalten, zu reduzieren.

Überraschenderweise haben die Erfinder der vorliegenden Erfindung gefunden, dass PETasen (Polyethylenterephthalat Hydrolasen), insbesondere eine PETase aus *Ideonella sakaiensis*, im Waschprozess aktiv sind und eine Anti-Pilling Wirkung zeigen. Im Vergleich zu Waschmittel ohne PETasen, ist vorgepilltes Gewebe bzw. neues Gewebe nach mehreren Wäschen mit einem Waschmittel, das die erfindungsgemäße PETase enthält, weniger gepillt. Außerdem bleiben die Farben länger strahlend durch die ebenfalls vorhandene Anti-Grau Wirkung.

Die oben beschriebene Aufgabe, die der vorliegenden Anmeldung zugrunde liegt, wird daher dadurch gelöst, dass Mitteln, insbesondere Wasch- oder Reinigungsmitteln, eine PETase zugesetzt wird. Der Zusatz der PETase bewirkt, dass mit den erfindungsgemäßen Mitteln gewaschene Textilien, insbesondere Polyester-haltige Textilien, ein signifikant verringertes Pilling im Vergleich zu einem Kontrollwaschmittel ohne PETasen aufweisen.

Daher richtet sich in einem ersten Aspekt die vorliegende Erfindung auf ein Mittel, insbesondere ein Wasch- oder Reinigungsmittel, dadurch gekennzeichnet, dass es eine PETase enthält.

In einem weiteren Aspekt richtet sich die vorliegende Erfindung auf Verfahren zur Reinigung von Textilien, dadurch gekennzeichnet, dass in mindestens einem Verfahrensschritt ein erfindungsgemäßes Mittel angewendet wird.

In noch einem Aspekt richtet sich die vorliegende Erfindung ferner auf die Verwendung eines wie hierin beschriebenen Mittels, vorzugsweise Wasch- oder Reinigungsmittel, besonders bevorzugt flüssige Waschmittel, zur Entfernung von Verschmutzungen.

Darüber hinaus beinhaltet ein weiterer Aspekt der Erfindung, die Verwendung einer PETase zur Verringerung von Pilling-Effekten und/oder zur Verringerung von Anti-Grau-Effekten und/oder zur Verbesserung der Reinigungsleistung eines Mittels, vorzugsweise eines Wasch- oder Reinigungsmittels, besonders bevorzugt eines Flüssigwaschmittels, wobei das Mittel die PETase enthält.

Diese und weitere Aspekte, Merkmale und Vorteile der Erfindung werden für den Fachmann aus dem Studium der folgenden detaillierten Beschreibung und Ansprüche ersichtlich. Dabei kann jedes Merkmal aus einem Aspekt der Erfindung in jedem anderen Aspekt der Erfindung eingesetzt werden. Ferner ist es selbstverständlich, dass die hierin enthaltenen Beispiele die Erfindung be-

schreiben und veranschaulichen sollen, diese aber nicht einschränken und insbesondere die Erfindung nicht auf diese Beispiele beschränkt ist. Alle Prozentangaben sind, sofern nicht anders angegeben, Gewichts-% bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung. Numerische Bereiche, die in dem Format „von x bis y“ angegeben sind, schließen die genannten Werte ein. Wenn mehrere bevorzugte numerische Bereiche in diesem Format angegeben sind, ist es selbstverständlich, dass alle Bereiche, die durch die Kombination der verschiedenen Endpunkte entstehen, ebenfalls erfasst werden.

„Mindestens ein“, wie hierin verwendet, schließt ein, ist aber nicht begrenzt auf, 1, 2, 3, 4, 5, 6 und mehr.

PETasen (Polyethylenterephthalat Hydrolasen) sind eine Klasse von Hydrolasen, die im Jahr 2016 entdeckt wurden und die Eigenschaft besitzen, die Spaltung von PET (Polyethylenterephthalat) in Mono(2-hydroxyethyl)terephthalsäure zu katalysieren. Das Enzym ist um ein Vielfaches aktiver als bisher bekannte vergleichbare Enzyme (z.B. PET-Esterasen und Cutinasen).

Die Erfindung richtet sich insbesondere auf die Verwendung einer PETase aus *Ideonella sakaiensis* gemäß SEQ ID NO:1 (GeneBank accession number GAP38911.1) oder eine mature PETase davon gemäß SEQ ID NO:2. Im Gegensatz zu den bisher erforschten Cutinasen und PET-Esterasen, die bei höheren Temperaturen ($\geq 60^{\circ}\text{C}$) aktiv sind und PET nur sehr langsam abbauen, zeigt die neu gefundene PETase eine wesentlich höhere Aktivität auf amorphem und sogar auf kristallinem PET und dies auch bei 40°C und neutralen bis mild alkalischen pH Werten – also unter Waschbedingungen.

Die beobachteten Leistungen dieser PETase sind vielfältig. Zum einen verhindert das Enzym die Pill-Bildung auf neuen Polyester-Textilien bzw. unterstützt diesen Effekt in Kombination mit einer Cellulase auf Polyester/Baumwoll-Mischtextilien. Zum anderen können bereits gebildete Pills reduziert werden, was dem sogenannten „Renew“ Effekt entspricht, der zurzeit bei Wollpflegeprodukten ausgelobt und durch die Cellulase Technologie bewirkt wird. Des Weiteren verhindert die PETase die Vergrauung von weißer Wäsche und das Verblässen von farbiger Wäsche. Außerdem zeigt die PETase eine direkte Reinigungsleistung auf Flecken auf Polyester-haltigen Textilien.

Durch die richtige Dosierung können all die oben genannten positiven Wascheigenschaften erreicht werden, ohne die Faser signifikant zu schädigen. Ein weiterer wichtiger Aspekt, vor allem bei Behandlung von Polyester-haltiger Kleidung, ist auch die Nachhaltigkeit. Dadurch dass die Textilien länger neuwertig aussehen, werden sie länger getragen und werden seltener durch neu gekaufte Stücke ersetzt. Dies führt zu einer Reduktion des CO_2 -Footprints, da weniger Polyester für die Produktion neuer Textilien verbraucht wird.

In verschiedenen Ausführungsformen der Erfindung ist die PETase ein frei vorliegendes Enzym. Dies bedeutet, dass die PETase mit allen Komponenten des Mittels direkt agieren kann und, falls es sich bei dem Mittel um ein Flüssigmittel handelt, dass die PETase direkt mit dem Lösungsmittel des erfindungsgemäßen Mittel (z.B. Wasser) in Kontakt steht. In anderen Ausführungsformen kann das erfindungsgemäße Mittel PETasen enthalten, die einen Interaktionskomplex mit anderen Molekülen bilden oder die eine „Umhüllung“ enthalten. Hierbei kann ein einzelnes oder mehrere PETase Moleküle durch eine sie umgebende Struktur von den anderen Bestandteilen des Mittels getrennt sein. Eine solche trennende Struktur kann entstehen durch, ist allerdings nicht beschränkt auf, Vesikel, wie etwa eine Micelle oder ein Liposom. Die umgebende Struktur kann aber auch ein Viruspartikel, eine bakterielle Zelle oder eine eukaryotische Zelle sein. In verschiedenen Ausführungsformen kann das erfindungsgemäße Mittel Zellen von *Ideonella sakaiensis*, die die PETasen gemäß SEQ ID NO:1 und SEQ ID NO:2 exprimieren, oder Zellkulturüberstände solcher Zellen enthalten.

In verschiedenen bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung ist die PETase eine PETase, die mindestens 70 % Sequenzidentität mit der in SEQ ID NO:1 oder SEQ ID NO:2 angegebenen Aminosäuresequenz über deren Gesamtlänge aufweist. In weiter bevorzugten Ausführungsformen ist die im erfindungsgemäßen Mittel enthaltene PETase eine PETase gemäß SEQ ID NO:1 oder SEQ ID NO:2. In verschiedenen Ausführungsformen der Erfindung handelt es sich bei der PETase um eine PETase aus *Ideonella sakaiensis*, insbesondere die PETase mit der Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:1, bzw. eine davon, beispielsweise mittels Mutagenese, abgeleitete PETase.

In verschiedenen weiteren Ausführungsformen ist das Mittel dadurch gekennzeichnet, dass

- (a) die PETase aus einer wie oben definierten PETase als Ausgangsmolekül durch ein- oder mehrfache konservative Aminosäuresubstitution erhältlich ist; und/oder
- (b) die PETase aus einer wie oben definierten PETase als Ausgangsmolekül erhältlich ist durch Fragmentierung, Deletions-, Insertions- oder Substitutionsmutagenese und eine Aminosäuresequenz umfasst, die über eine Länge von mindestens 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600 oder 603 zusammenhängenden Aminosäuren mit dem Ausgangsmolekül übereinstimmt.

Die erfindungsgemäßen Mittel enthalten die PETase in einer Menge von 0,00001 – 1 Gew.-%, bevorzugt in einer Menge von 0,001 – 0,1 Gew.-% bezogen auf das aktive Protein.

In verschiedenen Ausführungsformen der Erfindung umfasst die PETase eine Aminosäuresequenz, die zu der in SEQ ID NO:1 oder SEQ ID NO:2 angegebenen Aminosäuresequenz über deren Gesamtlänge zu mindestens 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%,

81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5% und 98,8% identisch ist.

Die Bestimmung der Identität von Nukleinsäure- oder Aminosäuresequenzen erfolgt durch einen Sequenzvergleich. Dieser Sequenzvergleich basiert auf dem im Stand der Technik etablierten und üblicherweise genutzten BLAST-Algorithmus (vgl. beispielsweise Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool." J. Mol. Biol. 215:403-410, und Altschul, Stephan F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Hheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997): "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs"; Nucleic Acids Res., 25, S.3389-3402) und geschieht prinzipiell dadurch, dass ähnliche Abfolgen von Nukleotiden oder Aminosäuren in den Nukleinsäure- oder Aminosäuresequenzen einander zugeordnet werden. Eine tabellarische Zuordnung der betreffenden Positionen wird als Alignment bezeichnet. Ein weiterer im Stand der Technik verfügbarer Algorithmus ist der FASTA-Algorithmus. Sequenzvergleiche (Alignments), insbesondere multiple Sequenzvergleiche, werden mit Computerprogrammen erstellt. Häufig genutzt werden beispielsweise die Clustal-Serie (vgl. beispielsweise Chenna et al. (2003): Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. Nucleic Acid Research 31, 3497-3500), T-Coffee (vgl. beispielsweise Notredame et al. (2000): T-Coffee: A novel method for multiple sequence alignments. J. Mol. Biol. 302, 205-217) oder Programme, die auf diesen Programmen beziehungsweise Algorithmen basieren. Ferner möglich sind Sequenzvergleiche (Alignments) mit dem Computer-Programm Vector NTI® Suite 10.3 (Invitrogen Corporation, 1600 Faraday Avenue, Carlsbad, Kalifornien, USA) mit den vorgegebenen Standardparametern, dessen AlignX-Modul für die Sequenzvergleiche auf ClustalW basiert.

Solch ein Vergleich erlaubt auch eine Aussage über die Ähnlichkeit der verglichenen Sequenzen zueinander. Sie wird üblicherweise in Prozent Identität, das heißt dem Anteil der identischen Nukleotide oder Aminosäurereste an denselben oder in einem Alignment einander entsprechenden Positionen angegeben. Der weiter gefasste Begriff der Homologie bezieht bei Aminosäuresequenzen konservierte Aminosäure-Austausche in die Betrachtung mit ein, also Aminosäuren mit ähnlicher chemischer Aktivität, da diese innerhalb des Proteins meist ähnliche chemische Aktivitäten ausüben. Daher kann die Ähnlichkeit der verglichenen Sequenzen auch Prozent Homologie oder Prozent Ähnlichkeit angegeben sein. Identitäts- und/oder Homologieangaben können über ganze Polypeptide oder Gene oder nur über einzelne Bereiche getroffen werden. Homologe oder identische Bereiche von verschiedenen Nukleinsäure- oder Aminosäuresequenzen sind daher durch Übereinstimmungen in den Sequenzen definiert. Solche Bereiche weisen oftmals identische Funktionen auf. Sie können klein sein und nur wenige Nukleotide oder Aminosäuren umfassen. Oftmals üben solche kleinen Bereiche für die Gesamtaktivität des Proteins essentielle Funktionen aus. Es kann daher sinnvoll sein, Sequenzübereinstimmungen nur auf einzelne, gegebenenfalls kleine Bereiche zu beziehen. Soweit nicht anders angegeben beziehen sich Identitäts- oder Homologie-

angaben in der vorliegenden Anmeldung aber auf die Gesamtlänge der jeweils angegebenen Nukleinsäure- oder Aminosäuresequenz.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung bedeutet die Angabe, dass eine Aminosäureposition einer numerisch bezeichneten Position in SEQ ID NO:1 (oder SEQ ID NO:2) entspricht daher, dass die entsprechende Position der numerisch bezeichneten Position in SEQ ID NO:1 (oder SEQ ID NO:2) in einem wie oben definierten Alignment zugeordnet ist.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung ist die PETase dadurch gekennzeichnet, dass ihre Anti-Pilling-Leistung gegenüber derjenigen einer PETase, die eine Aminosäuresequenz umfasst, die der in SEQ ID NO:1 oder SEQ ID NO:2 angegebenen Aminosäuresequenzen entspricht, nicht signifikant verringert ist, d.h. mindestens 70%, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % der Referenz-Anti-Pilling-leistung besitzt. Die Anti-Pilling-Leistung kann in einem Waschsystem bestimmt werden, das ein Waschmittel in einer Dosierung zwischen 1,5 und 7,0 Gramm pro Liter Waschflotte sowie die PETase enthält, wobei die zu vergleichenden PETasen konzentrationsgleich (bezogen auf aktives Protein) eingesetzt sind und die Anti-Pilling-Leistung wie hierin beschrieben ermittelt wird. Beispielsweise kann der Waschvorgang für 60 Minuten bei einer Temperatur von 60°C erfolgen und das Wasser eine Wasserhärte zwischen 5 und 25, bevorzugt 10 und 20, bevorzugter 13 und 17 und ferner bevorzugt 15,5 und 16,5° (deutsche Härte) aufweisen. Die Konzentration der PETase in dem für dieses Waschsystem bestimmten Waschmittel beträgt von 0,001-1 Gew.-%, vorzugsweise von 0,001-0,1 Gew.-%, und noch bevorzugter von 0,01 bis 0,06 Gew.-%, bezogen auf aktives, gereinigtes Protein.

Ein bevorzugtes flüssiges Waschmittel für ein solches Waschsystem ist wie folgt zusammengesetzt (alle Angaben in Gewichts-Prozent): 4,4% Alkylbenzolsulfonsäure, 5,6% anionische Tenside, 2,4% C12-C18 Na-Salze von Fettsäuren, 4,4% nicht-ionische Tenside, 0,2% Phosphonate, 1,4% Zitronensäure, 0,95% NaOH, 0,01% Antischaum, 2% Glycerin, 0,08% Konservierungsstoffe, 1% Ethanol, 1,6% Enzymmix (Protease, Amylase, Cellulase, Mannase), Rest demineralisiertes Wasser. Bevorzugt beträgt die Dosierung des flüssigen Waschmittels zwischen 4,5 und 6,0 Gramm pro Liter Waschflotte, beispielsweise 4,7, 4,9 oder 5,9 Gramm pro Liter Waschflotte. Bevorzugt wird gewaschen in einem pH-Wertebereich zwischen pH 8 und pH 10,5, bevorzugt zwischen pH 7,5 und pH 8.

Im Rahmen der Erfindung erfolgt die Bestimmung der Anti-Pilling-Leistung bei 40°C unter Verwendung eines flüssigen Waschmittels wie vorstehend angegeben, wobei der Waschvorgang vorzugsweise für 60 Minuten erfolgt.

Der Weißheitsgrad, d.h. die Aufhellung der Anschmutzungen, als Maß für die Reinigungsleistung wird mit optischen Messverfahren bestimmt, bevorzugt photometrisch. Ein hierfür geeignetes Gerät

ist beispielsweise das Spektrometer Minolta CM508d. Üblicherweise werden die für die Messung eingesetzten Geräte zuvor mit einem Weißstandard, bevorzugt einem mitgelieferten Weißstandard, kalibriert.

Die Anti-Pilling-Leistung kann anhand von visueller Abmusterung verfolgt werden. Eine Prüfergruppe ordnet in diesem Fall der zu untersuchenden Wäsche einen Wert einer Skala von 1-5 zu. Dabei steht der Wert = 1 für sehr stark gepillte Wäsche, während der Wert = 5 nicht gepillter Wäsche zugeordnet wird.

Durch den aktivitätsgleichen Einsatz der jeweiligen PETase kann sichergestellt werden, dass auch bei einem etwaigen Auseinanderklaffen des Verhältnisses von Aktivsubstanz zu Gesamtprotein (die Werte der spezifischen Aktivität) die jeweiligen enzymatischen Eigenschaften, also beispielsweise die Reinigungsleistung an bestimmten Anschmutzungen oder die Anti-Pilling-Leistung, verglichen werden. Generell gilt, dass eine niedrige spezifische Aktivität durch Zugabe einer größeren Proteinmenge ausgeglichen werden kann. Ferner können die zu untersuchenden Enzyme auch in gleicher Stoffmenge oder Gewichtsmenge eingesetzt werden, falls die zu untersuchenden Enzyme in einem Aktivitätstest eine unterschiedliche Affinität an das Testsubstrat aufweisen. Der Ausdruck „gleiche Stoffmenge“ bezieht sich in diesem Zusammenhang auf eine molgleiche Verwendung der zu untersuchenden Enzyme. Der Ausdruck „gleiche Gewichtsmenge“ bezieht sich auf einen gewichtsgleichen Einsatz der zu untersuchenden Enzyme.

Proteine können über die Reaktion mit einem Antiserum oder einem bestimmten Antikörper zu Gruppen immunologisch verwandter Proteine zusammengefasst werden. Die Angehörigen einer solchen Gruppe zeichnen sich dadurch aus, dass sie dieselbe, von einem Antikörper erkannte antigene Determinante aufweisen. Sie sind daher einander strukturell so ähnlich, dass sie von einem Antiserum oder bestimmten Antikörpern erkannt werden. Einen weiteren Erfindungsgegenstand bilden daher PETasen, die dadurch gekennzeichnet sind, dass sie mindestens eine und zunehmend bevorzugt zwei, drei oder vier übereinstimmende antigene Determinanten mit einer in einem erfindungsgemäßen Mittel verwendeten PETase aufweisen. Solche PETasen sind auf Grund ihrer immunologischen Übereinstimmungen den in den erfindungsgemäßen Mitteln verwendeten PETasen strukturell so ähnlich, dass auch von einer gleichartigen Funktion auszugehen ist.

Weitere in den erfindungsgemäßen Mitteln verwendete PETasen können im Vergleich zu der in SEQ ID NO:1 oder SEQ ID NO:2 beschriebenen PETase weitere Aminosäureveränderungen, insbesondere Aminosäure-Substitutionen, -Insertionen oder -Deletionen, aufweisen. Solche PETasen sind beispielsweise durch gezielte genetische Veränderung, d.h. durch Mutageneseverfahren, weiterentwickelt und für bestimmte Einsatzzwecke oder hinsichtlich spezieller Eigenschaften (beispielsweise hinsichtlich ihrer katalytischen Aktivität, Stabilität, usw.) optimiert. Ferner können Nuk-

leinsäuren, die die verwendeten PETasen kodieren, in Rekombinationsansätze eingebracht und damit zur Erzeugung völlig neuartiger PETasen oder anderer Polypeptide genutzt werden.

Das Ziel ist es, in die bekannten Moleküle gezielte Mutationen wie Substitutionen, Insertionen oder Deletionen einzuführen, um beispielsweise die Reinigungsleistung von erfindungsgemäßen Enzymen zu verbessern. Hierzu können insbesondere die Oberflächenladungen und/oder der isoelektrische Punkt der Moleküle und dadurch ihre Wechselwirkungen mit dem Substrat verändert werden. So kann beispielsweise die Nettoladung der Enzyme verändert werden, um darüber die Substratbindung insbesondere für den Einsatz in Wasch- und Reinigungsmitteln zu beeinflussen. Alternativ oder ergänzend kann durch eine oder mehrere entsprechende Mutationen die Stabilität der PETase noch weiter erhöht und dadurch ihre Reinigungsleistung verbessert werden. Vorteilhafte Eigenschaften einzelner Mutationen, z.B. einzelner Substitutionen, können sich ergänzen. Eine hinsichtlich bestimmter Eigenschaften bereits optimierte PETase, zum Beispiel hinsichtlich ihrer Aktivität und/oder ihrer Anti-Pilling-Leistung, kann daher im Rahmen der Erfindung zusätzlich weiterentwickelt sein.

Für die Beschreibung von Substitutionen, die genau eine Aminosäureposition betreffen (Aminosäureaustausche), wird folgende Konvention angewendet: zunächst wird die natürlicherweise vorhandene Aminosäure in Form des international gebräuchlichen Einbuchstaben-Codes bezeichnet, dann folgt die zugehörige Sequenzposition und schließlich die eingefügte Aminosäure. Mehrere Austausche innerhalb derselben Polypeptidkette werden durch Schrägstriche voneinander getrennt. Bei Insertionen sind nach der Sequenzposition zusätzliche Aminosäuren benannt. Bei Deletionen ist die fehlende Aminosäure durch ein Symbol, beispielsweise einen Stern oder einen Strich, ersetzt oder vor der entsprechenden Position ein Δ angegeben. Beispielsweise beschreibt N58Q die Substitution von Asparagin an Position 58 durch Glutamin, N58NA die Insertion von Alanin nach der Aminosäure Asparagin an Position 58 und N58* oder Δ N58 die Deletion von Asparagin an Position 58. Diese Nomenklatur ist dem Fachmann auf dem Gebiet der Enzymtechnologie bekannt.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher ein Mittel enthaltend eine PETase, die dadurch gekennzeichnet ist, dass sie aus einer PETase wie vorstehend beschrieben als Ausgangsmolekül erhältlich ist durch ein- oder mehrfache konservative Aminosäuresubstitution. Der Begriff "konservative Aminosäuresubstitution" bedeutet den Austausch (Substitution) eines Aminosäurerestes gegen einen anderen Aminosäurerest, wobei dieser Austausch nicht zu einer Änderung der Polarität oder Ladung an der Position der ausgetauschten Aminosäure führt, z. B. der Austausch eines unpolaren Aminosäurerestes gegen einen anderen unpolaren Aminosäurerest. Konservative Aminosäuresubstitutionen im Rahmen der Erfindung umfassen beispielsweise: G=A=S, I=V=L=M, D=E, N=Q, K=R, Y=F, S=T, G=A=I=V=L=M=Y=F=W=P=S=T.

Alternativ oder ergänzend ist die PETase dadurch gekennzeichnet, dass sie aus einer in einem erfindungsgemäßen Mittel enthaltenen PETase als Ausgangsmolekül erhältlich ist durch Fragmentierung, Deletions-, Insertions- oder Substitutionsmutagenese und eine Aminosäuresequenz umfasst, die über eine Länge von mindestens 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600 oder 603 zusammenhängenden Aminosäuren mit dem Ausgangsmolekül übereinstimmt.

So ist es beispielsweise möglich, an den Termini oder in den Loops des Enzyms einzelne Aminosäuren zu deletieren, ohne dass dadurch die hydrolytische Aktivität verloren oder vermindert wird. Ferner kann durch derartige Fragmentierung, Deletions-, Insertions- oder Substitutionsmutagenese beispielsweise auch die Allergenizität betreffender Enzyme gesenkt und somit insgesamt ihre Einsetzbarkeit verbessert werden. Vorteilhafterweise behalten die Enzyme auch nach der Mutagenese ihre hydrolytische Aktivität, d.h. ihre hydrolytische Aktivität entspricht mindestens derjenigen des Ausgangsenzyms, d.h. in einer bevorzugten Ausführungsform beträgt die hydrolytische Aktivität mindestens 80, vorzugsweise mindestens 90 % der Aktivität des Ausgangsenzyms. Auch weitere Substitutionen können vorteilhafte Wirkungen zeigen. Sowohl einzelne wie auch mehrere zusammenhängende Aminosäuren können gegen andere Aminosäuren ausgetauscht werden.

Die weiteren Aminosäurepositionen werden hierbei durch ein Alignment der Aminosäuresequenz einer in den erfindungsgemäßen Mitteln enthaltenen PETase mit der Aminosäuresequenz der PETase aus *Ideonella sakaiensis*, wie sie in SEQ ID NO:2 angegeben ist, definiert. Weiterhin richtet sich die Zuordnung der Positionen nach dem reifen (maturen) Protein. Diese Zuordnung ist insbesondere auch anzuwenden, wenn die Aminosäuresequenz einer erfindungsgemäßen PETase eine höhere Zahl von Aminosäurenresten umfasst als die PETase aus *Ideonella sakaiensis* gemäß SEQ ID NO:2. Ausgehend von den genannten Positionen in der Aminosäuresequenz der PETase aus *Ideonella sakaiensis* sind die Veränderungspositionen in einer in den erfindungsgemäßen Mitteln enthaltenen PETase diejenigen, die eben diesen Positionen in einem Alignment zugeordnet sind.

Eine weitere Bestätigung der korrekten Zuordnung der zu verändernden Aminosäuren, d.h. insbesondere deren funktionelle Entsprechung, können Vergleichsversuche liefern, wonach die beiden auf der Basis eines Alignments einander zugeordneten Positionen in beiden miteinander verglichenen PETasen auf die gleiche Weise verändert werden und beobachtet wird, ob bei beiden die enzymatische Aktivität oder die Anti-Pilling-Leistung auf gleiche Weise verändert wird. Geht beispielsweise ein Aminosäureaustausch in einer bestimmten Position der PETase aus *Ideonella sakaiensis* gemäß SEQ ID NO:1 mit einer Veränderung eines enzymatischen Parameters einher, beispielsweise mit der Erhöhung des K_M -Wertes, und wird eine entsprechende Veränderung des enzymatischen Parameters, beispielsweise also ebenfalls eine Erhöhung des K_M -Wertes, in einer in einem erfindungsgemäßen Mittel enthaltenen PETase-Variante beobachtet, deren Aminosäureaus-

tausch durch dieselbe eingeführte Aminosäure erreicht wurde, so ist hierin eine Bestätigung der korrekten Zuordnung zu sehen.

Ein Gegenstand der Erfindung ist ein Mittel, das dadurch gekennzeichnet ist, dass es eine PETase, wie hierin definiert, enthält. Bevorzugt ist das Mittel ein Wasch- oder Reinigungsmittel.

Zu diesem Erfindungsgegenstand zählen alle denkbaren Wasch- oder Reinigungsmittelarten, sowohl Konzentrate als auch unverdünnt anzuwendende Mittel, zum Einsatz im kommerziellen Maßstab, in der Waschmaschine oder in der Handwäsche. Dazu gehören beispielsweise Waschmittel für Textilien, Teppiche, oder Naturfasern, für die die Bezeichnung Waschmittel verwendet wird. Zu den Wasch- und Reinigungsmittel im Rahmen der Erfindung zählen ferner Waschhilfsmittel, die bei der manuellen oder maschinellen Textilwäsche zum eigentlichen Waschmittel hinzudosiert werden, um eine weitere Wirkung zu erzielen. Ferner zählen zu Wasch- und Reinigungsmittel im Rahmen der Erfindung auch Textilvor- und Nachbehandlungsmittel, also solche Mittel, mit denen das Wäschestück vor der eigentlichen Wäsche in Kontakt gebracht wird, beispielsweise zum Anlösen hartnäckiger Verschmutzungen, und auch solche Mittel, die in einem der eigentlichen Textilwäsche nachgeschalteten Schritt dem Waschgut weitere wünschenswerte Eigenschaften wie angenehmen Griff, Knitterfreiheit oder geringe statische Aufladung verleihen. Zu letztgenannten Mittel werden u.a. die Weichspüler gerechnet.

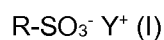
Die erfindungsgemäßen Wasch- oder Reinigungsmittel, die als pulverförmige Feststoffe, in nachverdichteter Teilchenform, als homogene Lösungen oder Suspensionen vorliegen können, können neben der oben beschriebenen PETase alle bekannten und in derartigen Mitteln üblichen Inhaltsstoffe enthalten, wobei bevorzugt mindestens ein weiterer Inhaltsstoff in dem Mittel vorhanden ist. Die erfindungsgemäßen Mittel können insbesondere Tenside, Builder (Gerüststoffe), Bleichmittel, insbesondere Persauerstoffverbindungen, oder Bleichaktivatoren enthalten. Ferner können sie wassermischbare organische Lösungsmittel, weitere Enzyme, Sequestrierungsmittel, Elektrolyte, pH-Regulatoren und/oder weitere Hilfsstoffe wie optische Aufheller, Vergrauungsinhibitoren, Schaumregulatoren sowie Farb- und Duftstoffe sowie Kombinationen hiervon enthalten.

Insbesondere eine Kombination des erfindungsgemäßen Mittels mit einem oder mehreren weiteren Inhaltsstoff(en) ist vorteilhaft, da ein solches Mittel in bevorzugten erfindungsgemäßen Ausgestaltungen eine verbesserte Reinigungsleistung durch sich ergebende Synergismen aufweist. Insbesondere durch die Kombination des erfindungsgemäßen Mittels mit einem Tensid und/oder einem Builder (Gerüststoff) und/oder einer Persauerstoffverbindung und/oder einem Bleichaktivator kann ein solcher Synergismus erreicht werden.

Vorteilhafte Inhaltsstoffe erfindungsgemäßer Mittel sind offenbart in der internationalen Patentanmeldung WO2009/121725, dort beginnend auf Seite 5, vorletzter Absatz, und endend auf Seite 13

nach dem zweiten Absatz. Auf diese Offenbarung wird ausdrücklich Bezug genommen und der dortige Offenbarungsgehalt in die vorliegende Patentanmeldung einbezogen.

Das erfindungsgemäße Mittel kann neben der PETase auch eine Verbindung aus der Klasse der anionischen Tenside der Formel (I)

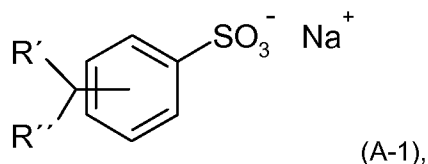


enthalten.

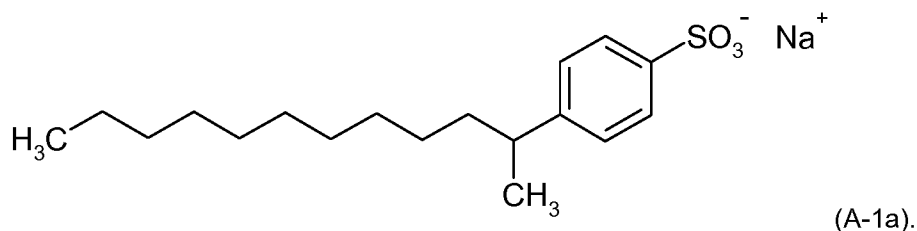
In dieser Formel (I) steht R für einen linearen oder verzweigten unsubstituierten Alkylarylrest. Y steht für ein einwertiges Kation oder den n-ten Teil eines n-wertigen Kations, bevorzugt sind dabei die Alkalimetallionen und darunter Na^+ oder K^+ , wobei Na^+ äußerst bevorzugt ist. Weitere Kationen Y^+ können ausgewählt sein aus NH_4^+ , $\frac{1}{2} \text{Zn}^{2+}$, $\frac{1}{2} \text{Mg}^{2+}$, $\frac{1}{2} \text{Ca}^{2+}$, $\frac{1}{2} \text{Mn}^{2+}$, und deren Mischungen.

„Alkylaryl“, wie hierin verwendet, bezieht sich auf organische Reste, die aus einem Alkylrest und einem aromatischen Rest bestehen. Typische Beispiele für derartige Reste schließen ein, sind aber nicht beschränkt auf Alkylbenzolreste, wie Benzyl, Butylbenzolreste, Nonylbenzolreste, Decylbenzolreste, Undecylbenzolreste, Dodecylbenzolreste, Tridecylbenzolreste und ähnliche.

In verschiedenen Ausführungsformen sind derartige Tenside ausgewählt aus linearen oder verzweigten Alkylbenzolsulfonaten der Formel A-1



in der R' und R'' zusammen 9 bis 19, vorzugsweise 11 bis 15 und insbesondere 11 bis 13 C-Atome enthalten, dargestellt. Ein ganz besonders bevorzugter Vertreter lässt sich durch die Formel A-1a beschreiben:

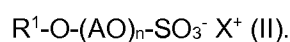


In verschiedenen Ausführungsformen handelt es sich bei der Verbindung der Formel (I) vorzugsweise um das Natriumsalz eines linearen Alkylbenzolsulfonats.

In erfindungsgemäßen Mitteln ist die mindestens eine Verbindung aus der Klasse der anionischen Tenside der Formel (I) in einer Menge von 0,001 bis 30 Gew.-%, vorzugsweise 0,001 – 10 Gew.-%, ferner bevorzugt 2 – 6 Gew.-%, noch bevorzugter 3 – 5 Gew.-%, in dem Wasch- oder Reinigungsmittel enthalten, jeweils bezogen auf das Gesamtgewicht des Reinigungsmittels.

In verschiedenen Ausführungsformen kann das Mittel neben der mindestens einen Verbindung der Formel (I) oder alternativ dazu mindestens ein anderes Tensid enthalten. Als alternative oder zusätzliche Tenside kommen insbesondere weitere anionische Tenside, nichtionische Tenside und deren Gemische, aber auch kationische, zwitterionische und amphotere Tenside in Frage.

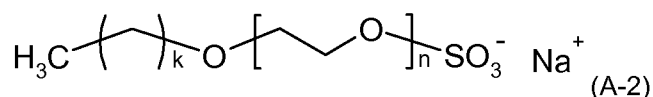
In verschiedenen Ausführungsformen enthalten die erfindungsgemäßen Mittel vorzugsweise mindestens ein anionisches Tensid der Formel



In dieser Formel (II) steht R^1 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkyl-, Aryl- oder Alkylarylrest, vorzugsweise für einen linearen, unsubstituierten Alkylrest, besonders bevorzugt für einen Fettalkoholrest. Bevorzugte Reste R^1 sind ausgewählt aus Decyl-, Undecyl-, Dodecyl-, Tridecyl-, Tetradecyl-, Pentadecyl-, Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Nonadecyl-, Eicosylresten und deren Mischungen, wobei die Vertreter mit gerader Anzahl an C-Atomen bevorzugt sind. Besonders bevorzugte Reste R^1 sind abgeleitet von C_{12} - C_{18} -Fettalkoholen, beispielsweise von Kokosfettalkohol, Talgfettalkohol, Lauryl-, Myristyl-, Cetyl- oder Stearylalkohol oder von C_{10} - C_{20} -Oxoalkoholen.

AO steht für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung, vorzugsweise für eine Ethylenoxidgruppierung. Der Index n steht für eine ganze Zahl von 1 bis 50, vorzugsweise von 1 bis 20 und insbesondere von 2 bis 10. Ganz besonders bevorzugt steht n für die Zahlen 2, 3, 4, 5, 6, 7 oder 8. X steht für ein einwertiges Kation oder den n-ten Teil eines n-wertigen Kations, bevorzugt sind dabei die Alkalimetallionen und darunter Na^+ oder K^+ , wobei Na^+ äußerst bevorzugt ist. Weitere Kationen X^+ können ausgewählt sein aus NH_4^+ , $\frac{1}{2} Zn^{2+}$, $\frac{1}{2} Mg^{2+}$, $\frac{1}{2} Ca^{2+}$, $\frac{1}{2} Mn^{2+}$, und deren Mischungen.

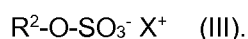
Zusammenfassend enthalten Mittel in verschiedenen Ausführungsformen somit mindestens ein anionisches Tensid ausgewählt aus Fettalkoholethersulfaten der Formel A-2



mit $k = 11$ bis 19 , $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 8 . Besonders bevorzugte Vertreter sind Na-C₁₂₋₁₄ Fettalkoholethersulfate mit 2 EO ($k = 11-13$, $n = 2$ in Formel A-2).

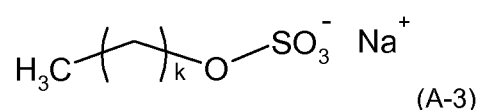
In verschiedenen Ausführungsformen enthält das Reinigungsmittel das mindestens eine anionische Tensid der Formel (II) in einer Menge von 2 – 10 Gew.-%, vorzugsweise 3 – 8 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des Reinigungsmittels.

Weitere einsetzbare anionische Tenside sind die Alkylsulfate der Formel



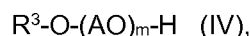
In dieser Formel (III) steht R² für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkylrest, vorzugsweise für einen linearen, unsubstituierten Alkylrest, besonders bevorzugt für einen Fettalkoholrest. Bevorzugte Reste R² sind ausgewählt aus Decyl-, Undecyl-, Dodecyl-, Tridecyl-, Tetradecyl-, Pentadecyl-, Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Nonadecyl-, Eicosylresten und deren Mischungen, wobei die Vertreter mit gerader Anzahl an C-Atomen bevorzugt sind. Besonders bevorzugte Reste R² sind abgeleitet von C₁₂-C₁₈-Fettalkoholen, beispielsweise von Kokosfettalkohol, Talgfettalkohol, Lauryl-, Myristyl-, Cetyl- oder Stearylalkohol oder von C₁₀-C₂₀-Oxoalkoholen. Y steht für ein einwertiges Kation oder den n-ten Teil eines n-wertigen Kations, bevorzugt sind dabei die Alkalimetallionen und darunter Na⁺ oder K⁺, wobei Na⁺ äußerst bevorzugt ist. Weitere Kationen Y⁺ können ausgewählt sein aus NH₄⁺, ½ Zn²⁺, ½ Mg²⁺, ½ Ca²⁺, ½ Mn²⁺, und deren Mischungen.

In verschiedenen Ausführungsformen sind diese Tenside ausgewählt aus Fettalkoholsulfaten der Formel A-3



mit $k = 11$ bis 19 . Ganz besonders bevorzugte Vertreter sind Na-C₁₂₋₁₄ Fettalkoholsulfate ($k = 11-13$ in Formel A-3).

In verschiedenen Ausführungsformen umfassen die Mittel mindestens ein nichtionisches Tensid, insbesondere mindestens ein Fettalkoholalkoxylat. In verschiedenen Ausführungsformen enthalten die Reinigungsmittel daher mindestens ein nichtionisches Tensid der Formel



in der

R^3 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkylrest,

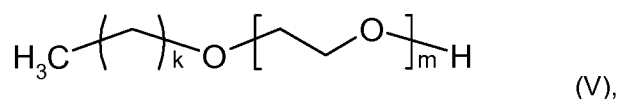
AO für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung,

m für ganze Zahlen von 1 bis 50 stehen.

In der vorstehend genannten Formel (IV) steht R^3 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkylrest, vorzugsweise für einen linearen, unsubstituierten Alkylrest, besonders bevorzugt für einen Fettalkoholrest. Bevorzugte Reste R^2 sind ausgewählt aus Decyl-, Undecyl-, Dodecyl-, Tridecyl-, Tetradecyl-, Pentadecyl-, Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Nonadecyl-, Eicosylresten und deren Mischungen, wobei die Vertreter mit gerader Anzahl an C-Atomen bevorzugt sind. Besonders bevorzugte Reste R^3 sind abgeleitet von C_{12} - C_{18} -Fettalkoholen, beispielsweise von Kokosfettalkohol, Talgfettalkohol, Lauryl-, Myristyl-, Cetyl- oder Stearylalkohol oder von C_{10} - C_{20} -Oxoalkoholen.

AO steht für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung, vorzugsweise für eine Ethylenoxidgruppierung. Der Index m steht für eine ganze Zahl von 1 bis 50, vorzugsweise von 1 bis 20 und insbesondere von 2 bis 10. Ganz besonders bevorzugt steht m für die Zahlen 2, 3, 4, 5, 6, 7 oder 8.

Zusammenfassend handelt es sich bei vorzugsweise einzusetzenden Fettalkoholalkoxylaten um Verbindungen der Formel



mit $k = 11$ bis 19, $m = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 8. Ganz besonders bevorzugte Vertreter sind C_{12-18} Fettalkohole mit 7 EO ($k = 11-17$, $m = 7$ in Formel (V)).

Weitere nichtionische Tenside, die im Sinne der vorliegenden Erfindung in den beschriebenen Mitteln enthalten sein können, schließen ein, sind aber nicht beschränkt auf Alkylglykoside, alkoxylierte Fettsäurealkylester, Aminoxide, Fettsäurealkanolamide, Hydroxymischether, Sorbitanfettsäureester, Polyhydroxyfettsäureamide und alkoxylierte Alkohole.

Geeignete Amphotenside sind beispielsweise Betaine der Formel $(R^{iii})(R^{iv})(R^v)N^+CH_2COO^-$, in der R^{iii} einen gegebenenfalls durch Heteroatome oder Heteroatomgruppen unterbrochenen Alkylrest mit 8 bis 25, vorzugsweise 10 bis 21 Kohlenstoffatomen und R^{iv} sowie R^v gleichartige oder verschiedene Alkylreste mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeuten, insbesondere C_{10} - C_{18} -Alkyl-dimethylcarboxymethylbetain und C_{11} - C_{17} -Alkylamidopropyl-dimethylcarboxymethylbetain.

Geeignete Kationenside sind u.a. die quartären Ammoniumverbindungen der Formel $(R^{vi})(R^{vii})(R^{viii})(R^x)N^+ X^-$, in der R^{vi} bis R^x für vier gleich- oder verschiedenartige, insbesondere zwei lang- und zwei kurzkettige, Alkylreste und X^- für ein Anion, insbesondere ein Halogenidion, stehen, beispielsweise Didecyldimethylammoniumchlorid, Alkylbenzyl-didecylammoniumchlorid und deren Mischungen. Weitere geeignete kationische Tenside sind die quaternären oberflächenaktiven Verbindungen, insbesondere mit einer Sulfonium-, Phosphonium-, Jodonium- oder Arsoniumgruppe, die auch als antimikrobielle Wirkstoffe bekannt sind. Durch den Einsatz von quaternären oberflächenaktiven Verbindungen mit antimikrobieller Wirkung kann das Mittel mit einer antimikrobiellen Wirkung ausgestaltet werden bzw. dessen gegebenenfalls aufgrund anderer Inhaltsstoffe bereits vorhandene antimikrobielle Wirkung verbessert werden.

In verschiedenen Ausführungsformen beträgt die Gesamtmenge der Tenside bezogen auf das Gewicht des Mittels 2 bis 30 Gew.-%, vorzugsweise 5 bis 25 Gew.-%, noch bevorzugter 10 bis 20 Gew.-%, am bevorzugtesten 14 bis 18 Gew.-%, wobei die (linearen) Alkylbenzolsulfonate höchstens in einer Menge von 0,001 bis 30 Gew.-%, vorzugsweise 0,001 – 10 Gew.-%, ferner bevorzugt 2 – 6 Gew.-%, noch bevorzugter 3 – 5 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht des Mittels vorliegen.

Erfindungsgemäße Wasch- oder Reinigungsmittel können neben der PETase weitere Enzyme enthalten. Dies können hydrolytische Enzyme oder andere Enzyme in einer für die Wirksamkeit des Mittels zweckmäßigen Konzentration sein. Eine Ausführungsform der Erfindung stellen somit Mittel dar, die eines oder mehrere Enzyme umfassen. Als Enzyme bevorzugt einsetzbar sind alle Enzyme, die in dem erfindungsgemäßen Mittel eine katalytische Aktivität entfalten können, insbesondere eine Protease, Amylase, Cellulase, Hemicellulase, Mannanase, Tannase, Xylanase, Xanthanase, Xyloglucanase, β -Glucosidase, Pektinase, Carrageenase, Perhydrolase, Oxidase, Oxidoreduktase, Hydrolase, Cutinase oder eine Lipase, sowie deren Gemische. Enzyme sind in dem Mittel vorteilhafterweise jeweils in einer Menge von 1×10^{-8} bis 5 Gew.-% bezogen auf aktives Protein enthalten. Zunehmend bevorzugt ist jedes Enzym in einer Menge von 1×10^{-7} -3 Gew.-%, von 0,00001-1 Gew.-%, von 0,00005-0,5 Gew.-%, von 0,0001 bis 0,1 Gew.-% und besonders bevorzugt von 0,0001 bis 0,05 Gew.-% in erfindungsgemäßen Mitteln enthalten, bezogen auf aktives Protein. Besonders bevorzugt zeigen die Enzyme synergistische Reinigungsleistungen gegenüber bestimmten Anschmutzungen oder Flecken, d.h. die in der Mittelzusammensetzung enthaltenen Enzyme unterstützen sich in ihrer Reinigungsleistung gegenseitig. Synergistische Effekte können

nicht nur zwischen verschiedenen Enzymen, sondern auch zwischen einem oder mehreren Enzymen und weiteren Inhaltsstoffen des erfindungsgemäßen Mittels auftreten.

Besonders bevorzugt können die erfindungsgemäßen PETasen in Kombination mit einer Cellulase auf Polyester/Baumwollmisch-Textilien eingesetzt werden. Hierbei verhindern die PETase die Pilling-Bildung der Polyester-Fasern, während die Cellulase dieselbe Wirkung auf die Baumwoll-Fasern hat. Bei der Cellulase handelt es sich vorzugsweise um ein Cellulase-Gemisch oder eine Einkomponenten-Cellulase, vorzugsweise bzw. überwiegend um eine Endoglucanase und/oder eine Cellobiohydrolase.

Bei der/den Amylase(n) handelt es sich vorzugsweise um eine α -Amylase. Bei der Hemicellulase handelt es sich vorzugsweise um eine β -Glucanase, eine Pektinase, eine Pullulanase und/oder eine Mannanase. Bei der Oxidoreduktase handelt es sich vorzugsweise um eine Oxidase, insbesondere eine Cholin-Oxidase, oder um eine Perhydrolase.

Die eingesetzten Proteasen sind vorzugsweise alkalische Serin-Proteasen. Sie wirken als unspezifische Endopeptidasen, das heißt, sie hydrolysieren beliebige Säureamidbindungen, die im Inneren von Peptiden oder Proteinen liegen und bewirken dadurch den Abbau proteinhaltiger Anschmutzungen auf dem Reinigungsgut. Ihr pH-Optimum liegt meist im deutlich alkalischen Bereich.

Die Proteinkonzentration kann mit Hilfe bekannter Methoden, zum Beispiel dem BCA-Verfahren (Bicinchoninsäure; 2,2'-Bichinoly-4,4'-dicarbonsäure) oder dem Biuret-Verfahren bestimmt werden. Die Bestimmung der Aktivproteinkonzentration erfolgt diesbezüglich über eine Titration der aktiven Zentren unter Verwendung eines geeigneten irreversiblen Inhibitors (für Proteasen beispielsweise Phenylmethylsulfonylfluorid (PMSF)) und Bestimmung der Restaktivität (vgl. M. Bender et al., J. Am. Chem. Soc. 88, 24 (1966), S. 5890-5913).

In den hierin beschriebenen Reinigungsmitteln können die einzusetzenden Enzyme ferner zusammen mit Begleitstoffen, etwa aus der Fermentation, konfektioniert sein. In flüssigen Formulierungen werden die Enzyme bevorzugt als Enzymflüssigformulierung(en) eingesetzt.

Die Enzyme werden in der Regel nicht in Form des reinen Proteins, sondern vielmehr in Form stabiler, lager- und transportfähiger Zubereitungen bereitgestellt. Zu diesen vorkonfektionierten Zubereitungen zählen beispielsweise die durch Granulation, Extrusion oder Lyophilisierung erhaltenen festen Präparationen oder, insbesondere bei flüssigen oder gelförmigen Mitteln, Lösungen der Enzyme, vorteilhafterweise möglichst konzentriert, wasserarm und/oder mit Stabilisatoren oder weiteren Hilfsmitteln versetzt.

Alternativ können die Enzyme sowohl für die feste als auch für die flüssige Darreichungsform verkapselt werden, beispielsweise durch Sprühtrocknung oder Extrusion der Enzymlösung zusammen mit einem vorzugsweise natürlichen Polymer oder in Form von Kapseln, beispielsweise solchen, bei denen die Enzyme wie in einem erstarrten Gel eingeschlossen sind oder in solchen vom Kern-Schale-Typ, bei dem ein enzymhaltiger Kern mit einer Wasser-, Luft- und/oder Chemikalien-undurchlässigen Schutzschicht überzogen ist. In aufgelagerten Schichten können zusätzlich weitere Wirkstoffe, beispielsweise Stabilisatoren, Emulgatoren, Pigmente, Bleich- oder Farbstoffe aufgebracht werden. Derartige Kapseln werden nach an sich bekannten Methoden, beispielsweise durch Schüttel- oder Rollgranulation oder in Fluid-bed-Prozessen aufgebracht. Vorteilhafterweise sind derartige Granulate, beispielsweise durch Aufbringen polymerer Filmbildner, staubarm und aufgrund der Beschichtung lagerstabil.

Weiterhin ist es möglich, zwei oder mehrere Enzyme zusammen zu konfektionieren, so dass ein einzelnes Granulat mehrere Enzymaktivitäten aufweist.

Die Enzyme können auch in wasserlösliche Filme, wie sie beispielsweise bei der Konfektionierung von Wasch- und Reinigungsmitteln in Einheitsdosisform verwendet werden, eingebracht werden. Ein derartiger Film ermöglicht die Freisetzung der Enzyme nach Kontakt mit Wasser. Wie hierin verwendet, bezieht sich „wasserlöslich“ auf eine Filmstruktur, die vorzugsweise vollständig wasserlöslich ist. Bevorzugt besteht ein solcher Film aus (vollständig oder teilweise hydrolysiertem) Polyvinylalkohol (PVA).

In verschiedenen Ausführungsformen kann das erfindungsgemäße Mittel einen oder mehrere Enzymstabilisatoren aufweisen. Daher kann das erfindungsgemäße Mittel ferner einen Enzymstabilisator beispielsweise ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Natriumformiat, Natriumsulfat, niederen aliphatischen Alkoholen und Borsäure sowie deren Estern und Salzen enthalten. Natürlich können auch zwei oder mehr dieser Verbindungen in Kombination eingesetzt werden. Die Salze der genannten Verbindungen können auch in Form von Hydraten, wie beispielsweise Natriumsulfat Dekahydrat, eingesetzt werden.

Der Begriff „niedere aliphatische Alkohole“, wie hierin verwendet, schließt Monoalkohole, Diole und höherwertige Alkohole mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen ein. Als zu der Gruppe der niederen aliphatischen Alkohole gehörend seien in diesem Zusammenhang insbesondere Polyole, beispielsweise Glycerin, (Mono)Ethylenglykol, (Mono)Propylenglykol oder Sorbit genannt, ohne dass die Erfindung auf diese beschränkt ist.

Neben dem mindestens einen Enzymstabilisator, ausgewählt aus der obenstehenden Gruppe, kann ein erfindungsgemäßes Mittel auch mindestens einen weiteren Stabilisator enthalten. Derartige Stabilisatoren sind im Stand der Technik bekannt.

Reversible Proteaseinhibitoren schützen die in einem Wasch- oder Reinigungsmittel enthaltenen Enzyme vor proteolytischem Abbau, indem die enzymatische Tätigkeit der in dem Mittel enthaltenen Proteasen reversibel inhibiert wird. Als reversible Proteaseinhibitoren werden häufig Benzamidin-Hydrochlorid, Boronsäuren oder deren Salze oder Ester eingesetzt, darunter vor allem Derivate mit aromatischen Gruppen, etwa ortho-, meta- oder para-substituierte Phenylboronsäuren, insbesondere 4-Formylphenyl-Boronsäure, beziehungsweise die Salze oder Ester der genannten Verbindungen. Auch Peptidaldehyde, das heißt Oligopeptide mit reduziertem C-Terminus, insbesondere solche aus 2 bis 50 Monomeren werden zu diesem Zweck eingesetzt. Zu den peptidischen reversiblen Proteaseinhibitoren gehören unter anderem Ovomucoid und Leupeptin.

Weitere Enzymstabilisatoren sind Aminoalkohole wie Mono-, Di-, Triethanol- und -Propanolamin und deren Mischungen, aliphatische Carbonsäuren bis zu C₁₂, wie beispielsweise Bernsteinsäure, andere Dicarbonsäuren oder Salze der genannten Säuren. Auch endgruppenverschlossene Fettsäureamidalkoxylate sind für diesen Zweck geeignet. Auch manche als Builder eingesetzte organische Säuren vermögen zusätzlich ein Enzym zu stabilisieren. Auch Calcium- und/oder Magnesiumsalze werden zu diesem Zwecke eingesetzt, wie beispielsweise Calciumacetat.

Polyamid-Oligomere oder polymere Verbindungen wie Lignin, wasserlösliche Vinyl-Copolymere oder Cellulose-Ether, Acryl-Polymere und/oder Polyamide stabilisieren die Enzym-Präparation unter anderem gegenüber physikalischen Einflüssen oder pH-Wert-Schwankungen. Polyamin-N-Oxid-enthaltende Polymere wirken gleichzeitig als Enzymstabilisatoren und als Farbübertragungsinhibitoren. Andere polymere Stabilisatoren sind lineare C₈-C₁₈ Polyoxyalkylene. Auch Alkylpolyglycoside können die enzymatischen Komponenten des erfindungsgemäßen Mittels stabilisieren und vermögen vorzugsweise, diese zusätzlich in ihrer Leistung zu steigern. Vernetzte N-haltige Verbindungen erfüllen vorzugsweise eine Doppelfunktion als Soil-release-Agentien und als Enzymstabilisatoren. Hydrophobes, nichtionisches Polymer stabilisiert insbesondere eine gegebenenfalls enthaltene Cellulase.

Reduktionsmittel und Antioxidantien erhöhen die Stabilität der Enzyme gegenüber oxidativem Zerfall; hierfür sind beispielsweise schwefelhaltige Reduktionsmittel geläufig, etwa Natrium-Sulfit und reduzierende Zucker.

In einer Ausführungsform sind die Mittel gemäß der vorliegenden Erfindung flüssig und enthalten Wasser als Hauptlösungsmittel, d.h. es handelt sich um wässrige Mittel. Der Wassergehalt des erfindungsgemäßen wässrigen Mittels beträgt üblicherweise 15 bis 70 Gew.-%, vorzugsweise 20 bis 60 Gew.-%. In verschiedenen Ausführungsformen beträgt der Wassergehalt mehr als 5 Gew.-%, bevorzugt mehr als 15 Gew.-% und insbesondere bevorzugt mehr als 50 Gew.-%, jeweils bezogen auf die Gesamtmenge an Mittel.

Daneben können dem Mittel nichtwässrige Lösungsmittel zugesetzt werden. Geeignete nichtwässrige Lösungsmittel umfassen ein- oder mehrwertige Alkohole, Alkanolamine oder Glykoether, sofern sie im angegebenen Konzentrationsbereich mit Wasser mischbar sind. Vorzugsweise werden die Lösungsmittel ausgewählt aus Ethanol, n-Propanol, i-Propanol, Butanolen, Glykol, Propandiol, Butandiol, Methylpropandiol, Glycerin, Diglykol, Propyldiglycol, Butyldiglykol, Hexylenglycol, Ethylenglykolmethylether, Ethylenglykolethylether, Ethylenglykolpropylether, Ethylenglykolmono-n-butylether, Diethylenglykolmethylether, Diethylenglykolethylether, Propylenglykolmethylether, Propylenglykolethylether, Propylenglykolpropylether, Dipropylenglykolmonomethylether, Dipropylenglykolmonoethylether, Methoxytriglykol, Ethoxytriglykol, Butoxytriglykol, 1-Butoxyethoxy-2-propanol, 3-Methyl-3-methoxybutanol, Propylen-glykol-t-butylether, Di-n-octylether sowie Mischungen dieser Lösungsmittel.

Das eine oder die mehreren nichtwässrigen Lösungsmittel ist/sind üblicherweise in einer Menge von 0,1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 8 Gew.-% bezogen auf die Gesamtzusammensetzung enthalten.

Neben den bisher genannten Komponenten können die erfindungsgemäßen Mittel weitere Inhaltsstoffe enthalten, die die anwendungstechnischen und/oder ästhetischen Eigenschaften des Reinigungsmittels weiter verbessern. Hierzu zählen beispielsweise Additive zur Verbesserung des Ablauf- und Trocknungsverhaltens, zur Einstellung der Viskosität und/oder zur Stabilisierung, sowie weitere in Reinigungsmitteln übliche Hilfs- und Zusatzstoffe, etwa UV-Stabilisatoren, Parfüm, Perlglanzmittel, Farbstoffe, Korrosionsinhibitoren, Konservierungsmittel, Bitterstoffe, organische Salze, Desinfektionsmittel, strukturgebende Polymere, Entschäumer, verkapselte Inhaltsstoffe (z.B. verkapseltes Parfum), pH-Stellmittel sowie Hautgefühl-verbessernde oder pflegende Additive.

Ein erfindungsgemäßes Mittel, insbesondere Wasch- oder Reinigungsmittel, enthält vorzugsweise mindestens einen wasserlöslichen und/oder wasserunlöslichen, organischen und/oder anorganischen Builder (Gerüststoffe).

Zu den generell einsetzbaren Gerüststoffen zählen insbesondere die Aminocarbonsäuren und deren Salze, Zeolithe, Silikate, Carbonate, organische (Co)Builder und – wo keine ökologischen Vorurteile gegen ihren Einsatz bestehen – auch die Phosphate. Vorzugsweise sind die Mittel aber phosphatfrei.

Zu den wasserlöslichen organischen Buildersubstanzen gehören Polycarbonsäuren, insbesondere Citronensäure und Zuckersäuren, monomere und polymere Aminopolycarbonsäuren, insbesondere Methylglycindiessigsäure, Nitrilotriessigsäure und Ethylendiamintetraessigsäure sowie Polyasparaginsäure, Polyphosphonsäuren, insbesondere Aminotris(methylenphosphonsäure), Ethylendiamintetrakis(methylenphosphonsäure) und 1-Hydroxyethan-1,1-diphosphonsäure, polymere Hydro-

xyverbindungen wie Dextrin sowie polymere (Poly-)carbonsäuren, polymere Acrylsäuren, Methacrylsäuren, Maleinsäuren und Mischpolymere aus diesen, die auch geringe Anteile polymerisierbarer Substanzen ohne Carbonsäurefunktionalität einpolymerisiert enthalten können. Geeignete, wenn auch weniger bevorzugte Verbindungen dieser Klasse sind Copolymere der Acrylsäure oder Methacrylsäure mit Vinylethern, wie Vinylmethylethern, Vinylester, Ethylen, Propylen und Styrol, in denen der Anteil der Säure mindestens 50 Gew.-% beträgt. Die organischen Buildersubstanzen können, insbesondere zur Herstellung flüssiger Mittel, in Form wässriger Lösungen, vorzugsweise in Form 30- bis 50-gewichtsprozentiger wässriger Lösungen eingesetzt werden. Alle genannten Säuren werden in der Regel in Form ihrer wasserlöslichen Salze, insbesondere ihre Alkalisalze, eingesetzt.

Organische Buildersubstanzen können, falls gewünscht, in Mengen bis zu 40 Gew.-%, insbesondere bis zu 25 Gew.-% und vorzugsweise von 1 Gew.-% bis 8 Gew.-% enthalten sein. Mengen nahe der genannten Obergrenze werden vorzugsweise in pastenförmigen oder flüssigen, insbesondere wasserhaltigen, erfindungsgemäßen Mitteln eingesetzt. Erfindungsgemäße Wäschenachbehandlungsmittel, wie z.B. Weichspüler, können gegebenenfalls auch frei von organischem Builder sein.

Als wasserlösliche anorganische Buildermaterialien kommen insbesondere Alkalisilikate und Polyphosphate, vorzugsweise Natriumtriphosphat, in Betracht. Als wasserunlösliche, wasserdispergierbare anorganische Buildermaterialien können insbesondere kristalline oder amorphe Alkalialumosilikate, falls gewünscht, in Mengen von bis zu 50 Gew.-%, vorzugsweise nicht über 40 Gew.-% und in flüssigen Mitteln insbesondere von 1 Gew.-% bis 5 Gew.-%, eingesetzt werden. Unter diesen sind die kristallinen Natriumalumosilikate in Waschmittelqualität, insbesondere Zeolith A, P und gegebenenfalls X, bevorzugt. Mengen nahe der genannten Obergrenze werden vorzugsweise in festen, teilchenförmigen Mitteln eingesetzt. Geeignete Alumosilikate weisen insbesondere keine Teilchen mit einer Korngröße über 30 µm auf und bestehen vorzugsweise zu wenigstens 80 Gew.-% aus Teilchen mit einer Größe unter 10 µm.

Geeignete Substitute beziehungsweise Teilsubstitute für das genannte Alumosilikat sind kristalline Alkalisilikate, die allein oder im Gemisch mit amorphen Silikaten vorliegen können. Die in den erfindungsgemäßen Mitteln als Gerüststoffe brauchbaren Alkalisilikate weisen vorzugsweise ein molares Verhältnis von Alkalioxid zu SiO₂ unter 0,95, insbesondere von 1:1,1 bis 1:12 auf und können amorph oder kristallin vorliegen. Bevorzugte Alkalisilikate sind die Natriumsilikate, insbesondere die amorphen Natriumsilikate, mit einem molaren Verhältnis Na₂O:SiO₂ von 1:2 bis 1:2,8. Als kristalline Silikate, die allein oder im Gemisch mit amorphen Silikaten vorliegen können, werden vorzugsweise kristalline Schichtsilikate der allgemeinen Formel Na₂Si_xO_{2x+1} · y H₂O eingesetzt, in der x, das sogenannte Modul, eine Zahl von 1,9 bis 4 und y eine Zahl von 0 bis 20 ist und bevorzugte Werte für x 2, 3 oder 4 sind. Bevorzugte kristalline Schichtsilikate sind solche, bei denen x in der genannten allgemeinen Formel die Werte 2 oder 3 annimmt. Insbesondere sind sowohl beta- als

auch delta-Natriumdisilikate ($\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 \cdot y \text{H}_2\text{O}$) bevorzugt. Auch aus amorphen Alkalisilikaten hergestellte, praktisch wasserfreie kristalline Alkalisilikate der obengenannten allgemeinen Formel, in der x eine Zahl von 1,9 bis 2,1 bedeutet, können in erfindungsgemäßen Mitteln eingesetzt werden. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform erfindungsgemäßer Mittel wird ein kristallines Natriumschichtsilikat mit einem Modul von 2 bis 3 eingesetzt, wie es aus Sand und Soda hergestellt werden kann. Kristalline Natriumsilikate mit einem Modul im Bereich von 1,9 bis 3,5 werden in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform erfindungsgemäßer Mittel eingesetzt. Falls als zusätzliche Buildersubstanz auch Alkalialumosilikat, insbesondere Zeolith, vorhanden ist, beträgt das Gewichtsverhältnis Alumosilikat zu Silikat, jeweils bezogen auf wasserfreie Aktivsubstanzen, vorzugsweise 1:10 bis 10:1. In Mitteln, die sowohl amorphe als auch kristalline Alkalisilikate enthalten, beträgt das Gewichtsverhältnis von amorphem Alkalisilikat zu kristallinem Alkalisilikat vorzugsweise 1:2 bis 2:1 und insbesondere 1:1 bis 2:1.

Buildersubstanzen sind, falls gewünscht, in den erfindungsgemäßen Mitteln vorzugsweise in Mengen bis zu 60 Gew.-%, insbesondere von 5 Gew.-% bis 40 Gew.-%, enthalten. Erfindungsgemäße Wäschenaachbehandlungsmittel, wie z.B. Weichspüler, sind vorzugsweise frei von anorganischem Builder.

Polymere Verdickungsmittel im Sinne der vorliegenden Erfindung sind die als Polyelektrolyte verdickend wirkenden Polycarboxylate, vorzugsweise Homo- und Copolymerisate der Acrylsäure, insbesondere Acrylsäure-Copolymere wie Acrylsäure-Methacrylsäure-Copolymere, und die Polysaccharide, insbesondere Heteropolysaccharide, sowie andere übliche verdickende Polymere.

Geeignete Polysaccharide bzw. Heteropolysaccharide sind die Polysaccharidgummen, beispielsweise Gummi arabicum, Agar, Alginate, Carrageene und ihre Salze, Guar, Guaran, Tragacant, Gellan, Ramsan, Dextran oder Xanthan und ihre Derivate, z.B. propoxyliertes Guar, sowie ihre Mischungen. Andere Polysaccharidverdicker, wie Stärken oder Cellulosederivate, können alternativ, vorzugsweise aber zusätzlich zu einem Polysaccharidgummi eingesetzt werden, beispielsweise Stärken verschiedensten Ursprungs und Stärkederivate, z.B. Hydroxyethylstärke, Stärkephosphatester oder Stärkeacetate, oder Carboxymethylcellulose bzw. ihr Natriumsalz, Methyl-, Ethyl-, Hydroxyethyl-, Hydroxypropyl-, Hydroxypropyl-methyl- oder Hydroxyethyl-methyl-cellulose oder Celluloseacetat.

Als polymere Verdickungsmittel geeignete Acrylsäure-Polymere sind beispielsweise hochmolekulare mit einem Polyalkenylpolyether, insbesondere einem Allylether von Saccharose, Pentaerythrit oder Propylen, vernetzte Homopolymere der Acrylsäure (INCI Carbomer), die auch als Carboxyvinylpolymere bezeichnet werden.

Besonders geeignete polymere Verdickungsmittel sind aber folgende Acrylsäure-Copolymere: (i) Copolymere von zwei oder mehr Monomeren aus der Gruppe der Acrylsäure, Methacrylsäure und ihrer einfachen, vorzugsweise mit C₁₋₄-Alkanolen gebildeten, Ester (INCI Acrylates Copolymer), zu denen etwa die Copolymere von Methacrylsäure, Butylacrylat und Methylmethacrylat (CAS 25035-69-2) oder von Butylacrylat und Methylmethacrylat (CAS 25852-37-3) gehören; (ii) vernetzte hochmolekulare Acrylsäurecopolymere, zu denen etwa die mit einem Allylether der Saccharose oder des Pentaerythrits vernetzten Copolymere von C₁₀₋₃₀-Alkylacrylaten mit einem oder mehreren Monomeren aus der Gruppe der Acrylsäure, Methacrylsäure und ihrer einfachen, vorzugsweise mit C₁₋₄-Alkanolen gebildeten, Ester (INCI Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer) gehören.

Der Gehalt an polymerem Verdickungsmittel beträgt üblicherweise nicht mehr als 8 Gew.-%, vorzugsweise zwischen 0,1 und 7 Gew.-%, besonders bevorzugt zwischen 0,5 und 6 Gew.-%, insbesondere zwischen 1 und 5 Gew.-% und äußerst bevorzugt zwischen 1,5 und 4 Gew.-%, beispielsweise zwischen 2 und 2,5 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des Reinigungsmittels.

Zur Stabilisierung des erfindungsgemäßen Mittels, insbesondere bei hohem Tensidgehalt, können ein oder mehrere Dicarbonsäuren und/oder deren Salze zugesetzt werden, insbesondere eine Zusammensetzung aus Na-Salzen der Adipin-, Bernstein- und Glutarsäure, wie sie z.B. unter dem Handelsnamen Sokalan® DSC erhältlich ist. Der Einsatz erfolgt hierbei vorteilhafterweise in Mengen von 0,1 bis 8 Gew.-%, vorzugsweise 0,5 bis 7 Gew.-%, insbesondere 1,3 bis 6 Gew.-% und besonders bevorzugt 2 bis 4 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des Reinigungsmittels.

Kann jedoch auf deren Einsatz verzichtet werden, so ist das erfindungsgemäße Mittel vorzugsweise frei von Dicarbonsäure(salze)n.

Die erfindungsgemäßen Waschmittel können mit Referenzwaschmitteln verglichen werden, um die erhöhte Anti-Pilling-Leistung der erfindungsgemäßen Mittel festzustellen. Ein solches Waschsyst-
em kann wie folgt zusammengesetzt sein (alle Angaben in Gewichts-Prozent): Referenzmittel: 4,4% Alkylbenzolsulfonsäure, 5,6% weitere anionische Tenside, 2,4% C12-C18 Na-Salze von Fettsäuren (Seifen), 4,4% nicht-ionische Tenside, 0,2% Phosphonate, 1,4% Zitronensäure, 0,95% NaOH, 0,01% Entschäumer, 2,0% Glycerin, 0,08% Konservierungsstoffe, 1% Ethanol, 1,6% Enzymmix (Protease, Amylase, Cellulase, Mannase), Rest demineralisiertes Wasser. Erfindungsgemäßes Mittel: 4,4% Alkylbenzolsulfonsäure, 5,6% weitere anionische Tenside, 2,4% C12-C18 Na-Salze von Fettsäuren (Seifen), 4,4% nicht-ionische Tenside, 0,2% Phosphonate, 1,4% Zitronensäure, 0,95% NaOH, 0,01% Entschäumer, 2,0% Glycerin, 0,08% Konservierungsstoffe, 1% Ethanol, 1,6% Enzymmix (Protease, Amylase, Cellulase, Mannase), 0,01 % PETase, Rest demineralisiertes Wasser. Bevorzugt beträgt die Dosierung des flüssigen Waschmittels zwischen 4,5 und 6,0 Gramm pro Liter Waschflotte, beispielsweise 4,7, 4,9 oder 5,9 Gramm pro Liter Waschflotte. Be-

vorzuzug wird gewaschen in einem pH-Wertebereich zwischen pH 8 und pH 10,5, bevorzugt zwischen pH 7,5 und pH 8.

Die zuvor genannten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung umfassen alle festen, pulverförmigen, flüssigen, gelförmigen oder pastösen Darreichungsformen erfindungsgemäßer Mittel, die gegebenenfalls auch aus mehreren Phasen bestehen können sowie in komprimierter oder nicht komprimierter Form vorliegen können. Das Mittel kann als rieselfähiges Pulver vorliegen, insbesondere mit einem Schüttgewicht von 300 g/l bis 1200 g/l, insbesondere 500 g/l bis 900 g/l oder 600 g/l bis 850 g/l. Zu den festen Darreichungsformen des Mittels zählen ferner Extrudate, Granulate, Tabletten oder Pouches. Alternativ kann das Mittel auch flüssig, gelförmig oder pastös sein, beispielsweise in Form eines nicht-wässrigen Flüssigwaschmittels oder einer nicht-wässrigen Paste oder in Form eines wässrigen Flüssigwaschmittels oder einer wasserhaltigen Paste. Weiterhin kann das Mittel als Einkomponentensystem vorliegen. Solche Mittel bestehen aus einer Phase. Alternativ kann ein Mittel auch aus mehreren Phasen bestehen. Ein solches Mittel ist demnach in mehrere Komponenten aufgeteilt.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand ist ein Verfahren zur Reinigung von Textilien, das dadurch gekennzeichnet ist, dass in mindestens einem Verfahrensschritt ein erfindungsgemäßes Mittel angewendet wird.

In verschiedenen Ausführungsformen zeichnet sich das oben beschriebene Verfahren dadurch aus, dass das erfindungsgemäße Mittel bei einer Temperatur von 0-100°C, bevorzugt 0-80°C, weiter bevorzugt 10-50°C und am meisten bevorzugt bei 20-40°C eingesetzt wird.

Hierunter fallen sowohl manuelle als auch maschinelle Verfahren, wobei maschinelle Verfahren bevorzugt sind. Verfahren zur Reinigung von Textilien zeichnen sich im Allgemeinen dadurch aus, dass in mehreren Verfahrensschritten verschiedene reinigungsaktive Substanzen auf das Reinigungsgut aufgebracht und nach der Einwirkzeit abgewaschen werden, oder dass das Reinigungsgut in sonstiger Weise mit einem Waschmittel oder einer Lösung oder Verdünnung dieses Mittels behandelt wird. Alle denkbaren Wasch- oder Reinigungsverfahren können in wenigstens einem der Verfahrensschritte um die Anwendung eines erfindungsgemäßen Wasch- oder Reinigungsmittels bereichert werden und stellen dann Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung dar. Alle Sachverhalte, Gegenstände und Ausführungsformen, die für erfindungsgemäße Mittel beschrieben sind, sind auch auf diesen Erfindungsgegenstand anwendbar. Daher wird an dieser Stelle ausdrücklich auf die Offenbarung an entsprechender Stelle verwiesen mit dem Hinweis, dass diese Offenbarung auch für die vorstehenden erfindungsgemäßen Verfahren gilt.

Da Enzyme natürlicherweise bereits eine katalytische Aktivität besitzen und diese auch in Medien entfalten, die sonst keine Reinigungskraft besitzen wie beispielsweise in bloßem Puffer, kann ein

einzelner und/oder der einzige Schritt eines solchen Verfahrens darin bestehen, dass als einzige reinigungsaktive Komponente eine PETase mit der Anschmutzung in Kontakt gebracht wird, bevorzugt in einer Pufferlösung oder in Wasser. Dies stellt eine weitere Ausführungsform dieses Erfindungsgegenstandes dar.

Alternative Ausführungsformen dieses Erfindungsgegenstandes stellen auch Verfahren zur Behandlung von Textilrohstoffen oder zur Textilpflege dar, bei denen in wenigstens einem Verfahrensschritt ein erfindungsgemäßes Mittel aktiv wird. Hierunter sind Verfahren für Textilrohstoffe, Fasern oder Textilien mit natürlichen Bestandteilen bevorzugt, und ganz besonders für solche mit Wolle oder Seide.

Des Weiteren erfasst die Erfindung auch die Verwendung des hierin beschriebenen Mittels, beispielsweise als Wasch- oder Reinigungsmitteln wie oben beschrieben, zur (verbesserten) Entfernung von Anschmutzungen, beispielsweise von Textilien, insbesondere Polyester Textilien.

Schließlich bezieht sich die Erfindung auch auf die Verwendung einer PETase zur Verringerung von Pilling-Effekten und/oder zur Verringerung von Anti-Grau-Effekten eines Mittels, vorzugsweise eines Waschmittels, besonders bevorzugt eines Flüssigwaschmittels, wobei das Mittel die PETase enthält.

Die PETase kann eine PETase sein wie sie hierin definiert ist. In verschiedenen Ausführungsformen der Verwendung ist die PETase in einer Menge von 0,00001 – 1 Gew.-%, insbesondere von 0,001 – 0,1 Gew.-%, in dem Mittel enthalten. In weiteren verschiedenen Ausführungsformen wird die PETase, die eine Verringerung des Pilling-Effekts und/oder die Verringerung des Anti-Grau-Effekts bewirkt, auf Textilien, insbesondere Textilien, die aus Polyester bestehen oder Polyester umfassen, angewendet.

Alle Sachverhalte, Gegenstände und Ausführungsformen, die für die erfindungsgemäßen Mittel und die PETase beschrieben sind, sind auch auf die weiteren Erfindungsgegenstände anwendbar. Daher wird an dieser Stelle ausdrücklich auf die Offenbarung an entsprechender Stelle verwiesen mit dem Hinweis, dass diese Offenbarung auch für das vorstehende erfindungsgemäße Verfahren und die erfindungsgemäßen Verwendungen gilt.

BeispieleBeispiel 1: Klonierung und Expression

Das Gen der PETase aus *Ideonella sakaiensis*, das für ein Enzym gemäß SEQ ID NO:2 kodiert, wird in die NdeI und XhoI Schnittstelle des Vectors PET-21b der Firma Novagen kloniert, so dass C-terminal die Fusion mit einem hexa-Histidin-Tag entsteht. Das durch Sequenzierung bestätigte Plasmid wird mittels üblicher Transformationsprotokolle in elektrokompente Zellen *E.coli* BL21(DE3)CodonPlus RIPL (Agilent Technologies) transformiert.

Die Anzucht der transformierten *E.coli* Zellen erfolgt in LB-Medium bei 37°C, mit einer Induktion mit 0,1 mM IPTG bei einer OD von 0,6 und einer ab diesem Zeitpunkt abgesenkten Expressionstemperatur von 16°C.

Die Zellen werden durch Zentrifugation geerntet und in Lysis-Puffer resuspendiert (50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 300 mM NaCl, 20 mM Imidazol). Der Zellaufschluss erfolgt mittels Ultraschall, mit anschließender Zentrifugation (15.000 x g, 20 min, 4°C). Der Überstand enthält das PETase-HisTag Fusionsprotein.

Eine Aufreinigung über NiNTA erfolgt nach einem Protokoll der Firma Qiagen.

Patentansprüche

1. Mittel, insbesondere ein Wasch- oder Reinigungsmittel, dadurch gekennzeichnet, dass es eine PETase (Polyethylenterephthalat Hydrolase) enthält.
2. Das Mittel nach Anspruch 1, wobei die PETase eine PETase ist, die mindestens 70 % Sequenzidentität mit der in SEQ ID NO:1 oder SEQ ID NO:2 angegebenen Aminosäuresequenz über deren Gesamtlänge aufweist.
3. Das Mittel nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass
 - (a) die PETase aus einer PETase nach Anspruch 1 oder 2 als Ausgangsmolekül durch ein- oder mehrfache konservative Aminosäuresubstitution erhältlich ist; und/oder
 - (b) die PETase aus einer PETase nach Anspruch 1 oder 2 als Ausgangsmolekül erhältlich ist durch Fragmentierung, Deletions-, Insertions- oder Substitutionsmutagenese und eine Aminosäuresequenz umfasst, die über eine Länge von mindestens 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600 oder 603 zusammenhängenden Aminosäuren mit dem Ausgangsmolekül übereinstimmt.
4. Das Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die PETase in einer Menge von 0,00001 – 1 Gew.-%, insbesondere von 0,001 – 0,1 Gew.-%, in dem Mittel enthalten ist.
5. Das Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass
 - (a) es mindestens einen zusätzlichen Inhaltsstoff ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Tensiden, Buildern (Gerüststoffe), Bleichmitteln, Bleichaktivatoren, wassermischbare organische Lösungsmittel, weitere Enzyme, Sequestrierungsmittel, Elektrolyte, pH-Regulatoren, optische Aufheller, Vergrauungsinhibitoren, Schaumregulatoren, Farb- und Duftstoffe sowie Kombinationen hiervon enthält; und/oder
 - (b) es in fester oder flüssiger, bevorzugt flüssiger, Form vorliegt.
6. Verfahren zur Reinigung von Textilien, dadurch gekennzeichnet, dass in mindestens einem Verfahrensschritt ein Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 5 angewendet wird.
7. Verwendung eines Mittels nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Entfernung von Anschmutzungen.
8. Verwendung einer PETase zur Verringerung von Pilling-Effekten eines Mittels und/oder zur Verringerung von Anti-Grau-Effekten und/oder zur Verbesserung der Reinigungsleistung,

vorzugsweise eines Waschmittels, besonders bevorzugt eines Flüssigwaschmittels, wobei das Mittel die PETase enthält.

9. Die Verwendung nach Anspruch 8, wobei
 - (a) die PETase wie in Anspruch 2 oder 3 definiert ist; und/oder
 - (b) die PETase in einer Menge wie in Anspruch 4 definiert in dem Mittel enthalten ist.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2017/060497

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. C11D3/386
 ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 C11D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/025861 A1 (UNIV KEIO) 26 February 2015 (2015-02-26) page 13, paragraph 58; claims 1-5,17 page 19, paragraph 80 page 25, paragraph 108 page 28, paragraph 122-124 -----	1-9
X	WO 2015/135757 A1 (HENKEL AG & CO KGAA) 17 September 2015 (2015-09-17) page 23, paragraphs 2,4; claims 1-3,11,12 page 24, paragraph 4 - page 25, paragraph 1 page 26, paragraph 4 page 2, paragraph 4-5 page 1, paragraph 1-5 page 22, paragraph 6 - page 23, paragraph 1 ----- -/-	1,4-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 July 2017

Date of mailing of the international search report

14/07/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kanbier, Titia

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2017/060497

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/085920 A1 (NOVOZYMES AS) 18 June 2015 (2015-06-18) page 1, lines 28-32; claims 12,13 page 2, lines 31-34 page 2, lines 15-18 pages 61-67; example 4 -----	1,8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2017/060497

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2015025861 A1	26-02-2015	JP WO2015025861 A1 WO 2015025861 A1	02-03-2017 26-02-2015
WO 2015135757 A1	17-09-2015	DE 102014204374 A1 WO 2015135757 A1	17-09-2015 17-09-2015
WO 2015085920 A1	18-06-2015	CN 105934514 A EP 3080254 A1 US 2016355759 A1 WO 2015085920 A1	07-09-2016 19-10-2016 08-12-2016 18-06-2015

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. C11D3/386
ADD.

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
C11D

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 2015/025861 A1 (UNIV KEIO) 26. Februar 2015 (2015-02-26) Seite 13, Absatz 58; Ansprüche 1-5,17 Seite 19, Absatz 80 Seite 25, Absatz 108 Seite 28, Absatz 122-124 -----	1-9
X	WO 2015/135757 A1 (HENKEL AG & CO KGAA) 17. September 2015 (2015-09-17) Seite 23, Absätze 2,4; Ansprüche 1-3,11,12 Seite 24, Absatz 4 - Seite 25, Absatz 1 Seite 26, Absatz 4 Seite 2, Absatz 4-5 Seite 1, Absatz 1-5 Seite 22, Absatz 6 - Seite 23, Absatz 1 ----- -/-	1,4-9

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen ☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

5. Juli 2017

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

14/07/2017

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Kanbier, Titia

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 2015/085920 A1 (NOVOZYMES AS) 18. Juni 2015 (2015-06-18) Seite 1, Zeilen 28-32; Ansprüche 12,13 Seite 2, Zeilen 31-34 Seite 2, Zeilen 15-18 Seiten 61-67; Beispiel 4 -----	1,8

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2017/060497

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2015025861 A1	26-02-2015	JP WO2015025861 A1	02-03-2017
		WO 2015025861 A1	26-02-2015

WO 2015135757 A1	17-09-2015	DE 102014204374 A1	17-09-2015
		WO 2015135757 A1	17-09-2015

WO 2015085920 A1	18-06-2015	CN 105934514 A	07-09-2016
		EP 3080254 A1	19-10-2016
		US 2016355759 A1	08-12-2016
		WO 2015085920 A1	18-06-2015
