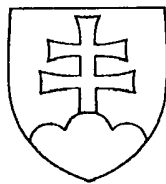


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania: 29.10.93
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 07/983 360
(32) Dátum priority: 30.11.92
(33) Krajina priority: US
(43) Dátum zverejnenia: 08.11.1995
(86) Číslo PCT: PCT/US93/10227, 29.10.93

(21) Číslo dokumentu:

704-95

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 12 N 9/96 //
C 11 D 3/386

(71) Prihlasovateľ: BUCKMAN LABORATORIES INTERNATIONAL, INC., Memphis, TN, US;

(72) Pôvodca vynálezu: Jaquess Percy A., Tigrett, TN, US;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Stabilizované kvapalné enzýmové zmesi**

(57) Anotácia:
Stabilizačný prostriedok pozostáva z aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z krátkoreťazcového alkoholu a glykolu, aspoň jedného z polyetoxylovaného alkylidiamínu a aminoxidu, a vody. Diamín a/alebo aminoxid je v množstve účinnom pre stabilizovanie jedného alebo viac enzýmov v kvapalnej enzýmovej zmesi. Prostriedok predlžuje skladovateľnosť a životnosť v priebehu skladovania kvapalných enzýmových zmesí, je tiež dispergátorom pre priemyselnú vodu. Stabilizovaná kvapalná enzýmová zmes môže obsahovať jednu alebo viac zložiek stabilizačného prostriedku a enzým. Spôsob stabilizovania kvapalnej enzýmovej zmesi zahŕňujú prídanie jedného alebo viacerých enzýmov ku stabilizačnému prostriedku, alebo spojenie stabilizačného prostriedku s kvapalnou enzýmovou zmesou obsahujúcou jeden alebo viac enzýmov. Po prídani je diamín a/alebo aminoxid v množstve účinnom pre stabilizovanie jedného alebo viac enzýmov.

Stabilizované kvapalné enzýmové zmesi

Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka nových prostriedkov na stabilizovanie jedného alebo viac enzýmov prítomných v kvapalných enzýmových zmesiach. Tieto stabilizujúce prostriedky môžu predĺžiť skladovateľnosť a životnosť v priebehu skladovania kvapalných enzýmových zmesí, dokonca za vysokých a nízkych teplôt. Vynález sa tiež týka stabilizovaných kvapalných enzýmových zmesí. Ďalej sa vynález týka nových spôsobov stabilizovania kvapalných enzýmových zmesí.

Doterajší stav techniky

Použitie enzýmov a kvapalných enzýmových zmesí v priemysle a na obchodnom trhu prudko vzrástlo v priebehu posledných rokov. Ako je dobre známe, enzýmy môžu byť kyslé, alkalické alebo neutrálne, v závislosti na rozsahu pH, v ktorom sú aktívne. Pozorovalo sa, že všetky tieto typy enzýmov sú užitočné vo vzťahu k predloženému vynálezu.

Mnoho enzýmov a kvapalných enzýmových zmesí je spojené s kvapalnými detergentami a používajú sa ako rozpúšťacie a čistiacie prostriedky. Ďalej v spojení s kvapalnými detergentami sa enzýmy a kvapalné enzýmové zmesi tiež používajú v rade rôznych komerčných a priemyselných oblastiach, v ktorých sa teraz používajú rôzne druhy enzýmových tried.

Proteázy sú dobre známu triedou enzýmov často používané pri rôznych priemyselných aplikáciách, kde hydrolyzujú peptidové väzby v proteínoch a proteínových substrátoch. Komerčne sa najviac používajú proteázy v priemysle čistiacich detergentov, kde pomáhajú odstrániť škvrny proteínového pôvodu, ako sú škvrny od krvi alebo vajec, a pri výrobe syra, kde pomáhajú pri sýrení mlieka. Proteázy sa tiež používajú ako prostriedky na skrehnutie jedla, pre zmäkčovanie kože, pre pozmeňovanie potravinových zložiek a vývoj aromatických príchuťí. Kvapalné enzýmové zmesi obsahujúce alkalické proteázy sú rovnako užitočné ako dispergačné prostriedky bakteriálnych filmov a povlakov z rias a húb vo vodách chladiacich veží a v zadržiavacích jazerách pre kvapaliny z kovopriemyslu.

Proteázy môžu byť charakterizované ako kyslé, neutrálne alebo alkalické proteázy, v závislosti na rozsahu pH, v ktorom sú aktívne. Kyslé proteázy zahrňujú mikrobiálne rennety, rennin (chymozín), pepsín a kyslé proteázy húb. Neutrálne proteázy zahrňujú trypsín, papain, bromelain/ficín a bakteriálnu

neutrálnu proteázu. Alkalické proteázy zahŕňujú subtilisin a podobné proteázy. Komerčné kvapalné enzýmové zmesi obsahujúce proteázy sú dostupné pod názvami Rennilase[®], "PTN" (pankreatický trypsín NOVO), "PEM" (proteolytická enzýmová zmes), Neutrase[®], Alcalase[®], Esperase[®] a Savinase[™], ktoré sú všetky od firmy Novo Nordisk Bioindustrials, Inc., Danbury, CT. Iná komerčná proteáza je dostupná pod názvom HT-Proteolytic od firmy Solvay Enzyme Products.

Amylázy, iná trieda enzýmov, sa rovnako používajú v rade priemyselných a komerčných postupov, v ktorých katalyzujú alebo urýchľujú hydrolýzu škrobu. Amylázy majú široké uplatnenie pri priemyselnom spracovaní kukuričných sirupov pre výrobu sirupov glukózy, sirupov maltózy a celej rady iných viacej čistených konečných produktov hydrolýzy škrobu, ako napríklad sirupov s vysokým obsahom fruktózy. Ako trieda amylázy zahŕňujú α -amylázu, β -amylázu, amyloglukozidázu (glukoamylázu), amylázu z húb a pullulanázu. Komerčné kvapalné enzýmové zmesi obsahujúce amylázy sú dostupné pod názvami BAN, Termamy[®], AMG, Fungamy[®] a Promozyme[™] od firmy Novo Nordisk, a Diazyme L-200, čo je produkt firmy Solvay Enzyme Products.

Inými komerčne hodnotnými triedami enzýmov sú také, ktoré spôsobujú hydrolýzu vlákna. Tieto triedy zahŕňujú celulózy, hemicelulózy, pektinázy a β -glukanázy. Celulózy sú enzýmy, ktoré odbúravajú celulózu, lineárny polymér glukózy, ktorá sa vyskytuje v bunkových stenách rastlín. Hemicelulózy sú zapojené do hydrolýzy hemicelulózy, ktorá je obdobne ako celulóza polysacharid vyskytujúci sa v rastlinách. Pektinázy sú enzýmy zapojené pri odbúravaní pektínu, čo je sacharid, ktorého hlavnou zložkou je cukrová kyselina. β -glukanázy sú enzýmy zapojené do hydrolýzy β -glukanov, ktoré sú rovnako podobné celulóze v tom, že sú to lineárne polyméry glukózy. Z komerčného hľadiska sú tieto enzýmy použiteľné vo väčšej alebo menšej miere v spracovateľských postupoch založených na odbúravaní vlákna.

Celulózy sa používajú pri procese odstránenia tiskárenskej černe zo starého novinového odpadového papiera (ONP), pričom nie je nutné používať žiadnu povrchovo aktívnu látku a alkalické chemikálie. Enzýmy vytlačia tiskárenskú čerň z povrchu vlákna a dispergujú častice čerň na konečnú veľkosť. S. Say-Kyoun Ow. "Metódy biologického odstránenia tiskárenskej čerň starého novinového odpadového papiera", *World Pulp and Paper Technology*, str. 63, 64 (1992). Súhrnne, celulózy zahŕňujú endocelulózu, exocelulózu, exocelobiohydrolázu a celobiázu. Komerčné kvapalné enzýmové zmesi obsahujúce celulózy sú dostupné pod názvami Celuclast[®] a Novozym[®] 188 obidve od firmy Novo Nordisk.

Hemicelulázy sa tiež používajú pri procese odstránenia tiskárenskej černej vytláčením častíc černej z povrchu vlákna starého novinového odpadového papiera, D. Y. Prasad a spol., "Enzymatické odstránenie tiskárenskej černej čiernych a bielych vytláčených písmen odpadového novinového papiera", Progress in Paper Recycling, máj 1992, str. 21, 22. Ďalej sa hemicelulázy ako sú xylanázy používajú pri bielení buničiny. Predbežné ošetrenie sulfátových buničín xylanázou spôsobuje veľké zníženie spotreby bieliacich chemikálií, ako je molekulový chlór, a tiež zlepšujú kvalitu buničiny prejavujúcu sa v maximálnej jasnosti, D. J. Senior a spol., "Zníženie množstva chlóru v priebehu bielenia sulfátovej buničiny po pôsobení xylanázy", Tappi Journal (pripravená publikácia; aspekty publikácie boli uvedené na medzinárodnej konferencii o bielení buničiny v Štokholme, 1991). PULPZYM® je produkt firmy Novo Nordisk a ECOPULP® je produkt firmy Alko Biotechnology. Existujú dva príklady komerčne dostupných kvapalných enzýmových zmesí, ktoré obsahujú bieliace enzýmy na báze xylanázy.

Hemicelulázy ako trieda zahŕňujú hemicelulázovú zmes a galaktomamananázu. Komerčné kvapalné enzýmové zmesi obsahujúce hemicelulázy sú dostupné pod názvami PULPZYM® od firmy Novo, ECOPULP® od Alko Biotechnology a Novozym® 280 a Gamanase™, obidve sú produktami firmy Novo Nordisk.

Pektinázy sú komerčne používané k zoslabovaniu bunkových stien a ku zvýšeniu extrakcie ovocnej šťavy a rovnako aj ku zníženiu viskozity a k prevencii gelovatenia v týchto extraktoch. Pektinázy sa skladajú z endopolygalakturonázy, exopolygalakturonázy, endopektát lyázy (transeliminázy), exopektát lyázy (transeliminázy) a endopektín lyázy (transeliminázy). Komerčné kvapalné enzýmové zmesi obsahujúce pektinázy sú dostupné pod názvami Pectinex™ Ultra SP a Pectinex™*, obidve od firmy Novo Nordisk.

β-glukanázy sú dôležité v sladovníctve a pivovarníctve, kde je treba upravovať bunkové steny jačmeňa, ktoré obsahujú β-glukany. β-glukanázy zahŕňujú lichenázu, laminarinázu a exoglukanázu. Komerčné kvapalné enzýmové zmesi obsahujúce β-glukanázy sú dostupné pod názvami Novozym® 234, Cereflo®, BAN, Finizym® a Ceremix®, všetky od firmy Novo Nordisk.

Dve ďalšie triedy enzýmov potrebných v priemysle a obchode sú lipázy a fosfolipázy. Lipázy a fosfolipázy sú esterázové enzýmy, ktoré hydrolyzujú tuky a oleje napadnutím esterových väzieb v týchto zlúčeninách. Lipázy pôsobia na triglyceridy, pričom fosfolipázy pôsobia na fosfolipidy. V priemysle lipázy a fosfolipázy predstavujú komerčne dostupné esterázy a obidve majú celý rad použitia v priemysle a obchode.

V papierenskom priemysle a pri spracovaní buničiny sa kvapalné enzýmové prípravky obsahujúce lipázy osvedčili zvlášť pri znížení dechtových usadenín na valcoch a inom zariadení v priebehu výrobného procesu. Napríklad bolo uvedené, že spracovanie nebielenej sulfitovej buničiny lipázou pred bielením chlóróm znižuje obsah chlórovaných triglyceridov, ktoré sú podľa zdelenia príčinou dechtových usadenín v priebehu výroby papiera. K. Fischer a K. Messner, "Zníženie húževnatého dechtu v drtičoch buničiny lypolytickými enzýmami", Tappi Journal, február 1992, str. 130. Novo Nordisk obchoduje s dvomi kvapalnými enzýmovými prípravkami pod názvami ResinaseTM a a ResinaseTM A 2X, obidva za určitých podmienok podľa zdelenia značne znižujú dechtové usadeniny odbúrávaním pryskríc z dreva obsiahnutých v buničine.

Ďalšie dôležité použitie lipáz je pri odmasťovaní koží a holín pri spracovaní kože. Alkalické lipázy sa používajú v spojení so špeciálnymi proteázami a emulgátormi na odmasťovanie a rovnako aj pre zlepšenie námoku a lúhovaniu pri výrobe koží, J. Christner, "Použitie lipáz pri postupoch v mokrých dielňach" 87 J. A. L. C. A. 128 (1992).

Lipázy sa taktiež používajú pri vývoji aromatických príchutí syrov a pre zlepšenie chutnosti hovädzieho loja pre psov. V nevodných systémoch sa lipázy používajú pri syntéze esterov z karboxylových kyselín a alkoholov.

Komerčné kvapalné enzýmové zmesi obsahujúce lipázy sú dostupné pod názvami Lipolase 100, Greasex 50L, PalataseTMA, PalataseTMM a LipozymeTH, všetky od firmy Novo Nordisk.

S ohľadom na komerčne užitočné fosfolipázy sa používa pankreatická fosfolipáza A₂ na premenu lecitínu na lyzolecitín. Lyzolecitín je výborný emulgátor pri výrobe majonézy a pečení chleba. Komerčne je fosfolipáza A₂ dostupná v kvapalnej enzýmovej zmesi dodávanej ako LECITASETM firmou Novo Nordisk.

Inou komerčne hodnotnou triedou enzýmov sú izomerázy, ktoré katalyzujú premenné reakcie medzi izomémi organických zlúčenín. Izomerázy sú obzvlášť dôležité pri výrobe kukuričných sirupov s vysokým obsahom fruktózy. Napríklad izomerázová reakcia aldóza-ketóza, ktorá je katalyzovaná glukozoizomerázou, zahŕňa premenu glukózy na fruktózu a je práve jednou z troch kľúčových enzýmových reakcií v priemysle. Produkt Sweetzyme[®] je kvapalná enzýmová zmes obsahujúca glukozoizomerázu, ktorá je dodávaná firmou Novo Nordisk.

Redoxenzýmy sú enzýmy, ktoré katalyzujú chemické oxidačno-redukčné reakcie a taktiež sú zahnuté pri odbúrávaní a syntéze mnohých biochemických látok. Bežne však nezískalo mnoho redoxenzýmov prominentné miesto v priemysle, pretože väčšina redoxenzýmov potrebuje kofaktor. Avšak tam, kde

kofaktory sú súčasťou enzýmu alebo sa nemusia dodávať, sú redoxenzýmy komerčne prospešné, najmä v potravinárskom priemysle.

Redoxenzým glukózo oxidáza sa používa k zabráneniu nežiadúcich reakcií vedúcich ku zhnednutiu a ovplyvňujúcich farbu a chuť potravín. Glukozoxidáza je taktiež používaná ako "odstraňovač kyslíka" k zabráneniu rozvoja pachutí v šťavách a pre ochranu farieb a stability v určitých citlivých potravinových zložkách. Redoxenzým kataláza sa používa na rozklad peroxidu vodíka používaného ako sterilizačné činidlo. Tretí redoxenzým lipoxidáza (lipoxygénáza), ktorá sa prirodzene vyskytuje v sojovej múke a zvyčajne sa pre priemyselné využitie nečistí, používa sa pri pečení nielen pre získanie svetlejšieho chleba, ale tiež k odstráneniu mäknutia cesta spôsobeného určitými prípravkami. Iné redoxenzýmy je možné použiť počnúc od enzymatických syntéz derivátov steroidov a končiac pri diagnostických testoch. Tieto redoxenzýmy zahŕňujú peroxidázu, superoxid dismutázu, alkohol oxidázu, polyfenol oxidázu, xantinoxidázu, sulfhydryl oxidázu, hydroxylázu, cholesterol oxidázu, lakázu, alkohol dehydrogenázu a steroidnú dehydrogenázu.

Keď sú enzýmy, ako tie, ktoré sú popísané vyššie, vyrobené alebo predané pre použitie v priemyselnej výrobe, zvyčajne sú vo forme kvapalných enzýmových zmesí určených pre určitý postup. U týchto kvapalných enzýmových zmesí však tradične trápil problém chemickej nestability, ktorá môže vyústiť do straty enzýmovej aktivity, najmä pri skladovaní. Tento kritický problém straty enzýmovej aktivity pri skladovaní ovplyvnil najmä priemysel kvapalných detergentov. Nie je neobvyklé skladovať priemyselné výrobky ako sú kvapalné enzýmové zmesi v obchodných domoch po celom svete v rôznom klimatickom prostredí, kde je produkt vystavený dlhšiu dobu teplote od teploty mrazu až nad 50 °C. Pri skladovaní pri extrémnych teplotách od 0 do 50 °C mnoho mesiacov stráca väčšina kvapalných enzýmových zmesí enzýmovú aktivitu z dôvodu nestability enzýmu.

Urobili sa rôzne pokusy na stabilizáciu enzýmov obsiahnutých v kvapalných enzýmových zmesiach. Pokusy na zvýšenie stability kvapalných enzýmových zmesí použitím prípravkov obsahujúcich alkoholy, glyceroly, dialkylglykoétery a zmesi týchto a iných zlúčenín mali iba okrajový úspech, dokonca pri miernych teplotách skladovania.

V U. S. patente 4,801,544 sa systém etylénglykolu a etoxylovaného lineárneho alkoholického neiontového tenzidu s uhlíkovodíkovým rozpúšťadlom použil ako stabilizátor. Popisuje sa enkapsulácia enzýmov v micelách vo vnútri zmesi rozpúšťadlo/tenzid. Avšak obsah vody v zmesi sa udržiaval v množstve

menšom ako 5 percent a enzýmová stabilita sa zisťovala pri 1,1 °C, 21,1 °C a 37,7 °C.

Stabilizácia vodného enzýmového prípravku použitím určitých esterov sa popisuje v U. S. patente 4,548,727. Ester používaný ako stabilizátor má vzorec



kde R je alkyl s 1 až 3 atómami uhlíka alebo atóm vodíka a

R' je alkyl s 1 až 6 atómami uhlíka.

Ester je prítomný vo vodnom enzýmovom prípravku v množstve od 0,1 až asi 2,5 % hmotnostných.

U. S. patent 4,318,818 popisuje stabilizujúci systém pre vodné enzýmové zmesi, v ktorom stabilizujúci systém obsahuje ióny vápnika a karboxylovú kyselinu alebo jej soľ s nízkou molekulovou hmotnosťou. pH stabilizujúceho systému je asi od 6,5 do asi 10.

U. S. patent 4,243,543 popisuje stabilizáciu kvapalných detergentných zmesí obsahujúcich proteolytické enzýmy. Detergentné zmesi sa stabilizujú pridaním antioxidantu a hydrofilného polyolu k zmesi, zatiaľ čo sa stabilizuje pH zmesi.

U. S. patent 4,169,817 popisuje kvapalnú čistiacu zmes obsahujúcu stabilizované enzýmy. Zmes je vodný roztok obsahujúci od 10 do 50 % hmotnostných pevných látok a zahrňujúci detergentné plnidlá, povrchovo aktívne činidlá, enzýmový systém odvodený od *Bacillus subtilis* a enzýmovo-stabilizačné činidlo. Stabilizačné činidlá obsahujú vo vode vysoko rozpustné soli sodíka alebo draslíka a/alebo vo vode rozpustné hydroxyalkoholy a umožňuje, aby roztok sa skladoval dlhšiu dobu bez deaktivácie enzýmov.

Európsky patent 0 352 244 A2 popisuje stabilizované kvapalné detergentové zmesi za použitia amfoterného tenzidu.

Podstata vynálezu

Predmetom predloženého vynálezu je poskytnúť prostriedok, ktorý je schopný stabilizovať jeden alebo viac enzýmov obsiahnutých v kvapalnej enzýmovej zmesi.

Druhým predmetom vynálezu je poskytnúť stabilizovanú kvapalnú enzýmovú zmes.

Tretím predmetom vynálezu je poskytnúť spôsob stabilizácie kvapalnej enzýmovej zmesi.

Tieto predmety vynálezu je možné splniť použitím stabilizujúceho prostriedku pre kvapalnú enzýmovú zmes, ktorá obsahuje aspoň jedno vo vode rozpustné kopulačné (spojovacie) činidlo, vybrané z alkoholu s krátkym reťazcom a glykolu s krátkym reťazcom, aspoň jeden z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu a vodu. Vo vode rozpustné kopulačné činidlo je prítomné v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti polyetoxylovaného alkyldiamínu a/alebo amínoxidu vo vode, a aspoň jeden z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu je prítomný v množstve účinnom pre stabilizovanie jedného alebo viac enzýmov obsiahnutých v kvapalnej enzýmovej zmesi. Tento stabilizačný prostriedok je možné použiť s rôznymi druhmi enzýmov používaných v kvapalných enzýmových zmesiach, ktoré majú rôzne funkcie. Triedy enzýmov, s ktorými sa môže tento prostriedok použiť, zahŕňujú triedy enzýmov predtým uvedených, nie sú však nimi obmedzené.

Vynález sa tiež týka stabilizovanej kvapalnej zmesi, ktorá obsahuje aspoň jedno vo vode rozpustné kopulačné činidlo, vybrané z alkoholu s krátkym reťazcom a glykolu s krátkym reťazcom, aspoň jeden z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu, vodu a aspoň jeden enzým. Vo vode rozpustné kopulačné činidlo je prítomné v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti polyetoxylovaného alkyldiamínu a/alebo amínoxidu vo vode, a aspoň jeden z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu je prítomný v množstve účinnom pre stabilizovanie aspoň jedného enzýmu obsiahnutého v kvapalnej enzýmovej zmesi.

Vynález sa ďalej týka spôsobu stabilizovania kvapalnej enzýmovej zmesi, ktorý zahŕňa kroky:

(a) pridanie do vody aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym reťazcom a glykolu s krátkym reťazcom,

(b) pridanie aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu do vody, ktorá obsahuje uvedené kopulačné činidlo vzniknuté v kroku (a) za vytvorenia vodného prostriedku, a

(c) pridanie aspoň jedného enzýmu k vodnému prostriedku vzniknutého v kroku (b),

pričom je kopulačné činidlo prítomné v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu v uvedenej vode, a ďalej v ktorom aspoň jeden z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu je prítomný v množstve účinnom pre stabilizovanie aspoň jedného enzýmu.

Vynález sa ďalej týka spôsobu stabilizovania kvapalnej enzýmovej zmesi, ktorý zahŕňa kroky:

(a) pridanie do vody aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym reťazcom a glykolu s krátkym reťazcom,

(b) pridanie aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu do vody, ktorá obsahuje uvedené kopulačné činidlo vzniknuté v kroku (a) za vytvorenia vodného prostriedku a,

(c) spojenie vodného prostriedku s kvapalnou enzýmovou zmesou, ktorá obsahuje aspoň jeden enzým,

pričom je kopulačné činidlo prítomné v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu vo vode, a ďalej pričom aspoň jeden z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu je prítomný v množstve účinnom pre stabilizovanie aspoň jedného enzýmu, ktorý je obsiahnutý v uvedenej kvapalnej enzýmovej zmesi.

Vynález sa ďalej týka stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi, ktorá obsahuje:

(a) polyetoxylovaný alkyldiamín, a

(b) aspoň jeden enzým,

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie aspoň toho jedného enzýmu.

Vynález sa ďalej týka stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi, ktorá obsahuje:

(a) amínoxid, a

(b) aspoň jeden enzým,

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie aspoň jedného enzýmu.

Vynález sa ďalej týka stabilizovanej enzýmovej zmesi, ktorá obsahuje:

(a) aspoň jeden z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu, a

(b) aspoň jeden enzým,

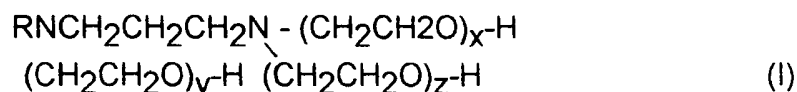
pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie aspoň jedného enzýmu.

Vo vode rozpustné kopulačné činidlo použité v predloženom vynáleze sa používa pre zvýšenie rozpustnosti polyetoxylovaného alkyldiamínu a/alebo amínoxidu vo vode, a pre zvýšenie ich konečných koncentrácií v stabilizačnom prostriedku nad tie, ktoré je možné dosiahnuť pri neprítomnosti kopulačného činidla. Ak sa však stabilizuje predtým vytvorená kvapalná enzymatická zmes, vo vode rozpustné kopulačné činidlo je alebo nie je treba pre rozpustenie polyetoxylovaného alkyldiamínu alebo amínoxidu. Tieto vopred vytvorené kvapalné enzymatické zmesi zahŕňujú obidve možnosti, ako vodnej zmesi, tak vytvorenej z alebo za použitia organických rozpúšťadiel alebo médií.

Ak sa použije vo vode rozpustné kopulačné činidlo, je vybrané z aspoň jedného alkoholu s krátkym reťazcom a glykolu s krátkym reťazcom. Výhodne je kopulačné činidlo vybrané z C₁-C₆ alkoholu a C₂-C₆ glykolu, každý majúci hlavný reťazec do šesť atómov uhlíka. Najvýhodnejšie sú alkohol a glykol vybrané z etanolu, propanolu, butylénglykolu, propylénglykolu a hexylénglykolu. Ak sa v dtabilizačnom prostriedku použije polyetoxylovaný alkyldiamín s dlhším reťazcom, môže ako kopulačné činidlo pre polyetoxylovaný alkyladiamín s dlhším reťazcom slúžiť polyetoxylovaný alkyldiamín s kratším reťazcom.

Stabilizačný prostriedok tiež obsahuje aspoň z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu. V závislosti na enzýme, ktorý má byť stabilizovaný, stabilizačný prostriedok môže obsahovať buď (i) aspoň jeden polyetoxylovaný alkyldiamín alebo (ii) aspoň jeden amínoxid, alebo zmes (i) a (ii). Napríklad polyetoxylovaný alkyldiamín sa môže použiť spolu s hore uvedeným kopulačným činidlom za vylúčenia amínoxidu. Iná možnosť je použiť amínoxid spolu s kopulačným činidlom za vylúčenia polyetoxylovaného alkyldiamínu. Najvýhodnejšie sa v stabilizačnom prostriedku používa zmes obidvoch látok (i) a (ii). Odborník ľahko a bežne zistí vhodnú zmes pre určitú kvapalnú enzýmovú zmes, ktorá má byť stabilizovaná.

Výhodne obsahuje polyetoxylovaný alkyldiamín pre uskutočnenie vynálezu zlúčeninu vzorca I



kde součet x, y a z je od 2 do 20 a R je C₃-C₂₂ alkyl.

Polyetoxylovaný alkyldiamín je všeobecne vo forme zmesi zlúčenín alebo "štepov", predstavujúcich stupeň etoxylácie a majúcich spoločné znaky, ako sú alkylová časť a molekulové hmotnosti pohybujúce sa od 220 do 515. Najvýhodnejšie polyetoxylované alkyldiamíny sú:

N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diaminopropán,
N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diaminopropán,
N,N,N-polyoxyetylén(13)-N-tallow-1,3-diaminopropán,
N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diaminopropán,
N,N,N-polyoxyetylén(20)-N-tallow-1,3-diaminopropán, a
N,N,N-polyoxyetylén(25)-N-tallow-1,3-diaminopropán.

Polyetoxylované alkyldiamíny je možné získať z komerčného zdroja ako je Akzo Chemical Division of McCook, Illinois. Tieto produkty sú na trhu podobchodným označením Ethoduomeen.

Stabilizačný prostriedok podľa tohto vynálezu môže obsahovať amínoxid. Výhodnej sa ako amínoxid používa terciárny amínoxid vzorca II:



kde R' je metyl, hydroxymetyl, etyl alebo hydroxyetyl a

R'' je C₈-C₂₂-alkyl.

Obzvlášť výhodnými amínoxidmi sú: bis(2-hydroxyetyl)kokoaminoxid, bis(2-hydroxyetyl)tallowaminoxid, dimetylkokoaminoxid, dimetyltallowaminoxid a dimetylhexadecylaminoxid. Amínoxidy je možné získať z rady komerčných zdrojov, ako sú Akzo Chemicals, Inc., Sherex Chemicals, Stepan, Lonza, Proctor & Gamble a Jordon Chemicals Co. Produkty amínoxidu od Akzo Chemicals, Inc. sú na trhu pod obchodným označením Aromox.

Stabilizačný prostriedok tu popísaný je možné použiť s rôznymi druhmi enzýmov a pri rôznych priemyselných postupoch alebo v rôznych priemyselných produktoch. Enzymatické priemyselné postupy a priemyselné produkty, s ktorými sa tento stabilizačný prostriedok môže použiť, zahŕňujú tie, ktoré už boli predtým uvedené, nie sú však nimi obmedzené.

Použitie stabilizačného prostriedku pre stabilizovanie enzýmovej zmesi viedlo k druhému predmetu predloženého vynálezu, k stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi. Vynález sa teda týka aj stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi, ktorá obsahuje aspoň jedno vo vode rozpustné kopulačné činidlo, vybrané z alkoholu s krátkym reťazcom a glykolu s krátkym reťazcom, aspoň jeden z i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu, vodu a enzým.

Zamýšľané a výhodné uskutočnenie s ohľadom na vo vode rozpustné kopulačné činidlo, polyetoxylovaný alkyldiamín a amínoxid, ktoré sú v tejto stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi, sú rovnaké ako tieto látky prebrané zhora s ohľadom na stabilizačný prostriedok podľa tohto vynálezu.

Rovnako ako stabilizačný prostriedok, môže sa kvapalná enzýmová zmes podľa vynálezu použiť s rôznymi enzýmami. Tieto enzýmy zahŕňajú, ale nie sú nimi obmedzované, enzýmové triedy a určité enzýmy predtým popísané. Enzýmy, ktoré je možné použiť, sú pôvodu živočíšneho, rastlinného, z húb, pôvodu

bakteriálneho a syntetického. Výhodné enzýmy sú proteázy, včetně kyslých, alkalických a neutrálnych proteáz, ktoré majú široké uplatnenie ako čistiarenské detergenty a pri priemyselnej výrobe syra; amylázy včetně kyslých, alkalických a neutrálnych amyláz sa používajú napríklad pri výrobe kukuričných sirupov; a lipázy sa používajú pre vývoj aromatických príchuť v syroch a pri priemyselnej výrobe buničiny a papiera a kože.

V stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi podľa vynálezu môže byť kopulačné činidlo výhodne v množstve od 0,1 do 30 % hmotnostných, avšak výhodnejšie od 1 do 20 %. Polyetoxylovaný alkyldiamín, ak je prítomný, môže byť výhodne v množstve od 0,1 do 50 % hmotnostných zmesi, avšak výhodnejšie od 1 do 30 %.

Amínoxid, ak je prítomný, môže byť tiež výhodne v množstve od 0,1 do 50 % hmotnostných zmesi, avšak výhodnejšie od 1 do 30 %. Množstvo prítomnej vody sa môže výhodne meniť od 10 do 80 % hmotnostných zmesi.

Množstvo enzýmu prítomného vo forme zriedeného koncentrovaného enzýmu môže byť výhodne v rozmedzí od 0,001 do 50 % hmotnosti koncentrovanej zmesi, avšak výhodnejšie od 0,01 do 25 % hmotnostných. Množstvo prítomného enzýmu však veľmi závisí na aktivite enzýmu a na požadovanom konečnom použití.

pH konečnej stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi, ktoré je závislé na enzýme, ktorý obsahuje a na jeho zamýšľanom použití, sa výhodne mení od 4,0 do 11,0, avšak výhodnejšie od 5,0 do 10,0. Ako je zrejmé v odbore, pre nastavenie pH môže byť nutné malé množstvo kyslej alebo alkalického látky.

Stabilizovaná kvapalná enzýmová zmes môže obsahovať iné prídavné látky zamerané na použitie zmesi v určitom priemyselnom procese. Napríklad stabilizovaná kvapalná enzýmová zmes môže obsahovať prídavné látky ako povrchovo aktívne látky, odpeňovače a iné, ktoré sú známe v odbore. Ak sa použije stabilizovaná kvapalná enzýmová zmes podľa vynálezu, výhodne môže stabilizujúci prostriedok tiež pôsobiť ako dispergačný prostriedok pre enzým vo vode z priemyslu.

Predložený vynález sa tiež týka spôsobu stabilizovania kvapalnej enzýmovej zmesi, ktorý zahrňuje vyššie popísané kroky. Ilustratívne a výhodné zložky a tiež množstvo zložiek použitých v krokoch sú rovnaké ako sa vyššie popisovalo.

Priemerný odborník rozumie, že je možné komponenty stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi miešať v akomkoľvek poradí alebo dokonca súčasne. Avšak výhodné je poradie:

(a) pridanie do vody aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym reťazcom a glykolu s krátkym reťazcom,

(b) pridanie aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu do vody, ktorá obsahuje kopulačné činidlo vzniknuté v kroku (a) za vytvorenia vodného prostriedku, a

(c) pridanie aspoň jedného enzýmu k vodnému prostriedku vzniknutého v kroku (b). Ak majú byť obsiahnuté iné aditívne látky v stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi, také aditíva sa môžu pridať v akejkolvek dobe, avšak výhodne po kopulačnom stupni, alebo v stupni oddelenom od stupňa, v ktorom sa pridáva enzým.

Priemerný odborník by rovnako zistil, že kopulačný stupeň a pridanie aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu do kopulovanej vody vzniknutej z kopulačného stupňa, vytvorí stabilizačný prostriedok podľa vyššie uvedeného uskutočnenia podľa vynálezu. Tieto kroky sa môžu uskutočniť v akomkoľvek poradí alebo dokonca súčasne, avšak vyššie uvedený poriadok je výhodný.

Iná metóda pre stabilizáciu kvapalnej enzýmovej zmesi zahŕňa kroky:

(a) pridanie do vody aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym reťazcom a glykolu s krátkym reťazcom,

(b) pridanie aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu do vody, ktorá obsahuje kopulačné činidlo vzniknuté v kroku (a) za vytvorenia vodného prostriedku, a

(c) spojenie vodného prostriedku s kvapalnou enzýmovou zmesou, ktorá obsahuje aspoň jeden enzým.

Nasledujúce príklady sa uvádzajú preto, aby ozrejmili vynález. Je však treba upozorniť na to, že vynález nie je obmedzený na určité podmienky alebo podrobnosti uvedené v týchto príkladoch.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Stabilizované kvapalné enzýmové zmesi sa pripravili podľa vynálezu. Množstvo každej zložky je vyjadrené ako hmotnostné % celkovej zmesi a uvádza sa v tabuľke 1. Poradie pridania zložiek bolo výhodné poradie popísané vyššie. Tabuľka 2 uvádza so zodpovedajúcimi kódmi rôzne nestabilizované prirodzené kvapalné enzýmové koncentráty a ich zriedenie s 95 % vody. Tieto

nestabilizované koncentráty sa použili pri príprave stabilizovaných kvapalných enzýmových zmesí v tabuľkách 1 a 3.

TABUĽKA 1
STABILIZOVANÉ ENZÝMOVÉ ZMESI

		A	B	C	D
HT-Proteolytic®	(enzým)	10	0	0	0
Diazyme L-200®	(enzým)	0	10	0	0
Lipolase® 100	(enzým)	0	0	5	0
Lipolase	(enzým)	0	0	0	5
amínoxid 1/		1	20	10	10
polyetoxylovaný alkyldiamín 2/		15	2	1	1
hexylénglykol		10	10	5	5
etanol		10	5	2	2
voda		54	53	77	77

1/ Produkt Aromox C-12, bis 2-hydroxyetylkoamínoxid, od firmy Akzo Chemicals, Inc.

2/ Produkt Ethoduomeen T-13, 13-etoxylovaný tallowalkyl (N,N,N-polyoxyetylén(13)-N-tallow-1,3-diamínopropán), od firmy Akzo Chemicals, Inc.

TABUĽKA 2
ENZÝMOVÉ ZMESI

	100 % koncentrácia	95 % vodné zriedenie
HT-Proteolytic®	Aa	Aa1
Diazyme L-200®	Bb	Bb1
Lipolase®100	Cc	Cc1
Lipase	Dd	Dd1

Príklad 2

Enzýmová stabilita stabilizovaných kvapalných enzýmových zmesí bola porovnávaná so stabilitou enzýmových koncentrátov a vodných zriedení pri 50 °C. Výsledky uvedené v tabuľke 3 ukazujú 95 % alebo vyššiu stabilitu po 12 týždňoch pri 50 °C u stabilizovaných kvapalných enzýmových zmesiach, pričom prirodzené enzýmové koncentráty a vodné zriedenie významne stratili enzýmovú aktivitu po 2 týždňoch pri 50 °C.

TABUĽKA 3
ENZÝMOVÁ STABILITA PRI 50 °C

Prostriedky	% súčasnej aktivity				
	začiatok	počet týždňov			
		2	4	8	12
A	100	100	100	100	100
Aa	100	27	0	0	0
Aa1	100	16	0	0	0
B	100	100	100	100	96
Bb	100	33	0	0	0
Bb1	100	24	0	0	0
C	100	100	100	98	95
Cc	100	49	4	0	0
Cc1	100	21	0	0	0
D	100	100	100	95	95
Dd	100	54	7	0	0
Dd1	100	36	3	0	0

Príklad 3

Stabilizované kvapalné enzýmové zmesi, enzýmové koncentráty a vodné zriedenie boli všetky podrobené cyklom zmrazenia/roztopenia s nasledujúcim testovaním % enzymovej aktivity po každom cykle. Stabilizované kvapalné enzýmové zmesi ukázali viac než 90 % aktivity, ktorá ostala po 6 prevedených cykloch. Ďalej sapozorovalo, že dokonca jeden cyklus zmrazenia/roztopenia

výrazne inaktivoval koncentráty a jednoduché vodné zriedenia týchto koncentrátov. Výsledky sú uvedené v tabuľke 4.

TABUĽKA 4
% AKTIVITY PO CYKLE ZMRAZENIE/ROZTOPENIE

Prostriedky	% aktivita					
	začiatok	počet cyklov zmrazenia/roztopenia				
		1	2	3	4	5
A	100	100	100	100	100	100
Aa	100	56	0	0	0	0
Aa1	100	11	0	0	0	0
B	100	100	100	100	100	100
Bb	100	73	18	0	0	0
Bb1	100	14	0	0	0	0
C	100	100	100	100	100	98
Cc	100	28	0	0	0	0
Cc1	100	5	0	0	0	0
D	100	100	100	100	100	95
Dd	100	15	0	0	0	0
Dd1	100	3	0	0	0	0

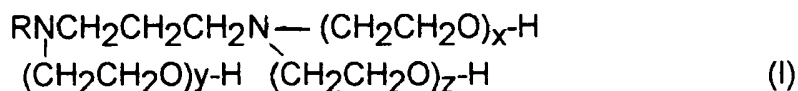
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Prostriedok pre stabilizovanie kvapalnej enzýmovej zmesi, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že v podstate pozostáva z:

- (a) aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym uhlíkovým reťazcom a glykolu s krátkym uhlíkovým reťazcom,
- (b) aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu, a
- (c) vody

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti zložky (b) v uvedenej vode, a uvedená zložka (b) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie jedného alebo viac enzýmov obsiahnutých v kvapalnej enzýmovej zmesi.

2. Prostriedok podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je aspoň jedna zlúčenina vzorca I



kde súčet x, y a z je od 2 do 20 a R je C₃-C₂₂alkylový radikál.

3. Prostriedok podľa nároku 2, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je aspoň jedna zlúčenina vybraná z

N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diamínopropán,
N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diamínopropán a
N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diamínopropán.

4. Prostriedok podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že uvedený amínoxid je aspoň jeden terciárny amínoxid vzorca II



kde R' je metyl, hydroxymetyl, etyl alebo hydroxyetyl a
R'' je C₈-C₂₂alkylový radikál.

5. Prostriedok podľa nároku 4, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený amínoxid je aspoň jedna zlúčenina vybraná z bis(2-hydroxyetyl)kokoamínoxid, bis(2-hydroxyetyl)-tallowamínoxid, dimetylkokoamínoxid, dimetyltallowamínoxid a dimetylhexadecylamínoxid.

6. Prostriedok podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené kopulačné činidlo je vybrané z C₁-C₆ alkoholu a C₂-C₆ glykolu.

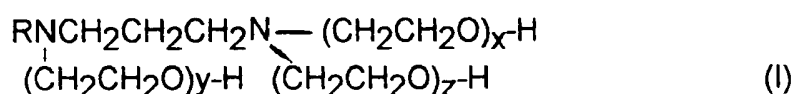
7. Prostriedok podľa nároku 6, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené kopulačné činidlo je vybrané z etanolu, propanolu, butylénglykolu, propylénglykolu a hexylénglykolu.

8. Stabilizovaná kvapalná enzymová zmes, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že v podstate pozostáva z:

- (a) aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym uhlíkovým reťazcom a glykolu s krátkym uhlíkovým reťazcom,
- (b) aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu,
- (c) vody, a
- (d) aspoň jedného enzýmu

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti zložky (b) v uvedenej vode, a uvedená zložka (b) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie uvedeného enzýmu.

9. Zmes podľa nároku 8, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je aspoň jedna zlúčenina vzorca I



kde súčet x, y a z je od 2 do 20 a R je C₃-C₂₂ alkylový radikál.

10. Zmes podľa nároku 9, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je aspoň jedna zlúčenina vybraná z

N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diamínopropán,
N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diamínopropán a
N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diamínopropán.

11. Zmes podľa nároku 8, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že uvedený amínoxid je aspoň jeden terciárny amínoxid vzorca II



kde R' je metyl, hydroxymetyl, etyl alebo hydroxyetyl a

R'' je C₈-C₂₂alkylový radikál.

12. Zmes podľa nároku 11, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že uvedený amínoxid je aspoň jedna zlúčenina vybraná z bis(2-hydroxyetyl)kokoamínoxid, bis(2-hydroxyetyl)-tallowamínoxid, dimetylkokoamínoxid, dimetyltallowamínoxid a dimetylhexadecylamínoxid.

13. Zmes podľa nároku 8, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že uvedené kopulačné činidlo je vybrané z C₁-C₆ alkoholu a C₂-C₆ glykolu.

14. Zmes podľa nároku 13, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že uvedené kopulačné činidlo je vybrané z etanolu, propanolu, butylénglykolu, propylénglykolu a hexylénglykolu.

15. Zmes podľa nároku 8, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že uvedený enzým je vybraný z proteázy, amylázy a lipázy.

16. Zmes podľa nároku 8, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že uvedené kopulačné činidlo je prítomné od 0,1 do 30 % hmotnostných zmesi, uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je prítomný od 0,1 do 50 % hmotnostných zmesi, a uvedený amínoxid je prítomný od 0,1 do 50 % hmotnostných zmesi.

17. Spôsob výroby stabilizovanej kvapalnej enzýmovej zmesi, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že v podstate pozostáva z krokov:

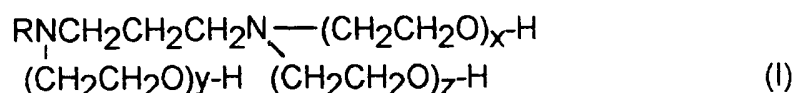
(a) pridanie do vody aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym uhlíkovým reťazcom a glykolu s krátkym uhlíkovým reťazcom,

(b) pridanie aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu do vody, ktorá obsahuje uvedené kopulačné činidlo vzniknuté v kroku (a), za vytvorenia vodného prostriedku, a

(c) pridanie aspoň jedného enzýmu do vodného prostriedku vzniknutého v kroku (b),

pričom uvedené kopulačné činidlo je prítomné v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti uvedeného aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu v uvedenej vode, a ďalej pričom uvedený aspoň jeden z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) amínoxidu je prítomný v množstve účinnom pre stabilizovanie uvedeného aspoň jedného enzýmu.

18. Spôsob podľa nároku 17, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je aspoň jedna zlúčenina vzorca I



kde súčet x, y a z je od 2 do 20 a R je C₃-C₂₂ alkylový radikál.

19. Spôsob podľa nároku 18, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je aspoň jedna zlúčenina vybraná z
N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diamínopropán,
N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diamínopropán a
N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diamínopropán.

20. Spôsob podľa nároku 17, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený amínoxid je aspoň jeden terciárny amínoxid vzorca II



kde R' je metyl, hydroxymetyl, etyl alebo hydroxyetyl a

R'' je C₈-C₂₂ alkylový radikál.

21. Spôsob podľa nároku 20, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený amínoxid je aspoň jedna zlúčenina vybraná z bis(2-hydroxyetyl)kokoamínoxid,

bis(2-hydroxyetyl)tallowaminoxid, dimetylkokoaminoxid, dimetyltallowaminoxid a dimetylhexadecylaminoxid.

22. Spôsob podľa nároku 17, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené kopulačné činidlo je vybrané z C₁-C₆ alkoholu a C₂-C₆ glykolu.

23. Spôsob podľa nároku 22, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené kopulačné činidlo je vybrané z etanolu, propanolu, butylénglykolu, propylénglykolu a hexylénglykolu.

24. Spôsob podľa nároku 17, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený enzým je vybraný z proteázy, amylázy a lipázy.

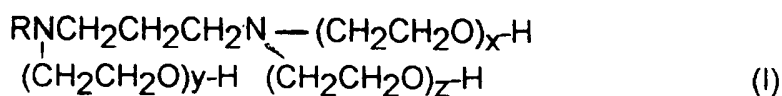
25. Spôsob stabilizovania kvapalnej enzýmovej zmesi v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že v podstate pozostáva z krokov:

(a) pridanie do vody aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym uhlíkovým reťazcom a glykolu s krátkym uhlíkovým reťazcom,

(b) pridanie aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) aminoxidu do vody, ktorá obsahuje uvedené kopulačné činidlo vzniknuté v kroku (a), za vytvorenia vodného prostriedku, a

(c) spojenie uvedeného vodného prostriedku s kvapalnou enzýmovou zmesou, ktorá obsahuje aspoň jeden enzým, pričom uvedené kopulačné činidlo je prítomné v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti uvedeného aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) aminoxidu v uvedenej vode, a ďalej pričom uvedený aspoň jeden z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu a (ii) aminoxidu je prítomný v množstve účinnom pre stabilizovanie uvedeného aspoň jedného enzýmu obsiahnutého v uvedenom kvapalnom enzýmovom prostriedku.

26. Spôsob podľa nároku 25, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je aspoň jedna zlúčenina vzorca I



kde súčet x, y a z je od 2 do 20 a R je C₃-C₂₂ alkylový radikál.

27. Spôsob podľa nároku 26, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je aspoň jedna zlúčenina vybraná z

N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diamínopropán,
N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diamínopropán a
N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diamínopropán.

28. Spôsob podľa nároku 25, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený amínoxid je aspoň jeden terciárny amínoxid vzorca II



kde R' je metyl, hydroxymetyl, etyl alebo hydroxyetyl a

R'' je C₈-C₂₂alkylový radikál.

29. Spôsob podľa nároku 28, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený amínoxid je aspoň jedna zlúčenina vybraná z bis(2-hydroxyetyl)kokoamínoxid, bis(2-hydroxyetyl)tallowamínoxid, dimetylkokoamínoxid, dimetyltallowamínoxid a dimetylhexadecylamínoxid.

30. Spôsob podľa nároku 25, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené kopulačné činidlo je vybrané z C₁-C₆ alkoholu a C₂-C₆ glykolu.

31. Spôsob podľa nároku 30, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené kopulačné činidlo je vybrané z etanolu, propanolu, butylénglykolu, propylénglykolu a hexylénglykolu.

32 Spôsob podľa nároku 25, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedený enzým je vybraný z proteázy, amylázy a lipázy.

33. Stabilizovaná kvapalná enzýmová zmes, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že v podstate pozostáva z:

(a) polyetoxylovaného alkyldiamínu, a

(b) aspoň jedného enzýmu

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie uvedeného aspoň jedného enzýmu.

34. Zmes podľa nároku 33, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že ďalej obsahuje vodu.

35. Stabilizovaná kvapalná enzýmová zmes, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že v podstate pozostáva z:

- (a) amínoxidu, a
- (b) aspoň jedného enzýmu

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie uvedeného aspoň jedného enzýmu.

36. Zmes podľa nároku 35, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že ďalej obsahuje vodu.

37. Stabilizovaná kvapalná enzymová zmes, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že v podstate pozostáva z:

- (a) aspoň jedného z (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu, a (ii) amínoxidu, a
- (b) aspoň jedného enzýmu

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie aspoň jedného enzýmu.

38. Zmes podľa nároku 37, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že ďalej obsahuje vodu.

39. Zmes podľa nároku 37, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že v podstate pozostáva z:

- (a) (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu,
- (ii) amínoxidu, a
- (b) enzýmu

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie uvedeného enzýmu.

40. Zmes podľa nároku 39, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je vybraný z

N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diamínopropánu,
N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diamínopropánu a
N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diamínopropánu

uvedený amínoxid je vybraný z bis(2-hydroxyetyl)kokoamínoxidu, bis(2-hydroxyetyl)tallowamínoxidu, dimetylkokoamínoxidu, dimetyltallowamínoxidu a

dimethylhexadecylaminoxidu, a uvedený enzým je vybraný z proteázy, amylázy a lipázy.

41. Spôsob podľa nároku 25, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že v podstate pozostáva z krokov:

(a) pridanie do vody aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym uhlíkovým reťazcom a glykolu s krátkym uhlíkovým reťazcom,

(b) pridanie polyetoxylovaného alkyldiamínu a aminoxidu do vody, ktorá obsahuje uvedené kopulačné činidlo vzniknuté v kroku (a), za vytvorenia vodného prostriedku, a

(c) spojenie uvedeného vodného roztoku s kvapalnou enzýmovou zmesou, ktorá obsahuje enzým, pričom uvedené kopulačné činidlo je prítomné v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti uvedeného polyetoxylovaného alkyldiamínu a uvedeného aminoxidu v uvedenej vode,

a ďalej pričom uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín a uvedený amínoxid sú prítomné v spojenom množstve účinnom pre stabilizovanie uvedeného enzýmu obsiahnutého v uvedenom kvapalnom enzýmovom prostriedku.

42. Spôsob podľa nároku 41, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené vo vode rozpustné kopulačné činidlo je vybrané z etanolu, propanolu, butylénglykolu, propylénglykolu a hexylénglykolu.,

uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je vybraný z N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diamínopropánu, N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diamínopropánu a N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diamínopropánu, a

uvedený amínoxid je vybraný z bis(2-hydroxyetyl)kokoaminoxidu, bis(2-hydroxyetyl)tallowaminoxidu, dimetylkokoaminoxidu, dimetyltallowaminoxidu a dimethylhexadecylaminoxidu.

43. Spôsob podľa nároku 17, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že v podstate pozostáva z krokov:

(a) pridanie do vody aspoň jedného vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym uhlíkovým reťazcom a glykolu s krátkym uhlíkovým reťazcom,

(b) pridanie polyetoxylovaného alkyldiamínu a amínoxidu do vody, ktorá obsahuje uvedené kopulačné činidlo vzniknuté v kroku (a), za vytvorenia vodného prostriedku, a

(c) pridanie enzýmu do vodného prostriedku vzniknutého v kroku (b), pričom uvedené kopulačné činidlo je prítomné v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti uvedeného polyetoxylovaného alkyldiamínu a uvedeného amínoxidu v uvedenej vode,

a ďalej pričom uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín a uvedený amínoxid sú prítomné v spoločnom množstve účinnom pre stabilizovanie uvedeného enzýmu.

44. Spôsob podľa nároku 43, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené vo vode rozpustné kopulačné činidlo je vybrané z etanolu, propanolu, butylénglykolu, propylénglykolu a hexylénglykolu,

uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je vybraný z N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diamínopropánu, N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diamínopropánu a N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diamínopropánu, a

uvedený amínoxid je vybraný z bis(2-hydroxyetyl)kokoamínoxidu, bis(2-hydroxyetyl)tallowamínoxidu, dimetylkokoamínoxidu, dimetyltallowamínoxidu a dimetylhexadecylamínoxidu.

45. Zmes podľa nároku 8, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že v podstate pozostáva z:

(a) vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym uhlíkovým reťazcom a glykolu s krátkym uhlíkovým reťazcom,

(b) (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu,
(ii) amínoxidu,

(c) vody, a

(d) enzýmu

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti zložky (b) v uvedenej vode, a pričom zložka (b) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie uvedeného enzýmu.

46. Zmes podľa nároku 45, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené vo vode rozpustné kopulačné činidlo je vybrané z etanolu, propanolu, butylénglykolu, propylénglykolu a hexylénglykolu,

uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je vybraný z N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diamínopropánu,

N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diamínopropánu a
N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diamínopropánu, a

uvedený amínoxid je vybraný z bis(2-hydroxyetyl)kokoamínoxidu, bis(2-hydroxyetyl)tallowamínoxidu, dimetylkokoamínoxidu, dimetyltallowamínoxidu a dimetylhexadecylamínoxidu, a uvedený enzým je vybraný z proteázy, amylázy a lipázy.

47. Prostriedok podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že v podstate pozostáva z:

(a) vo vode rozpustného kopulačného činidla, vybraného z alkoholu s krátkym uhlíkovým reťazcom a glykolu s krátkym uhlíkovým reťazcom,

(b) (i) polyetoxylovaného alkyldiamínu

(ii) amínoxidu, a

(c) vody

pričom zložka (a) je prítomná v množstve účinnom pre zvýšenie rozpustnosti zložky (b) v uvedenej vode, a pričom zložka (b) je prítomná v množstve účinnom pre stabilizovanie enzýmu obsiahnutého v kvapalnej enzýmovej zmesi.

48. Prostriedok podľa nároku 47, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené vo vode rozpustné kopulačné činidlo je vybrané z etanolu, propanolu, butylénglykolu, propylénglykolu a hexylénglykolu,

uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je vybraný z

N,N,N-tris(2-hydroxyetyl)-N-tallow-1,3-diamínopropánu,

N,N,N-polyoxyetylén(10)-N-tallow-1,3-diamínopropánu a

N,N,N-polyoxyetylén(15)-N-tallow-1,3-diamínopropánu, a

uvedený amínoxid je vybraný z bis(2-hydroxyetyl)kokoamínoxidu, bis(2-hydroxyetyl)tallowamínoxidu, dimetylkokoamínoxidu, dimetyltallowamínoxidu a dimetylhexadecylamínoxidu.

49. Prostriedok podľa nároku 47, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že uvedené vo vode rozpustné kopulačné činidlo je etanol, hexylénglykol alebo ich zmes,

uvedený polyetoxylovaný alkyldiamín je tallowalkyl(N,N,N-polyoxyetylén(13)-N-tallow-1,3-diamínopropánu), a

uvedený amínoxid je bis(2-hydroxyetyl)kokoamínoxid.