



(19) Republik
Österreich
Patentamt

(11) Nummer: AT 394 574 B

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 530/85

(51) Int.Cl.⁵ : C11D 3/386

(22) Anmeldetag: 29. 4.1981

(42) Beginn der Patentdauer: 15.10.1991

(45) Ausgabetag: 11. 5.1992

(62) Ausscheidung aus Anmeldung Nr.: 1915/81

(30) Priorität:

30. 4.1980 DK 1872/80 beansprucht.

(73) Patentinhaber:

NOVO INDUSTRI A/S
DK-2880 BAGSVAERD (DK).

(72) Erfinder:

BARBESGAARD PEDER OE
FARUM (DK).
JENSEN GEORG WILHELM
BAGSVAERD (DK).
HOLM Poul
BRONSHØJ (DK).

(54) HAUPTWASCHMITTEL

(57) Ein die Rauhheit von Baumwollgeweben herabsetzender, enzymatischer Zusatz für Hauptwaschmittel basiert auf Pilzcellulase, speziell auf der Cellulase, die von *Humicola insolens* stammt. Das enzymatische Additiv kann in hohen Ausbeuten produziert werden und zeigt eine außerdentliche Aktivität bei alkalischen pH-Werten, wodurch es möglich ist, den genannten Zusatz einem Hauptwaschmittel zuzusetzen und die Herabsetzung der Geweberauhheit während des Hauptwaschganges in einem Arbeitsgang auszuführen.

B
AT 394 574

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Hauptwaschmittel für Baumwolle, insbesondere für Waschtemperaturen unter 70 °C, vorzugsweise unter 60 °C, das übliche Waschmittelbestandteile, wie oberflächenaktive Stoffe, Builders, Enthärter, Bleichmittel, Enzyme, Aufheller, Schaummodifikatoren, Stabilisatoren, Rückschmutzverhinderer, Füllstoffe enthält.

Es ist bekannt, daß das Waschen von Baumwolle enthaltenden Textilien unter normalen Bedingungen zu einer ausgeprägten unangenehmen Rauhheit der Textilien führt. Bei den heute üblichen Waschmethoden wird diese Rauhheit normalerweise durch eine anschließende Behandlung der Textilien mit einem Weichmacher (Weichspülmittel) reduziert. Der genannte Weichmacher enthält ein kationisches Waschmittel. Diese Behandlung geschieht in einem separaten Gang nach dem Hauptwaschgang. Die Behandlung weist jedoch einen wichtigen Nachteil auf, und zwar dauert der rauhheitsreduzierende Effekt nur eine gewisse Zeit lang. Nach dem nächsten Waschen ist das Gewebe wieder mit der genannten Rauhheit behaftet und muß erneut mit einem Weichmacher behandelt werden. Obwohl große Summen aufgewendet worden sind, um bessere Methoden zur Verringerung der Textilrauhheit zu entwickeln, verbleibt die Tatsache, daß die bekannten Weichmacher in der Praxis dem Gewebe in einem vom Hauptwaschgang getrennten Gang zugesetzt werden müssen, um ihren vollen Effekt ausüben zu können. Ebenso verbleibt die Tatsache, daß der genannte Effekt nur von temporärer Natur ist.

Es existieren verschiedene veröffentlichte Vorschläge, um das obige Problem zu lösen. Beispielsweise wird in der GB-PS Nr. 1 368 599 eine anscheinend effizientere Alternative zur Verringerung der Geweberauhheit von baumwollhaltigen Geweben beschrieben, welche Alternative die Behandlung des Gewebes mit Cellulase umfaßt. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß auch diese Behandlung immer in einem separaten Gang, beispielsweise beim Vorwaschen oder beim Voreinweichen ausgeführt wird. Dies wird detailliert im Folgenden dargelegt werden. In der Druckschrift wird noch angegeben, daß baumwollhaltige Textilien, die mit Cellulase behandelt worden sind, ihre Weichheit auch nach mehrmaligen Waschen beibehalten. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß das cellulasehaltige Mittel kommerziell nicht erhältlich ist, obwohl die genannte Alternative schon 1972 (in der BE-Patentschrift Nr. 773 280, einem Äquivalent zur GB-PS Nr. 1 368 599) veröffentlicht worden war. Daher muß die Lehre der GB-PS Nr. 1 368 599 (oder der BE-Patentschrift 773 280) eher als eine theoretische Möglichkeit denn als eine realistische, gewerlich anwendbare Erfindung, welche kommerzialisiert werden sollte, bezeichnet werden.

Es muß auch darauf hingewiesen werden, daß von Bakterien stammende Cellulasen gewöhnlich sehr teuer sind, da die Ausbeute davon normalerweise sehr klein ist. Vom kommerziellen Standpunkt aus sind jedoch von Pilzen stammende Cellulasen die vielversprechendsten Cellulasen. Diese können nämlich in eher hohen Ausbeuten erhalten werden. Beispielsweise wird auf Seite 2, Zeilen 84 bis 90 der GB-PS Nr. 1 368 599 ausgeführt: "Viele Varianten der von Fungi stammenden Cellulasen haben ein pH-Optimum von ungefähr 5. Oberhalb pH 7 ist ihre Aktivität stark herabgesetzt und die cellulytischen Enzyme der Fungi sollten gemäß der vorliegenden Erfindung in einem sauren Medium eingesetzt werden." Dies bedeutet, daß der Waschvorgang, welcher normalerweise bei alkalischem pH ausgeführt wird, nicht gleichzeitig mit der oben genannten Cellulasebehandlung ausgeführt werden kann. Die Cellulasebehandlung wird in einem ersten Gang als saures Vorwaschen oder Voreinweichen ausgeführt und anschließend wird der Hauptwaschgang in einem zweiten Schritt in alkalischem Medium ausgeführt. Soweit hier bekannt ist, besteht keine Veröffentlichung bezüglich einer Methode zum Waschen und Weichmachen in einem einzigen Schritt, die praktisch anwendbar wäre.

Daraus ist ersichtlich, daß die obige bekannte Cellulasebehandlung bei einem sauren pH vor dem Hauptwaschgang ausgeführt werden muß und damit auch ein Zwischenpülen zwischen der sauren Cellulasebehandlung und dem Hauptwaschgang nötig ist, außer man setzt nach der sauren Cellulasebehandlung einen Überschuß an Alkali zur Neutralisation der Säure ein. Dieser Überschuß an Alkali kann z. B. dem Hauptwaschmittel zugesetzt werden.

Schließlich wäre, falls bei der Cellulasebehandlung schon Waschmittel zugesetzt würden, deren Reinigungskraft bei den niederen pH-Werten in der Cellulasebehandlungsflüssigkeit normalerweise eher gering.

Es besteht daher der dringende Bedarf an einem Hauptwaschmittel, das eine relativ billige Cellulase mit hoher Aktivität bei denjenigen pH-Werten enthält, welche normalerweise in den Hauptwaschgängen vorliegen.

Die bekannten Methoden weisen nicht auf irgendwelche billigen Cellulasen hin, welche bei den genannten pH-Werten annehmbar hohe Cellulaseaktivitäten aufweisen. Dies trotz der Tatsache, daß eine solche Cellulase einen hohen kommerziellen Wert darstellt, falls der genannte Bedarf erfüllt werden könnte.

Es ist nun überraschenderweise gefunden worden, daß eine spezielle, von Fungi stammende Cellulase, nämlich die Pilzcellulase, die von Humicola insolens (*Humicola grisea* var. *thermoidea*) gebildet wird, eine hohe Cellulaseaktivität bei denjenigen pH-Werten aufweist, welche normalerweise bei Hauptwaschgängen vorliegen. Diese Tatsache steht im Gegensatz zu den Wirkungen, welche aufgrund der bekannten, einschlägigen Vorveröffentlichungen zu erwarten waren. Die genannten Vorveröffentlichungen sind exemplifiziert durch den oben zitierten Absatz aus der GB-PS Nr. 1 368 599.

Dementsprechend ist das erfundungsgemäße Hauptwaschmittel dadurch gekennzeichnet, daß es einen Weichmacher enthält, dessen wesentliche Komponente eine von einem Stamm von *Humicola insolens* (*Humicola grisea* var. *thermoidea*) produzierte Pilzcellulase ist.

Es muß darauf hingewiesen werden, daß die genannte Pilzcellulase aus *Humicola insolens* sowohl von regulären Stämmen von *Humicola insolens* wie auch von Mutanten und Varianten von *Humicola insolens*

stammen können.

Durch die Verwendung des Textilweichmachers für ein Hauptwaschmittel gemäß dieser Erfindung ist es zum ersten Mal möglich, im Hauptwaschgang eine Reduktion der Textilrauhheit in einer Operation und zu einem vernünftigen Preis auszuführen. Die Reduzierung der Textilrauhheit geschieht im Hauptwaschgang ohne jede Vorwäsche oder Vorbehandlung der Textilien.

In Agric. Biol. Chem. 44 (3), 481-487 (1980) und 44 (8), 1721-1728 (1980) wird beschrieben, daß *Humicola insolens* ein cellulaseproduzierender thermophiler Pilz ist. Ebenso wird angegeben, daß der optimale pH der Cellulasen, die durch *Humicola insolens* produziert werden, 5,3 und 5,0 ist. Diese Cellulase müßte daher zu denjenigen Kategorie von Cellulasen gezählt werden, welche weiter oben im Zusammenhang mit der GB-PS Nr. 1 368 599 erwähnt worden sind und daher vollständig unbrauchbar sind im Rahmen dieser Erfindung. Überraschend ist aber dementgegen gefunden worden, daß *Humicola insolens* eine Cellulase produziert, welche die Ziele dieser Erfindung erfüllt.

Humicola insolens fällt in die Gruppe der thermophilen *Humicola*, welche Gruppe sowohl *Humicola insolens* wie auch *Humicola var. thermoidea* umfaßt. Die taxonomische Unterscheidung zwischen den beiden Stämmen ist anscheinend sehr zweifelhaft.

Die Aktivität der regulären C_x-Cellulase wird anhand der Tatsache festgestellt, daß Cellulase Carboxymethylcellulose zu reduzierenden Carbohydraten hydrolysiert. Die reduzierende Wirkung der letzteren wird anhand der Ferricyanidreaktion gemäß Hoffmann, W. S., Journal Biological Chemistry 120, 51 (1937) kolorimetrisch bestimmt.

Die Aktivität der regulären C_x-Cellulase wird auch im Zusammenhang zur vorgelegten Carboxymethylcellulose (CMC Hercules, 4 M6F) bestimmt.

Die Standardbestimmungen dazu sind die folgenden: pH 9,50; Pufferlösung 0,1 M Tris(hydroxymethyl)aminomethan ("tris"); Substrat 4 g CMC/l der oben angegebenen Pufferlösung; Inkubationstemperatur 50 °C und Inkubationszeit 20 Min.

Eine Aktivitätseinheit der regulären C_x-Cellulase (im folgenden als reguläre C_x-Einheit bezeichnet) ist die Menge an Cellulase, welche unter den oben angegebenen Standardbedingungen diejenige Menge an reduzierendem Zucker bildet, welche äquivalent ist zu 1 µmol Glukose/min.

In einer bevorzugten Ausführungsform gemäß der Erfindung wird die Pilzcellulase vom *Humicola*-Stamm DSM 1800 erhalten. Es ist gefunden worden, daß dieser Stamm eine alkalische Cellulase mit hoher C_x-Aktivität bei alkalischen pH-Werten bildet. Dieser neue *Humicola*-Stamm wurde durch das Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, als *Humicola insolens* identifiziert. Der neue Stamm wurde am 14. April 1980 bei der deutschen Kollektion von Mikroorganismen (DSM, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen) in Göttingen, Deutschland, unter der DSM-Nummer 1800 hinterlegt.

Im folgenden werden die morphologischen und physiologischen Eigenschaften des oben angegebenen neuen *Humicola*-Stamms DSM 1800 beschrieben.

Oberseite:	kurz, Mycelium zuerst weich, später dunkelgrau mit weißen Flecken; Hyphae farblos, glatt, unterteilt, ungefähr 2,8 µm Durchmesser; farblose Wassertropfen gelegentlich anwesend.
Unterseite:	gelblich, später braun bis dunkelgrau werdend.
Aleuriosporen:	glatt, braun, einzeln, terminal auf einzelnen oder multicellularen Conidiophoren, normalerweise globos 12,6 - 16,8 µm oder auch subglobos 7 x 11,2 - 14 x 16,8 µm im Durchmesser. Apiculus vorhanden.
Chlamydosporen:	einzelne oder in Ketten; glatt braun, 11,2 - 16,8 µm.
Phialoconidia:	abwesend.
Temperaturgrenzen:	kein Wuchs bei 26 °C; guter Wuchs von 37 - 50 °C. Kolonien von 8 cm im Durchmesser bei 37 °C während fünf Tagen.

Die obigen Werte wurden bestimmt nach fünftätigem Wuchs bei 37 °C auf YPSS Agar mit der folgenden Nährlösung:

Hefeextrakt Difco	4,0 g
K ₂ HPO ₄	1,0 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5 g
lösliche Stärke	15,0 g
destilliertes Wasser	1000 ml
Agar	15,0 g

Es ist ebenfalls erstaunlicherweise gefunden worden, daß das Cellulaseprodukt, das vom *Humicola insolens*-Stamm DSM 1800 erhalten wird, neben dem Textilerweichungseffekt noch eine starke Schmutzlöser- und

Rückschmutzverhindererwirkung zeigt.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird der erfindungsgemäß eingesetzte Weichmacher bezüglich derjenigen Cellulasefraktion angereichert, die bei pH zwischen 6,5 und 7,5 nicht an einen Anionentauscher gebunden wird.

Wie weiter unten im Detail gezeigt werden wird (Beispiel 6) wurde gefunden, daß diejenige Cellulasefraktion, welche bei pH-Werten zwischen 6,5 und 7,6 nicht an Anionentauscher gebunden wird (diese Fraktion wird im folgenden mit ACX I-Fraktion bezeichnet), die signifikanteste Wirkung bezüglich der Herabsetzung der Textilrauhheit zeigt. Es ist ebenfalls gefunden worden, daß die Temperaturstabilität der AC_xI-Fraktion besser ist als die Temperaturstabilität der anderen Fraktionen der Cellulase von *Humicola insolens*. Ebenso ist die Temperaturstabilität der AC_xI-Fraktion besser als die Temperaturstabilität der sauren Pilzcellulase gemäß der oben zitierten GB-Patentschrift Nr. 1 368 559.

Um den Gehalt an AC_xI-Fraktion zu bestimmen, kann die Aktivität der modifizierten C_x-Cellulase nach der folgenden Methode bestimmt werden. Eine Phosphatpufferlösung A wird vorbereitet, indem 26,52 g Natrium-dihydroxyphosphatdihydrat in 1000 ml entionisiertem Wasser gelöst werden; die Molarität von A beträgt also 0,17. 100 ml A werden nun mit ungefähr 800 ml entionisiertem Wasser gemischt und der pH der Lösung wird auf 7,0 eingestellt. Das Gesamtvolumen der verdünnten Pufferlösung wird nun auf 1000 ml gebracht, und diese neue Pufferlösung, im folgenden Pufferlösung B genannt, weist nun eine Molarität von 0,017 auf. Nun wird eine Kolonne mit 1 g eines Anionentauschers BEAE-Sepharose Cl-6B® beladen und mit B äquilibriert. Das Enzym wird nun in B gelöst und 25 ml der so hergestellten Enzymlösung über die Kolonne gegeben. Die C_x-Aktivität der Enzymlösung nach dem Durchgang durch die Kolonne wird gleich bestimmt, wie weiter oben die Aktivität der regulären C_x-Cellulase. Diese C_x-Aktivität wird modifizierte C_x-Aktivität genannt und ist kleiner als die reguläre C_x-Aktivität, wenn ein Teil der C_x-Aktivität auf dem Anionenaustauscher unter den genannten Bedingungen adsorbiert wird.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung zeigt die Pilzcellulase ein Verhältnis C_x modifiziert zu C_x regulär von mindestens 0,6, bevorzugterweise von mindestens 0,8. Es ist gefunden worden, daß ein erfindungsgemäß als Bestandteil eines Hauptwaschmittels eingesetzter Textilweichmacher, in dem die AC_xI-Fraktion im oben genannten Verhältnis angereichert ist, eine außerordentlich gute Wirkung bezüglich der Verminderung der Rauhheit von Geweben zeigt.

In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäß eingesetzten Textilweichmachers wird die Pilzcellulase in Form eines nichtstaubenden Granulates beigestellt. Es ist wichtig, daß das Cellulasepräparat einen niederen Staubanteil aufweist. Mit hohen Staubanteilen können Komplikationen sowohl bei der Vermischung des genannten Cellulasepräparates mit dem Waschmittel wie auch später bei der Anwendung des cellulasehaltigen Waschmittels auftreten. Ein granulatförmiges Cellulasepräparat kann mittels verschiedener Methoden gewonnen werden; beispielsweise mittels einer "Marumerizers", wie er in den GB-PS Nrn. 1 362 365 und 1 361 387 beschrieben ist oder mittels einer Granuliermaschine, wie sie in Aufbereitungstechnik Nr. 3, 1970, Seiten 147 bis 153 und 5/1970, Seiten 262 bis 278 beschrieben ist. Das Präparat kann auch mittels des Verfahrens gemäß der BE-Patentschrift 760 135 erhalten werden. In allen Fällen muß aber das erhaltene Granulat minimale Verstäubungseigenschaften aufweisen. "Marumerizer" ist eine Handelsmarke.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäß eingesetzten Textilweichmachers wird das Cellulasegranulat mit einem Weißfärbmittel, bevorzugterweise TiO₂, überzogen. Das Weißfärbemittel wird in Kombination mit einem Staubbindemittel aufgebracht. Dadurch wird ein gutaussehendes Cellulasegranulat erhalten, das ein Minimum an Verstäubungseigenschaften aufweist.

In einer weiteren, bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäß eingesetzten Textilweichmachers wird das Mittel als Flüssigkeit beigestellt, in welcher die Pilzcellulase als Konzentrat, suspendiert in einem nichtionischen oberflächenaktiven Stoff vorliegt. Das Konzentrat wird auf Basis einer Fermentationsbrühe hergestellt. Wie vorher schon angegeben ist es wichtig, daß das Cellulasepräparat einen geringen Staubanteil aufweist. Da gemäß dieser Ausführungsform der Textilweichmacher als Flüssigkeit vorliegt, beträgt der Staubanteil Null. Die oben genannten Schwierigkeiten fallen also hier vollständig weg.

Bevorzugterweise enthält der nicht ionische oberflächenaktive Stoff, in dem der erfindungsgemäß eingesetzte Textilweichmacher suspendiert ist, ein Verdickungsmittel. Dadurch wird die Sedimentation der Cellulase normalerweise verhindert. Als Verdickungsmittel kann beispielsweise feinverteiltes Siliciumdioxyd verwendet werden, das in Hochtemperaturprozessen gewonnen wird. Falls solches Siliciumdioxyd eingesetzt wird, beträgt der Anteil des genannten Verdickungsmittels zwischen 0,5 bis 10 Gew.-%, bevorzugterweise zwischen 1 und 5 Gew.-%. In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäß eingesetzten Textilweichmachers ist das Mittel eine Flüssigkeit und die Pilzcellulase wird als Cellulasekonzentrat in einem wäßrigen Medium gelöst. Dieses Medium enthält bevorzugterweise einen Stabilisator. Beispiele solcher Stabilisatoren sind all diejenigen Mittel, welche sowohl die Sedimentation verhindern wie auch zu keinem Verlust von enzymatischer Aktivität führen.

Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Hauptwaschmittel beigestellt, das übliche Waschmittel-

bestandteile und eine die Rauhheit von Textilien herabsetzende Menge des oben angegebenen Textilweichmachers enthält, wobei vorzugsweise der pH der Lösung eines Gramms des genannten Hauptwaschmittels in 1 l Wasser mit einer - vor der Zugabe des Hauptwaschmittels - Härte von 10° dH, im Bereich von 7 - 10, bevorzugterweise im Bereich von 7,5 - 9,5 liegt.

5 Unter Hauptwaschmittel wird hier eine Waschmittelzusammensetzung verstanden, welche normalerweise, aber nicht notwendigerweise, zur Ausführung der Wäsche in einem Gang eingesetzt wird. Die genannte Wäsche soll nicht von Vorbehandlungen oder Nachspülungen im Sinne von Waschaktivitäten begleitet sein. Der Vorteil beim Einsatz des erfundungsgemäßen Hauptwaschmittels tritt vor allem dann zutage, wenn das erfundungsgemäße Hauptwaschmittel zur Wäsche in einem Gang ohne Vor- bzw. Nachbehandlung eingesetzt wird.

10 Die Waschmittelkomponenten im erfundungsgemäßen Hauptwaschmittel sind nicht kritisch bezüglich der Erfahrung; die einzige Bedingung für die genannten Komponenten stellt ihre Kompatibilität mit der Pilzcellulase dar.

Daher können die genannten Komponenten und ihre Gehalte beispielsweise die folgenden sein:

15 1. Oberflächenaktive Stoffe, speziell anionische oder nicht ionische oberflächenaktive Stoffe, in einer totalen Menge von 1 bis 100 Gew.-%, typischerweise von 5 bis 45 Gew.-%. Typische anionische oberflächenaktive Stoffe sind lineare Alkylarylsulphonate ("LAS") und α -Olefinsulphonate ("AOS"). Typische nicht ionische oberflächenaktive Stoffe sind Alkylphenyläthoxylate und Fettalkoholäthoxylate.

20 2. Builders: speziell alkalische Builders und Enthärter in einer Gesamtmenge 5 bis 80 Gew.-%, typischerweise in einer Menge von 25 bis 75 Gew.-%. Typische Builders sind Natriumtripolyphosphat ("STPP"), Natriumaluminiumsilicate (Zeolithe), Natriumsilicate und Natriumcarbonate.

25 3. Bleichmittel, speziell Peroxide, in einer totalen Menge von 0 bis 40 Gew.-%, typischerweise entweder 0 oder 15 bis 30 Gew.-%. Typische Bleichmittel sind Natriumperborat und Natriumpercarbonat.

30 4. Weitere Bestandteile, vor allem Enzyme, optische Aufheller, Geruchsstoffe, Farbstoffe, Schaummodifikatoren, Stabilisatoren, Antiwiederablagerungsmittel, bevorzugterweise nicht CMC, da diese zumindest zu einem gewissen Grad durch die Cellulase zersetzt wird, alle diese genannten weiteren Zusätze in Anteilen von 0 bis 10 Gew.-%, typischerweise in Anteilen von 0,1 bis 5 Gew.-%.

5. Füllstoffe, speziell Natriumsulphat und Wasser in einer solchen Menge, um die Waschmittelzusammensetzung auf 100 % zu bringen.

35 In der Broschüre "Novo Enzymes" für die Waschmittelindustrie (B 157a-GB 2000, Februar 1977) werden andere, allgemeine Beispiele für Waschmittelzusammensetzungen angegeben, die zusammen mit dem Cellulasepräparat verwendet werden können. Diese Zusammensetzungen sind charakterisiert entweder durch spezifische Verbindungen oder Kategorien von Verbindungen und durch die entsprechenden Gehalte bzw. Anteilsbereiche.

40 Auf Seite 5 der DK-Patentanmeldung Nr. 5691/78 vom 12. Dezember 1978 entsprechend der DE-OS 2 901 339 werden ebenfalls Waschmittelzusammensetzungen spezifiziert, die zusammen mit dem Cellulasepräparat verwendet werden können.

In einer bevorzugten Ausführungsform des Hauptwaschmittels gemäß dieser Erfindung liegt der Textilweichmacher in einer Menge vor, die 2,5 bis 100 regulären C_x -Einheiten/g Hauptwaschmittel oder entsprechend 45 1,5 bis 60 modifizierten C_x -Einheiten/g Hauptwaschmittel entspricht. Die bevorzugten Bereiche der oben genannten Zusammensetzung sind 5 bis 50 reguläre C_x -Einheiten/g Hauptwaschmittel oder 3 bis 30 modifizierte C_x -Einheiten/g Hauptwaschmittel. In dieser Zusammensetzung wird ein befriedigender Effekt bezüglich Reduzierung der Rauhheit erreicht, wobei zugleich ein Überschuß an Cellulase (welcher das Hauptwaschmittel unökonomisch werden ließe) verhindert werden kann.

50 In einer bevorzugten Ausführungsform des erfundungsgemäßen Hauptwaschmittels enthält das Mittel weiter eine aus Bakterien gewonnene Proteinase, bevorzugterweise eine Proteinase von *Bacillus licheniformis*, speziell ALCALASE. Überraschenderweise wurde gefunden, daß die Waschmittelzusätze Cellulase und Proteinase kompatibel sind und daß sie beide einen genügenden Effekt aufweisen, und zwar auch bei den pH-Werten des Hauptwaschvorganges. Die gedanklich mögliche Zersetzung der Cellulase durch das proteolytische Enzym tritt also nicht ein. Die kombinierten Waschmittelzusätze führen beide zu verbesserten Reinigungseigenschaften und zu einem verbesserten Effekt bezüglich Reduzierung der Rauhheit, wenn sie dem Waschmittel zugesetzt werden. ALCALASE ist eine Handelsmarke für ein Enzympräparat, das kommerziell erhältlich ist. Falls ALCALASE und ein Granulat von Cellulase verwendet wird, kann der gemischte enzymatische Zusatz entweder durch Vermischen der vorgängig granulierten beiden Enzyme oder durch Vermischen eines Konzentrats von ALCALASE mit einem Konzentrat von Cellulase und anschließend Granulierung dieses Konzentratgemisches

erhalten werden.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform des Hauptwaschmittels gemäß der Erfindung stellt ein Perborat eines der Waschmittelbestandteile dar. Unter bestimmten Bedingungen verbessert das Perborat den Wascheffekt und es wurde überraschenderweise festgestellt, daß das Perborat und die Cellulase im Hauptwaschmittel gemäß der Erfindung kompatibel sind.

Bei einer bevorzugten Anwendungsweise des Hauptwaschmittels gemäß dieser Erfindung wird die Pilzcellulase in der Waschlauge in einer solchen Konzentration eingesetzt, die 10 bis 100 regulären C_x-Einheiten pro Liter Waschlauge oder 6 bis 60 modifizierten C_x-Einheiten pro Liter Waschlauge entspricht. Die bevorzugten Bereiche der oben genannten Zusammensetzung sind 20 bis 50 reguläre C_x-Einheiten pro Liter Waschlauge oder 12 bis 30 modifizierte C_x-Einheiten pro Liter Waschlauge.

Bevorzugt liegt dabei der pH der Waschlauge zwischen 7 und 10, bevorzugtersweise zwischen 7,5 und 9,5. In diesem Bereich zeigt die Cellulase ihre volle Aktivität.

Vorzugsweise wird weiterhin ein signifikanter Teil des Hauptwaschganges bei Temperatur unterhalb 70 °C, insbesondere unterhalb 60 °C ausgeführt.

Die folgenden Beispiele illustrieren die Herstellung des im einen Bestandteil des erfindungsgemäßen Hauptwaschmittels bildenden Textilweichmacher vorliegenden Enzyms durch Fermentation (Beispiel 1, 6 und 8), das erfindungsgemäße Hauptwaschmittel und seine bevorzugte Anwendung (Beispiele 2 - 8).

Beispiel 1

Der Stamm DSM 1800 wurde bei 37 °C auf einem Agar-Substrat der folgenden Zusammensetzung kultiviert:

Hefeextrakt Difco	4	g
K ₂ HPO ₄	1	g
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,5	g
Glucose	15	g
destilliertes Wasser	1000	g
Agar	15	g

Eine erste Gruppe von 500 ml Schwenkflaschen wurde vorbereitet; diese Schwenkflaschen enthielten je 100 ml eines Substrates der folgenden Zusammensetzung:

Maislaugenflüssigkeit	2,4	%
Glucose	2,4	%
CaCO ₃	0,5	%
Sojaöl	0,5	%

Der pH wurde vor der Zugabe des CaCO₃ durch Zugabe von 4n NaOH auf 5,5 eingestellt und die Sterilisation wurde durch Erwärmen der Lösung auf 121 °C während 20 min erreicht.

Nach siebentägigem Wuchs auf dem Agar-Substrat wurden die Sporen in die 500 ml Schwenkflaschen der ersten Gruppe eingefüllt.

Eine zweite Gruppe von 500 ml Schwenkflaschen wurde vorbereitet; diese enthielten je 100 ml eines Substrates der folgenden Zusammensetzung:

NH ₄ NO ₃	0,25	%
KH ₂ PO ₄	0,56	%
K ₂ HPO ₄	0,44	%
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,075	%
Cellulose	2,0	%
CaCO ₃	0,25	%
Pluronic®	0,01	%

Der pH wurde vor Zugabe des CaCO₃ mittels Zugabe von 4n NaOH auf 6,8 bis 7,0 eingestellt, und durch Behandlung der Lösung im Autoklav bei 121 °C während 20 min sterilisiert.

Nach zweimal 24-stündigem Wuchs bei 37 °C in den Schwenkflaschen der ersten Gruppe wurden die Schwenkflaschen der zweiten Gruppe mit je 6 % aus den Schwenkflaschen der ersten Gruppe beimpft.

Nach 140-stündiger Fermentation in den Schwenkflaschen der zweiten Gruppe bei 37 °C betrug die Cellulaseaktivität 4,2 reguläre C_x-Einheiten pro ml Kulturbrühe. Nun wurde die Kulturbrühe auf folgende Weise

gereinigt: die Kulturbrühe wurde über Diatomeenerde filtriert (Hyflo-supercell), das Filtrat wurde durch Ultrafiltration konzentriert und der Rückstand wurde gefriergetrocknet. Das gefriergetrocknete Pulver A zeigte eine C_X-Aktivität von 745 regulären C_X-Einheiten/g.

5 Zwei weitere Versuche wurden in genau der gleichen Weise wie oben beschrieben durchgeführt. Nach der Fermentation in der zweiten Gruppe von Schwenkflaschen während 140 Stunden betrug die reguläre C_X-Cellulase-Aktivität bei den Versuchen 2,2 bzw. 6,0 C_X-Einheiten pro ml Kulturbrühe. Die entsprechenden Werte für die gefriergetrockneten Pulver waren 558 reguläre C_X (Pulver B) und 518 C_X-Einheiten pro g (Pulver C).

10 Beispiel 2

In diesem Beispiel wurde das Cellulasepräparat (Pulver A) aus dem Beispiel 1 hinsichtlich seiner Wirkung zur Verminderung von Rauhheiten bei gewaschenen Textilien untersucht.

15 Der Waschversuch wurde als Einstufenwäsche mit einer vollautomatischen MIELE Trommelwaschmaschine durchgeführt. Das ausgeführte Waschprogramm war das Programm "Kochwäsche 95 °C", das in der technischen Broschüre T-52001 für die MIELE Waschmaschine 421 S beschrieben ist. MIELE ist eine Handelsmarke. Das Programm "Kochwäsche 95 °C" arbeitet nach ungefähr dem folgenden Temperatur-Zeitprofil:

20	Zeit (min)	0	6	12	18	24	30	36	42	45	
	Temp. (°C)	16	27	43	61	76	85	85	82	45	Spülen mit kaltem Wasser

25 Die Waschlauge hatte die folgende Zusammensetzung: ungefähr 16 l Wasser mit einer Härte von etwa 20° dH, die 5 g/l eines handelsüblichen pulverförmigen Waschmittels mit den folgenden Hauptbestandteilen enthielten. (Die Angaben beziehen sich auf das trockene Waschpulver und sind in Gewichtsprozent angegeben.)

30 21 % oberflächenaktiver Stoffe (7 % LAS, 11 % Seife, 3 % Nonylphenyläthoxylat)
 39 % Builders (32 % STPP, 4 % Natriumsilicat und 3 % Natriumcarbonat)
 26 % Natriumperborat
 13 % Natriumsulfat.

35 Dieser Waschlauge wurde nun das proteolytisch wirkende Enzym in einer speziellen Verarbeitungsform zugesetzt, und zwar so, daß die entsprechende Konzentration 0,06 Anson-Einheiten pro Liter Lauge betrug. Die proteolytische Aktivität des Enzyms war gemäß der modifizierten Anson-Methode bestimmt worden, die in Novo Analytical Method No. AF 4.3/5-GB beschrieben ist (die Original Anson-Methode ist im Journal Gen. Physiol., 22, 79 - 89 (1939) beschrieben).

Zur derart präparierten Waschlauge wurden entweder nichts oder das Cellulasepräparat aus Beispiel 1 zugegeben, und zwar in einer Konzentration, welche ungefähr 40 regulärer C_X-Einheiten pro Liter Lauge entspricht.

40 Die Testmaterialien für die beiden folgenden Parallelversuche waren:

1. 12 Stücke eines weißen Samtgewebes aus Baumwolle mit den Maßen 42 cm x 60 cm, und
2. 12 Stücke eines weißen Interlockgewebes aus Baumwolle mit den gleichen Dimensionen.

45 Zu den obigen Geweben wurde soviel saubere Baumwollwäsche gegeben, daß für beide Versuche je 3 kg Wäsche bereitlagen. Das Testmaterial wurde vorerst 20 Mal gewaschen, und zwar mit einem handelsüblichen, perborathaltigen Waschmittel bei hohen Temperaturen.

Nach diesen 20 Wäschchen war das Material bereit für die Versuche mit den Waschmitteln mit bzw. ohne Cellulasezusatz.

50 Das Testmaterial wurde nun 6 Mal gewaschen, wobei es zwischen den Waschgängen jeweils über Nacht getrocknet wurde. Nach dem letzten Waschgang wurden alle Testgewebe (12 x 2 x 3) im gleichen Raum getrocknet.

55 Die Auswertung wurde von einer Gruppe von 20 Personen vorgenommen. Ohne Kenntnis der verschiedenen Testgewebe wurden die ersten 10 Personen aus der Gruppe gebeten, sechs Auswertungen vorzunehmen (d. h. 3 für die weißen Samtgewebe und 3 für die weißen Baumwollinterlockgewebe). Aufgrund der genannten Auswertungen war es dann möglich, aus den folgenden drei Feststellungen die richtige Feststellung auszuwählen:

1. Das Gewebe, das mit Cellulase behandelt ist, ist weicher als das Gewebe, das nicht mit Cellulase behandelt ist;
2. das Gewebe, das mit Cellulase behandelt worden ist, hat den gleichen Grad an Weichheit wie das Gewebe, das nicht mit Cellulase behandelt worden ist,

3. das Gewebe, das mit Cellulase behandelt worden ist, ist rauer als das Gewebe, das nicht mit Cellulase behandelt worden ist.

5 Drei Teststücke wurden aus den zwölf weißen Samtstücken aus Baumwolle ausgewählt, welche mit Cellulase behandelt worden waren. Ebenso wurden drei Stücke aus den zwölf Stücken weißer Samtstücke aus Baumwolle, die nicht mit Cellulase behandelt worden waren, ausgewählt. Diese sechs ausgewählten Stücke wurden nun in drei Zweiergruppen aufgeteilt und jede der zehn ersten Personen aus der Gruppe wurde gebeten, alle drei Paare separat zuzuordnen. Ähnliche Auswertungen wurden mit dem weißen Interlock-Baumwollgewebe ausgeführt. Die restlichen zehn Personen aus der Gruppe wurden gebeten, die restlichen Teststücke auf die gleiche Art und Weise zuordnen.

10 Jede Person in der Gruppe machte drei Zuordnungen nur bezüglich des weißen Samtgewebes. Dies entspricht einer Gesamtzahl/Total von 60 Zuordnungen durch alle Personen in der Gruppe für das genannte Testmaterial.

15 Das weiße Baumwoll-Interlockgewebe wurde auf die gleiche Art und Weise ausgewertet; auch hier ergaben sich also 60 Zuordnungen.

1 Die Resultate der oben beschriebenen Zuordnungen sind in der folgenden Tabelle 1 zusammengestellt. Die Tabelle 1 zeigt auch den pH der Waschlauge beim Start des Waschganges, 10 min. später und 20 min. später ($t = 0$, $t = 10$ und $t = 20$ min.).

Beispiel 3

20 Beispiel 2 wurde wiederholt. Die Resultate sind ebenfalls in der folgenden Tabelle 1 zusammengestellt.

Beispiel 4

25 In diesem Beispiel wurde das Cellulasepräparat (Pulver B) aus dem Beispiel 1 als Textilweichmacher verwendet. Das Beispiel 2 wurde wiederholt, aber mit den folgenden Änderungen: die Waschmaschine wurde mit dem Testmaterial wie in Beispiel 2 beschickt, worauf die Maschine mit schmutzigem Baumwollgewebe aufgefüllt wurde, so daß im gesamten 3 kg Wäsche vorlagen. Die schmutzige Wäsche war Baumwollunterwäsche aus einem Militärlager. Die Resultate sind ebenfalls in der folgenden Tabelle 1 zusammengestellt.

Beispiel 5

30 In diesem Beispiel wurde das Cellulasepräparat (Pulver C) dem Beispiel 1 als Textilweichmacher verwendet. Der Versuch nach Beispiel 2 wurde wiederholt, aber mit den folgenden Änderungen: gewaschen wurde nach dem Programm "Feinwäsche 60 °C" aus der Broschüre T-52001. Dieses Programm arbeitet ungefähr nach dem folgenden Temperatur/Zeitprofil:

35	Zeit (min)	0	6	12	18	24	30	36	42	
	Temp. (°C)	16	24	35	47	57	55	54	42	Spülen mit kaltem Wasser

40 Die Waschlösung hatte ein Volumen von ungefähr 26 Liter. Der pH der Waschlauge wurde durch Zugabe von Zitronensäure leicht angepaßt. Die Resultate sind ebenfalls in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

	Beispiel	Testmaterial	Auswertung
50	Beispiel 2 pH bei $t = 0 : 10,0$ $t = 10 : 9,8$ $t = 20 : 9,7$	Samtgewebe	73 %: weicher mit Cellulase 2 %: kein Unterschied 25 %: rauer mit Cellulase
55		Baumwoll-Interlock-Gewebe	77 %: weicher mit Cellulase 8 %: kein Unterschied 15 %: rauer mit Cellulase

Tabelle 1 (Fortsetzung)

	Beispiel	Testmaterial	Auswertung
5 10 15	Beispiel 3 pH bei t = 0 : 9,9 t = 10 : 9,8 t = 20 : 9,6	Samtgewebe	68 %: weicher mit Cellulase 5 %: kein Unterschied 27 %: rauher mit Cellulase
		Baumwoll-Inter-lockgewebe	78 %: weicher mit Cellulase 2 %: kein Unterschied 20 %: rauher mit Cellulase
20 25	Beispiel 4 pH bei t = 0 : 9,8 t = 10 : 9,7 t = 20 : 9,6	Samtgewebe	84 %: weicher mit Cellulase 3 %: kein Unterschied 13 %: rauher mit Cellulase
		Baumwoll-Inter-lockgewebe	82 %: weicher mit Cellulase 3 %: kein Unterschied 13 %: rauher mit Cellulase
30 35	Beispiel 5 pH bei t = 0 : 8,9 t = 10 : 8,8 t = 30 : 8,9	Samtgewebe	93 %: weicher mit Cellulase 0 %: kein Unterschied 7 %: rauher mit Cellulase
		Baumwoll-Inter-lockgewebe	93 %: weicher mit Cellulase 2 %: kein Unterschied 3 %: rauher mit Cellulase

Beispiel 6

Der Stamm DSM 1800 wurde bei 37 °C auf einem Agar-Substrat kultiviert, der die gleiche Zusammensetzung hatte wie das Agar-Substrat im Beispiel 1.

40 300 l einer Inokulation oder eines Vorfermentierungssubstrates mit der folgenden Zusammensetzung wurden dann 45 min lang bei 121 °C sterilisiert:

Maislaugenflüssigkeit	2,4	%
Glucose	2,4	%
CaCO ₃	0,5	%
Sojaöl	0,4	%

(Vor der Zugabe des CaCO₃ war der pH mittels 4n NaOH auf 5,5 eingestellt worden.)

50 Nach vierzehntägigem Wuchs auf dem Agar-Substrat wurden die Sporen in 300 l eines sterilisierten Vorfermentationssubstrates gegeben. Sterile Luft wurde durch das Substrat geblasen und die Fermentation wurde 49 Stunden lang bei 37 °C unter einem Druck von 0,5 Atmosphären und einer Luftmenge von 300 Liter pro Minute ausgeführt.

Nun wurden 350 l des Hauptfermentationssubstrates der folgenden Zusammensetzung während 60 min lang durch Kochen bei 123 °C sterilisiert:

Maislaugenflüssigkeit	10	%
Cellulose	3	%
CaCO ₃	0,25	%
NH ₄ NO ₃	0,25	%
KH ₂ PO ₄	0,56	%

K_2HPO_4	0,44	%
$MgSO_4$	0,08	%
Pluronic® (Polyäther)	0,014	%

5 (Vor der Zugabe des $CaCO_3$ war der pH mittels 4N NaOH auf 6,8 bis 7 eingestellt worden).

Darauf wurden 35 l der Vorfermentationsbrühe in das so sterilisierte Hauptfermentationssubstrat gegeben. Sterile Luft wurde durch die Fermentationsbrühe geblasen, und zwar unter einem Druck von 0,5 Atmosphären und bei einer Menge von 300 Liter pro Minute. Der pH in der Brühe wurde unter 7,0 gehalten, was mittels Zugabe von KH_2PO_4 geschah. Die Fermentation bei 37 °C dauerte 136 Stunden. Nach dem Abschluß der Fermentation bei 37 °C dauerte 136 Stunden. Nach dem Abschluß der Fermentation wies die gewonnene Cellulase eine Aktivität von 29 regulärer C_x -Einheiten/ml auf.

Die Kulturbreihe wurde auf folgende Weise gereinigt.

Vorerst wurde die Kulturbreihe über Diatomeenerde filtriert (Hyflo-super-cell). Das Filtrat wurde durch Ultrafiltration konzentriert und der Rückstand (im folgenden Rückstand D) gefriergetrocknet. Das gefriergetrocknete Pulver D zeigte eine reguläre C_x -Aktivität von 1316 C_x -Einheiten/g und eine modifizierte C_x -Aktivität von 953 C_x -Einheiten/g.

Zwei weitere Fermentationen und Ultrafiltrationen wurden ausgeführt, und zwar in der gleichen Art und Weise wie oben beschrieben. Die entsprechenden Rückstände werden mit E und F bezeichnet. Rückstand F wurde gefriergetrocknet und zeigte eine reguläre C_x -Aktivität von 743 Einheiten/g und eine modifizierte C_x -Aktivität von 580 Einheiten/g.

Das gefriergetrocknete Pulver D wurde durch anionische Austauschchromatographie in die verschiedenen Komponenten aufgeteilt. Dazu wurden 100 g des genannten Pulvers in 2000 ml destilliertem Wasser bei 4 °C gelöst. Der pH der Lösung wurde durch Zugabe von 1 M "tris" auf 7,5 eingestellt. Die Lösung wurde nun über eine 400 ml Ionentauscher-Säule mit 100 g DEAE-Sephadex A-50 gegeben. Die Figur 1 zeigt die Adsorption OD280 bei 280 nm der verschiedenen Fraktionen aus der Kolonne. Die Proteine, die in der Kolonnenfüllung adsorbiert worden waren, wurden dann mit NaCl Gradientenlösungen eluiert. Die NaCl-Konzentration wurde gemessen und in Fig. 1 zusammen mit der Adsorption der verschiedenen Fraktionen aufgezeichnet.

Die proteinhaltigen Fraktionen wurden zusammengegeben. Dies ist durch die Klammern in Fig. 1 angedeutet. Die so erhaltenen Fraktionen Nr. 1 bis 5 wurden gefriergetrocknet.

Die gefriergetrockneten Lösungen waren charakterisiert durch ihren Gehalt an Protein, die Zusammensetzung der Proteine und die reguläre C_x -Aktivität; siehe dazu Tabelle 2. Der Isoelektrische Punkt der Proteine wurde mittels eines LKB Multiphorapparatus bestimmt.

35

Tabelle 2

	Proteine g	Gesamtzahl reguläre C_x -Einheiten ^x	pI-Bereich	Ausbeute	Ausbeute
				an Proteinen %	an C_x %
40	Ausgangs- material	53,0	131600	3,5 - 9,0	
45	Pool 1 ^x)	8,6	47400	6 - 9,0	16
	Pool 2	0,9	1000	4 - 6	2
	Pool 3	4,8	9500	4 - 5,5	9
	Pool 4	7,1	11000	3,5 - 5,5	13
50	Pool 5	17,7	18600	3,5 - 5	33
			Total	73	66

x) (= AC_x -I-Fraktion)

55 Pool 1 enthält alle alkalischen Komponenten, d. h. Proteine, die bei pH 6,5 bis 7,5 nicht an das anionische Austauschharz gebunden werden. Daher ist die Gesamtmenge an nicht modifizierter C_x -Cellulaseaktivität in Pool 1 vorhanden, der zugleich die gesamte cellolytische Aktivität bei pI über 6,0 enthält.

Um festzustellen, welcher der 5 Pools diejenige Fraktionen der Cellulase enthält, die beste Textilweichmachungswirkung zeigt, wurden die folgenden Versuche durchgeführt.

Ein Baumwollsamtgewebe wurde 20 Mal vorgewaschen, wie dies im Beispiel 2 beschrieben ist. Nach dieser Vorwaschung wurden daraus Stücke mit den Maßen 10 cm x 10 cm (ungefähr 4 g) herausgeschnitten und markiert.

Die Cellulasebehandlung wurde nun in einer Terg-O-Tometer-Laboratoriumswaschmaschine unter den folgenden Bedingungen ausgeführt:

Waschmittel und Dosierung wie in Beispiel 2, mit der Ausnahme der Cellulasedosierung.

10	pH-Wert beim Start:	ungefähr 9,5
	Temperatur:	50 °C
	Zeit:	30 min
	Wasserhärte:	20 + dH
15	Volumen pro Ansatz:	1200 ml
	Anzahl Gewebestücke	
	Ansatz:	10
	Cellulasedosierung:	siehe folgende Tabelle; in allen Fällen 100 mg des gefriergetrockneten Pools/l

20	Dosierung: mg Protein/l	Pool 1	Pool 2	Pool 3	Pool 4	Pool 5
		31	13	28	34	52
25	reguläre C _x -Einheiten/l	170	15	56	52	55
	modifizierte C _x -Einheiten/l	170	0	0	0	0

Die Auswertung wurde durch eine Gruppe von 10 Personen ausgeführt, wobei jeder Person verschiedene Sätze von Gewebe zur Beurteilung gegeben wurden. Jeder Satz von Gewebestücken bestand aus drei solcher Stücke und die Testperson wurde gebeten, die einzelnen Gewebestücke gemäß deren Härte zu beurteilen. Jeder Satz bestand aus zwei Stücken, welche mit einem der Mittel der oben genannten Pools gewaschen worden war und ein Teil diente als Vergleichsgewebe. 9 von 10 Personen fanden, daß die Gewebestücke, die mit dem Material aus Pool 1 gewaschen worden waren, weicher waren als dasjenige Gewebe, dem überhaupt kein solches Material zugesetzt worden war. Die Materialien aus den andern Pools zeigten keine signifikante Textilweichmacherwirkung.

Aus dem obigen kann geschlossen werden, daß die Fraktion 1 diejenige C_x-Aktivität enthält, welche die eigentliche Textilweichmacherwirkung ausmacht. Die C_x-Aktivitäten in den Fraktionen 3 bis 5 zeigen keine signifikante Gewebeweichmacherwirkungen bei Dosierungen, welche normalerweise solche Weichmacherwirkungen zur Folge haben.

Beispiel 7

Rückstand E aus Beispiel 6 wurde sprühgetrocknet, wodurch ein rohes Konzentrat erhalten wurde.

Dieses rohe Konzentrat wurde durch ein Sieb mit einer Sieboffnung von 0,5 mm gegeben. Erhalten wurde so ein pulverförmiges Konzentrat mit einem mittleren Durchmesser von 17,4 µm. Die Cellulaseaktivität dieses Konzentrats betrug 650 reguläre C_x-Einheiten/g.

Es wurde folgende Mischung zubereitet:

Konzentrat gemäß Beispiel 7 (oben)	2,5 kg
Cellulosepulver (Arbocel BC 200)	1,0 kg
TiO ₂	0,2 kg
NaCl (Teilchengröße < 0,2 mm)	6,1 kg

Die Mischung wurde in einem Mischer (Lödige FM 50/1MZ) bei einer Mischedrehzahl von 120 Umdr/min und einer Messerdrehzahl von 3000 Umdr/min gemischt. Zur so vorbereiteten Mischung wurden anschließend 1 kg einer 20%-igen wäßrigen Lösung von Polyvinylpyrrolidon (PVP K 30) gegeben, wobei die oben angegebenen Drehzahlen und Messerdrehzahl beibehalten wurden. Die Zugabe der wäßrigen Lösung geschah mittels einer Druckdüse und dauerte 1 min lang. Die feuchte Mischung wurde nun 3 min lang weiter im gleichen Mischer

AT 394 574 B

gerührt, wobei die Mischerdrehzahl 200 Umdr/min und die Messerdrehzahl 3000 Umdr/min betrug. Dann wurden zweimal weitere Mengen von Wasser zugegeben, und zwar 200 g und 100 g, beide Male gefolgt von einer Behandlung im Mischer während 3 min. Es wurde beobachtet, daß die Temperatur in der Mischmasse während der Granulierung von 25 auf 30 °C stieg. Das feuchte Granulat wurde in einer Fließbettanlage getrocknet und zwar auf einen Restwassergehalt von 1,6 %. "Lödige" und "Arbocel" sind Handelsmarken.

5 Die regulären C_x-Aktivitäten des getrockneten Granulats betragen

	berechnet	164 reguläre C _x -Einheiten/g
	gefunden	136 reguläre C _x -Einheiten/g
10	prozentualer Aktivitätsverlust	17 %.

Dieses Produkt lag nun als teilchenförmiges Mittel vor mit linsenförmigen Einzelteilchen. Im folgenden wird das Produkt mit Granulat E bezeichnet.

15 Granulat E wies die folgende Korngrößenverteilung auf:

	Korngröße in µm	% Teile
20	> 1180	15
	> 1000	28
	> 850	43
	> 707	62
25	> 600	76
	> 500	87
	> 420	94
	> 300	1,8

Mittlerer Durchmesser = 790 µm

30

Das Granulat E wurde auf die folgende Weise oberflächenbeschichtet: 4,0 kg Granulat E wurden in einen Mischer (Lödige, Typ M 20E) gegeben. Die Mischung wurde auf 65 °C erwärmt und dann mit 160 g geschmolzenem Polyäthylenglycol 4000 (Molekulargewicht 4000) versetzt. Die Mischung wurde nun eine Minute lang gerührt. Anschließend wurde das Granulat mit 360 g pulverförmigem TiO₂ und 90 g Magnesiumsilikat versetzt. Die Mischung wurde weiterhin 5 min lang gerührt, wobei wiederum 40 g Polyäthylenglycol 4000 auf die Mischung gegeben wurde. Nun wurde noch einmal eine Minute lang gerührt. Die Masse wurde nun abkühlen gelassen und anschließend 1,5 min lang bei 65 °C auf einem Fließbett staubfrei geblasen.

40

Die Aktivität des derart erhaltenen Granulats betrug:

	oberflächenbe-schichtetes Granulat	oberflächenbeschi-c- tete und staubfreige- blasenes Granulat	
45			
50	Aktivität, reguläre C- Einheiten/g	137	138

55 Das oben angegebene oberflächenbeschichtete Granulat und das oberflächenbeschichtete und staubfreigeblasene Granulat sowie das Granulat E sind typische Ausführungsformen des erfindungsgemäß als Zusatz für Waschmittel eingesetzten Textilweichmachers.

Ein Waschversuch wurde ausgeführt unter Verwendung des Granulates E, wie es im Beispiel 6 beschrieben ist. Die Änderungen waren:

60 Cellulasedosierung: 333, 667, 1000, 1333 und 1667 mg/l.

Die Auswertung wurde gleich ausgeführt wie im Beispiel 6, mit den folgenden Änderungen:

Jeder Satz von Gewebestücken bestand aus zwei solcher Stücke. Eines davon war mit nicht aktiverter Cellulase im Waschmittel gewaschen und das andere mit aktiver Cellulase im Waschmittel gewaschen worden. Das inaktivierte Cellulasepräparat wurde erhalten, indem 10 g Granulat E in 200 ml Wasser gelöst wurde.

5 Die Lösung wurde anschließend auf 90 °C erwärmt und auf dieser Temperatur 10 bis 15 Minuten gehalten. Im gesamten wurden 5 Sätze von Gewebeteilen ausgewertet und die Resultate der genannten Auswertungen sind in der folgenden Tabelle 3 zusammengestellt.

10

Tabelle 3

Auswertung der Gewebeweichheit (%)

15	Satz Nr.	Cellulasedosierung (mg/l)	Cellulase	Inaktivierte Cellulase
20 Auswertung: weichstes Gewebe (% der Aussagen der evaluierenden Personen):				
25	1	333	60 %	40 %
	2	667	70 %	30 %
	3	1000	70 %	30 %
	4	1333	70 %	30 %
	5	1667	90 %	10 %

30

Beispiel 8

In diesem Beispiel wurden unterschiedliche Stämme von *Humicola insolens* verglichen, beispielsweise CBS 14764 (identisch mit ATCC 22082); DSM 2069 und DSM 2068. Diese Stämme wurden gleich kultiviert wie im Beispiel 1, mit der Ausnahme, daß das Substrat für die zweite Gruppe von Schwenkflaschen neben den Bestandteilen laut Beispiel 1 zusätzlich 14 % Maislaugenflüssigkeit enthielt. Gefriergetrocknete Pulver wurden aus den Fermentationsbrühen hergestellt, wie dies im Beispiel 1 beschrieben ist. Die gefriergetrockneten Pulver wurden entsalzt, wieder aufgelöst und über einer mit Sephadex G 25 beschickten Säule nochmals entsalzt. Das Produkt wurde darauf wiederum gefriergetrocknet. Diese gefriergetrockneten Pulver zeigten je 1096, 480 und 690 reguläre C_x-Einheiten/g. Auch ein Teil des gefriergetrockneten Pulvers F aus Beispiel 6 (DSM 1800) wurde in diesem Beispiel verwendet.

40

Das gefriergetrocknete Material aus Fraktion 1 aus Beispiel 6 wurde durch Kationenaustausch über CM-Sepharose CL 6B weiter gereinigt. Dazu wurde eine solche Menge aus der Fraktion 1 in einer Essigsäurepufferlösung bei pH 5,0 aufgelöst, daß die Lösung 1,7 g Protein enthielt. Diese Lösung wurde nun über eine 1000 ml Säule mit dem angegebenen Kationenaustauscher gegeben. Das Protein wurde dabei adsorbiert. Eluiert wurde mit NaCl Gradientenlösungen und bei einer NaCl Konzentration von 250 mM wurde das reine CMC aktive AC_xI Protein eluiert. Das Molekulargewicht dieses Proteins wurde mittels SDS gel Elektrophorese zu 80'000 bestimmt. Mittels dieses Proteins wurde nun das Antiserum (Kaninchen) hergestellt. Das Antiserum wurde benutzt zur quantitativen Bestimmung des Gehaltes von AC_xI Protein durch immunologische Methoden, d. h. mittels der "rocket immunoelectrophoresis" wie sie durch B. Weeke in Scandinavian Journal Immun., 2 Suppl. 1, Seite 37 (1973) beschrieben ist.

50

Das erhaltene Elektrophoreseergebnis ist in Fig. 2 zusammengestellt. Die Elektrophorese wurde über Nacht in einer Trismaleat-Pufferlösung von pH 7 und bei einem Spannungsgradient von 1,0 Volt/cm durchgeführt.

55

In Fig. 2 entsprechen die Zone a dem DSM 2069-Produkt (3 mg/ml), die Zone b dem CBS 14764-Produkt (2mg/ml), die Zone c dem DSM 2068-Produkt (3 mg/ml) und die Zonen d₁ dem DSM 1800-Produkt (n mg/ml).

60

Die oben angegebenen Cellulasepräparate, nämlich DSM 1800, CBS 14764, DSM 2068 und DSM 2069 wurden in den folgenden Waschversuchen eingesetzt:

Vorerst wurde ein Baumwoll-Samtgewebe 20 mal vorgewaschen, wie dies im Beispiel 2 beschrieben ist. Anschließend wurden aus dem Gewebe Stücke der Maße 10 cm x 10 cm (ungefähr 4 g) ausgeschnitten und markiert.

AT 394 574 B

Die Cellulasebehandlung wurde in einer Terg-O-Tometer-Laboratoriumswaschmaschine ausgeführt, und zwar unter den folgenden Bedingungen:

5 Waschmittel und Dosierung wie im Beispiel 2;
mit Ausnahme der Cellulasedosierung.

pH bei Beginn des Waschganges: ungefähr 9,5
 Temperatur: 50 °C
 Zeit: 30 min
 10 Wasserhärte: 20° dH
 Volumen pro Ansatz: 1200 ml
 Anzahl der Stücke pro Ansatz: 10
 Cellulasedosierung: siehe folgende Tabelle

	Cellulasedosierung (mg/Liter)	keine	DSM 1800	CBS 14764	DSM 2068	DSM 2069
20	0		102	39	96	105
25	reguläre C _x -Einheiten/l		76	43	66	50

Das Cellulasepräparat aus DSM 1800 wurde in einer Dosierung von 76 regulärer C_x-Einheiten/l zugegeben. Die anderen Cellulasepräparate wurden in solchen Dosierungen zugegeben, daß die gleiche AC_xI-Proteinkonzentration in der Waschlauge erhalten wurden, wie beim 1800-Präparat. Die genannte Proteinkonzentration wurde immunologisch gemäß dem oben beschriebenen Verfahren bestimmt.

30 Die Cellulasebehandlungen wurden 6 Mal wiederholt. Nach jeder Behandlung wurden die Gewebestücke mit Leitungswasser gut gespült und über Nacht getrocknet.

35 Die Auswertung wurde nun wiederum durch eine Gruppe von 10 Personen durchgeführt. Jede Person erhielt vier verschiedene Sätze von Gewebestücken wobei jeder Satz aus drei Gewebestücken bestand. Die Personen wurden gebeten, die Gewebestücke nach Gewebeweichheiten zu klassifizieren. Das weichste Gewebe erhielt die Note 1, das nächstrauhere Note 2 usw. Die Zusammensetzung der verschiedenen, ausgewerteten Gewebesätze und die Resultate der Auswertung (ausgedrückt in Prozent) sind in der folgenden Tabelle 4 zusammengestellt.

40

Tabelle 4

Weichheitsauswertung in Prozent

45	Satz Nr.	Cellulase	Weichheitskategorie		
			"1" weichste	"2"	"3"
50	1	keine	0	10	90
		Pulver C (aus Beispiel 6)	80	20	0
		Pulver aus CBS 14764	20	70	10

60

Tabelle 4 (Fortsetzung)

Satz Nr.	Cellulase	Weichheitskategorie		
		"1" weichste	"2"	"3"
2	keine	0	30	70
	Pulver C (aus Beispiel 6)	70	30	0
	Pulver aus DSM 2068	30	40	30
3	keine	0	20	80
	Pulver C (aus Beispiel 6)	30	50	20
	Pulver aus DSM 2069	70	30	0

25

30

PATENTANSPRÜCHE

35

1. Flüssiges oder körniges Hauptwaschmittel für Baumwolle, insbesondere für Waschtemperaturen unter 70 °C, vorzugsweise unter 60 °C, das übliche Waschmittelbestandteile, wie oberflächenaktive Stoffe, Builder, Enthärter, Bleichmittel, Enzyme, Aufheller, Schaummodifikatoren, Stabilisatoren, Rückschmutzverhinderer, Füllstoffe enthält, **dadurch gekennzeichnet**, daß es einen Weichmacher enthält, dessen wesentliche Komponente eine von einem Stamm von Humicola insolens (*Humicola grisea* var. *thermoidea*) produzierte Pilzcellulase ist.

40

2. Hauptwaschmittel nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Pilzcellulase ein Produkt des unter der Bezeichnung DSM 1800 bei der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen hinterlegten *Humicola insolens* Stammes ist.

45

3. Hauptwaschmittel nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Pilzcellulase bezüglich derjenigen Cellulasefraktion, die bei pH-Werten zwischen 6,5 und 7,5 nicht an einen Anionentauscher gebunden wird, gegenüber ihrer nativen Zusammensetzung angereichert ist.

50

4. Hauptwaschmittel nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Pilzcellulase ein Verhältnis von C_x modifiziert zu C_x normal von mindestens 0,6, bevorzugterweise ein solches Verhältnis von mindestens 0,8, aufweist.

55

5. Hauptwaschmittel nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß es die Pilzcellulase als nichtstaubendes Granulat enthält.

6. Hauptwaschmittel nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß das nichtstaubende Granulat mit einem Überzug aus einem Weißfärbemittel (Aufheller) in Kombination mit einem Staubbinder versehen ist.

60

7. Hauptwaschmittel nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Weißfärbemittel TiO_2 ist.

8. Hauptwaschmittel nach einem der Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß es den Weichmacher in einer Menge entsprechend 2,5 bis 100, vorzugsweise 5 bis 50, Einheiten C_x normal, oder in einer Menge entsprechend 1,5 bis 60, vorzugsweise 3 bis 30, Einheiten C_x modifiziert, pro g Hauptwaschmittel enthält.

Ausgegeben

11. 5.1992

Int. Cl.⁵: C11D 3/386

Blatt 1

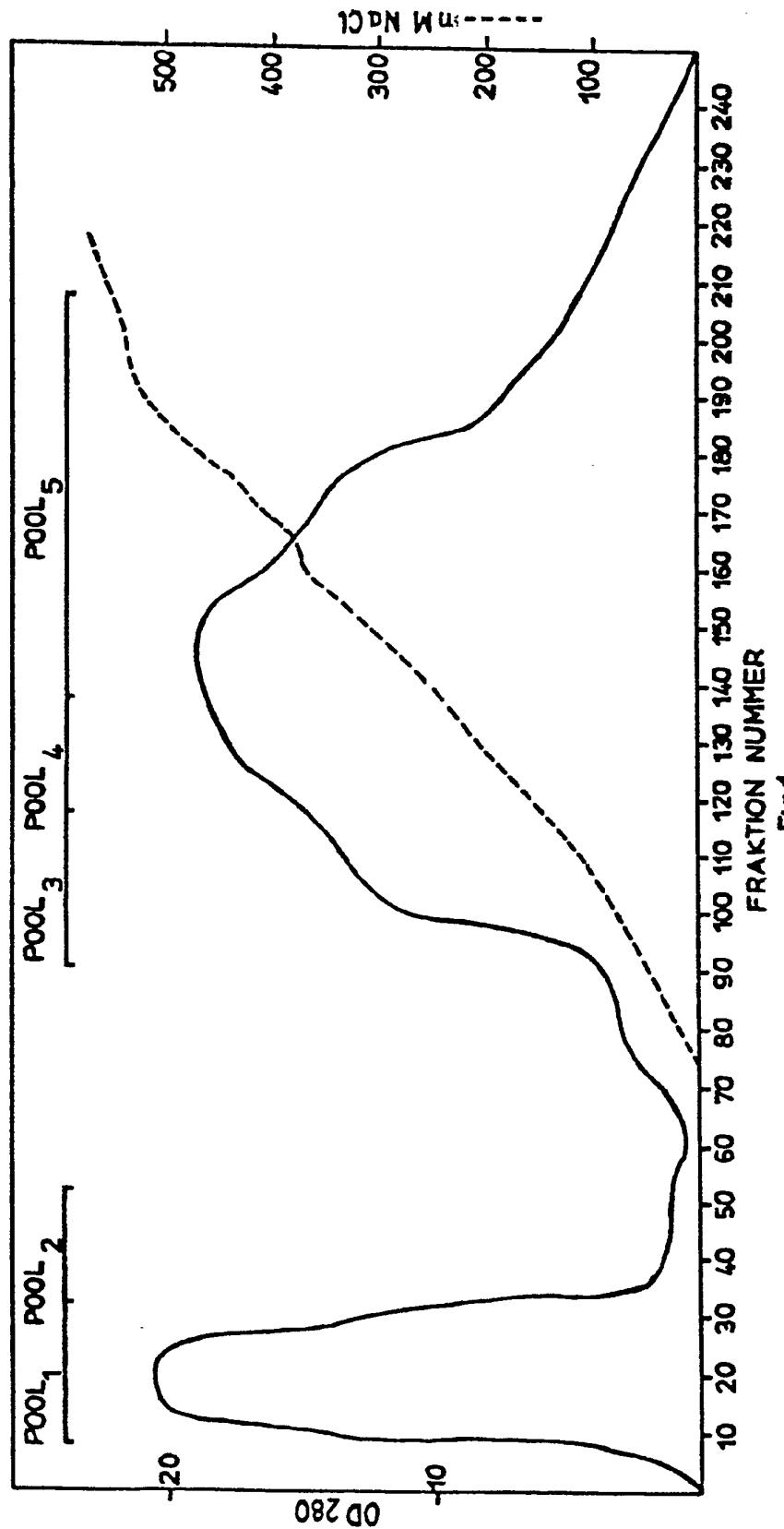


Fig.1

Ausgegeben

11. 5.1992

Int. Cl.⁵: C11D 3/386

Blatt 2

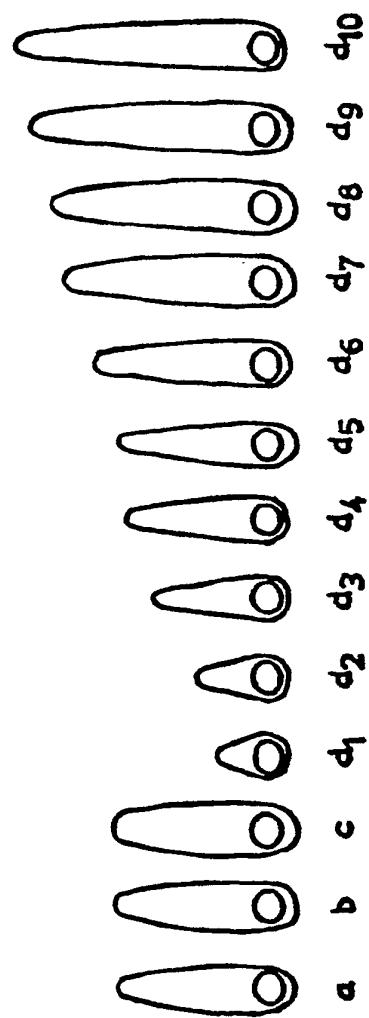


Fig.2