



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 268 780**

51 Int. Cl.:
C11D 3/386 (2006.01)
C11D 3/37 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Número de solicitud europea: **98930116 .3**
86 Fecha de presentación : **10.06.1998**
87 Número de publicación de la solicitud: **1009797**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **21.06.2000**

54 Título: **Composiciones detergentes que comprenden una mananasa y un polímero para la liberación de la suciedad.**

30 Prioridad: **14.08.1997 EP 97870120**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2007

73 Titular/es: **THE PROCTER & GAMBLE COMPANY**
One Procter & Gamble Plaza
Cincinnati, Ohio 45202, US

72 Inventor/es: **Bettiol, Jean-Luc, Philippe y**
Toen, Christiaan, Arthur, Jacques, Kamiel

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 268 780 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones detergentes que comprenden una mananasa y un polímero para la liberación de la suciedad.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones detergentes de lavado de ropa que comprenden una mananasa y un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón. Este polímero para la liberación de la suciedad es una poliamina modificada hidrosoluble y/o dispersable que tiene restos de cadena principal funcionalizados y mejor estabilidad frente al blanqueador.

Antecedentes de la invención

En la técnica se conocen numerosos agentes para liberar la suciedad de uso en procesos domésticos e industriales para el tratamiento de tejidos como el lavado de ropa, el secado de tejidos en secadoras de ropa de aire caliente, y similares. En el mercado existen diferentes agentes para liberar la suciedad que son utilizados actualmente en composiciones detergentes y artículos y composiciones suavizantes y antiestáticos para tejidos. Estos polímeros para la liberación de la suciedad comprenden de forma típica una "cadena principal" de tipo éster oligomérico o polimérico.

Hasta ahora no se ha conseguido desarrollar un agente eficaz para liberar la suciedad en tejidos de algodón para su uso en un detergente para lavado de ropa. Algunos intentos de aplicar el paradigma de formular la estructura de un polímero para la liberación de la suciedad imitando la estructura de los tejidos, método que sí que resultó eficaz en el campo de los polímeros para la liberación de la suciedad en tejidos de poliéster, sólo han producido resultados marginales cuando ha sido aplicado a agentes para liberar la suciedad en tejidos de algodón. El uso de la metilcelulosa, un polisacárido de algodón con unidades oligoméricas modificadas, resultó ser más eficaz para tejidos de poliéster que de algodón. Por ejemplo, en la patente GB-1.314.897, publicada el 26 de abril de 1973, se describe un material de hidroxipropil metilcelulosa para evitar la redeposición de manchas húmedas y mejorar la liberación de la suciedad en los tejidos lavados. La patente US-3.897.026, concedida a Kearney, describe materiales textiles celulósicos que tienen propiedades mejoradas de liberación de la suciedad y de resistencia a las manchas obtenidas por reacción de un copolímero etileno-anhídrido maleico con los restos hidroxilo de los polímeros de algodón. La patente US-3.912.681, concedida a Dickson, describe una composición para aplicar a tejidos de algodón un acabado no permanente de liberación de la suciedad que comprende un polímero de policarboxilato a un pH inferior a 3. La patente US-3.948.838, concedida a Hinton y col., describe polímeros poliacrílicos de elevado peso molecular (500.000-1.500.000) para la liberación de la suciedad, utilizados preferiblemente con otros tratamientos de tejidos. En la patente US-4.559.056, concedida a Leigh y col., se describe un proceso para tratar tejidos de algodón o sintéticos con una composición que comprende un organopolisiloxano elastomérico, un agente de reticulación copolimérico de organosiloxanoalquileno y un catalizador de endurecimiento de siloxano. Otros agentes para liberar la suciedad que no comprenden tereftalato ni mezclas de polioxi etileno/propileno son las resinas de vinilcaprolactama descritas por Rupert y col. en las patentes US-4.579.681 y US-4.614.519. En EP-206.513 se describen ejemplos de poliaminas alcoxiladas y poliaminas alcoxiladas cuaternizadas adecuadas para su uso como dispersantes de la suciedad. WO97/42288 describe agentes para liberar la suciedad para artículos de algodón eficaces que pueden prepararse a partir de ciertas poliaminas modificadas disponibles para todos los artículos de algodón, ya sean lavados en presencia de un agente blanqueador o no. Además de las patentes antes mencionadas, a continuación se mencionan otras patentes donde se describen diferentes polímeros para la liberación de la suciedad o poliaminas modificadas: US-5.565.145, concedida a Watson y col. el 15 de octubre de 1996; US-4.548.744, concedida a Connor el 22 de octubre de 1985; US-4.597.898, concedida a Vander Meer el 1 de julio de 1986; US-4.877.896, concedida a Maldonado y col. el 31 de octubre de 1989; US-4.891.160, concedida a Vander Meer el 2 de enero de 1990; US-4.976.879, concedida a Maldonado y col. el 11 de diciembre de 1990; US-5.415.807, concedida a Gosselink el 16 de mayo de 1995; US-4.235.735, concedida a Marco y col. el 25 de noviembre de 1980; WO 95/32272, publicada el 30 de noviembre de 1995; GB-1.537.288, publicada el 29 de diciembre de 1978; GB-1.498.520, publicada el 18 de enero de 1978; DE-28 29 022, concedida el 10 de enero de 1980; solicitud de patente japonesa no examinada JP 06313271, publicada el 27 de abril de 1994.

Sin embargo, el uso de estos polímeros para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón no es suficientemente eficaz como para proteger las prendas frente a la incrustación de manchas, en particular de manchas de cosméticos y alimentos. De hecho, las composiciones cosméticas y alimenticias modernas contienen cada vez más aditivos, tales como gomas hidrocoloides, que se utilizan como espesantes. En diferentes composiciones cosméticas y alimenticias se utilizan mananos, goma guar y goma de algarroba (ver Industrial Gum, 2ª edición, R.L. Whistler, págs. 308, Academic Press, 1973, ISBN, 0-12-74-6252-x). Es sabido que estas gomas hidrocoloides tienen una afinidad muy elevada hacia los materiales celulósicos y son difíciles de eliminar. Actualmente, el uso de polímeros para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón no es suficiente para tratar estas incrustaciones de manchas de cosméticos o de alimentos.

Las manchas y la suciedad de alimentos y cosméticos constituyen la mayor parte de las manchas/suciedad relevante para el consumidor y a menudo comprenden aditivos alimentarios tales como espesantes o estabilizantes. De hecho, las gomas hidrocoloides y los emulsionantes son aditivos alimentarios de uso habitual. La expresión "goma" representa un grupo de polisacáridos útiles en la industria (polímero de cadena larga) o sus derivados que se hidratan en agua caliente o fría para formar soluciones, dispersiones o geles viscosos. Las gomas se clasifican en naturales y modificadas. Las gomas naturales incluyen extractos de algas, extruídos vegetales, gomas de semilla o raíz y gomas obtenidas por fermentación microbiana. Las gomas modificadas (semisintéticas) incluyen derivados de la celulosa y del almidón y

ciertas gomas sintéticas tales como la pectina con bajo contenido de metoxilo, el propilenglicol alginato y la goma guar de carboximetilo e hidropropilo (Gums in *Encyclopedia Chemical Technology* 4ª ed. vol. 12, págs. 842-862, J. Baird, división Kelco de Merck). Véase también *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists* (Eagan Press - 1997) de R. L. Whistler y J.N. BeMiller, cap. 4, págs. 63-89 y *Direct Food Additives in Fruit Processing* de P. Laslo, *Bioprinciples and Applications*, vol 1, cap. II, págs. 313-325 (1996) Technomic publishing. Algunas de estas gomas, como la goma guar (E412) o de algarroba (E410), se utilizan de forma general solas o combinadas en numerosas aplicaciones alimentarias (Gums in *ECT* 4ª ed., vol. 12 págs. 842-862, J. Baird, división Kelco de Merck).

La goma guar en estas manchas de alimentos y productos cosméticos procede del endosperma de la semilla de la planta leguminosa *Cyamopsis tetragonoloba*. La goma guar (también denominadas guarano) extraída de la semilla dicotiledónea está compuesta de una cadena principal con una unidad 1-4, b-D-manopiranosilo y se utiliza como un espesante en sazadores y congelados y en productos cosméticos (H.-D. Belitz, *Food Chemistry*, págs. 243, versión inglesa de la segunda edición, Springer Verlag, 1987, ISBN 0-387-15043-9 [US]), (*Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*, R.L. Whistler, Eagan Press, 1997, ISBN 0-913250-92-9) e (*Industrial Gum*, 2ª edición, R.L. Whistler págs. 308, Academic Press, 1973, ISBN, 0-12-74-6252-x). La goma de algarroba (también denominada pan de San Juan Bautista) se utiliza asimismo en la industria alimentaria y se extrae de la semilla de un árbol de hoja perenne que se cultiva en la zona mediterránea. La goma de algarroba probablemente difiere de la estructura de la goma guar sólo en que tiene un número menor de cadenas laterales de D-galactosilo y ambas tienen la misma cadena principal de 1-4, b-D-manopiranosilo. En las semillas leguminosas, el galactomanano hidrosoluble es el principal carbohidrato de almacenamiento y en algunos casos comprende hasta un 20% del peso total seco. El galactomanano tiene una α -galactosa unida a O-6 de residuos de manosa y también puede ser acetilada a diferentes grados en O-2 y O-3 del residuo de manosa.

Como se ha descrito anteriormente, sigue existiendo la necesidad de formular composiciones detergentes de lavado de ropa que proporcionen mayor capacidad limpiadora, especialmente de manchas de cosméticos y alimentos, y presenten ventajas de liberación de la suciedad. Este objetivo ha sido satisfecho formulando composiciones detergentes de lavado de ropa que comprenden una mananasa y un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón.

También se ha descubierto que el rendimiento de las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención se mejora añadiendo otros ingredientes detergentes seleccionados de un aditivo reforzante de la detergencia, especialmente una zeolita, un tripolifosfato sódico y/o silicato laminar, un tensioactivo, preferiblemente un tensioactivo no iónico como alquiletoxilato o alquilmetil glucamida, un polímero para la liberación de la suciedad convencional y/o mezclas de los mismos.

Se han identificado mananasas en diferentes organismos *Bacillus*. Por ejemplo, Talbot y col., *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 56, nº 11, págs. 3505-3510 (1990) describe una β -mananasa derivada de *Bacillus stearothermophilus* en forma dímera que tiene un PM de 162 kDa y un pH óptimo de 5,5-7,5. Mendoza y col., *World J. Microbio. Bioech.*, vol. 10, nº 5, págs. 551-555 (1994) describe una β -mananasa derivada de *Bacillus subtilis* que tiene un PM de 38 kDa, una óptima actividad a pH 5,0/55°C y un pI de 4,8. La patente J0304706 describe una β -mananasa derivada de *Bacillus sp.* que tiene un PM de 37+/- 3 kDa medido por filtración en gel, un pH óptimo de 8-10 y un pI de 5,3-5,4. J63056289 describe la producción de una β -mananasa alcalina, termoestable que hidroliza enlaces de β -1, 4-D-manopiranosido de, por ejemplo, manano y produce mano:oligo:sacáridos. La patente J63036774 se refiere a un microorganismo *Bacillus* FERM P-8856 que produce β -mananasa y β -manosidasa, a un pH alcalino. Una mananasa purificada de *Bacillus amiloliquefaciens* y su método de preparación de uso para el blanqueado de pasta y papel se describe en WO97/11164. En WO91/18974 se describe una hemicelulasa como glucanasa, xilanasa o mananasa, activa a pH y temperatura extremos así como la producción de las mismas. En WO94/25576 se describe una enzima que presenta una actividad mananasa derivada de *Aspergillus aculeatus* CBS 101.43 que puede utilizarse para diferentes fines donde se desea una degradación o modificación de la pared celular de plantas o algas. En WO93/24622 se describe una mananasa aislada de *Trichoderma reesie* para el blanqueado de pastas lignocelulósicas.

Sin embargo, la combinación sinérgica de una mananasa y un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón para conseguir un mayor rendimiento de limpieza y liberación de la suciedad en una composición detergente de lavado de ropa nunca ha sido reconocido hasta el momento.

55 Sumario de la invención

La presente invención se refiere a composiciones detergentes de lavado de ropa que comprenden una mananasa y polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón que proporcionan mayor rendimiento de limpieza y de liberación de la suciedad.

60 Descripción detallada de la invención

Un elemento esencial de la composición detergente de lavado de ropa de la presente invención es una enzima mananasa.

65

ES 2 268 780 T3

La enzima mananasa

La presente invención abarca las siguientes tres enzimas de degradación de mananos: EC 3.2.1.25: β -manosidasa, EC 3.2.1.78: Endo-1,4- β -manosidasa, mencionada en adelante como “mananasa” y EC 3.2.1.100: 1,4- β -manobiosidasa (IUPAC Classification- Enzyme nomenclature, 1992 ISBN 0-12-227165-3 Academic Press).

Más preferiblemente, las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención comprenden una β -1,4-manosidasa (E.C. 3.2.1.78) mencionada como mananasa. La expresión “mananasa” o “galactomananasa” representa una enzima mananasa definida según la técnica con el nombre oficial de manano endo-1,4-beta-manosidasa y que tiene los nombres alternativos de beta-mananasa y endo-1,4-mananasa y que cataliza la reacción: hidrólisis aleatoria de uniones 1,4-beta-D-manosídicas en mananos, galactomananos, glucomananos y galactoglucomananos.

En particular, las mananasas (EC 3.2.1.78) constituyen un grupo de polisacaridas que degradan los mananos y representan enzimas que son capaces de escindir cadenas de poliosa que contienen unidades manosa, es decir, son capaces de escindir enlaces glicosídicos en mananos, glucomananos, galactomananos y galactogluco-mananos. Los mananos son polisacáridos que tienen una cadena principal compuesta por β -manosa unida en 1,4; los glucomananos son polisacáridos que tienen una cadena principal o β -manosa y glucosa unidas en 1,4 de forma alternante más o menos regular; los galactomananos y los galactoglucomananos son mananos y glucomananos con ramificaciones laterales de α -galactosa unidas en 1,6. Estos compuestos pueden ser acetilados.

La degradación de los galactomananos y los galactoglucomananos se ve facilitada por una eliminación total o parcial de las ramificaciones laterales de la galactosa. También la degradación de los mananos, glucomananos, galactomananos y galactoglucomananos acetilados se ve facilitada por la desacetilación total o parcial. Los grupos acetilo pueden ser eliminados por álcalis o por manano acetilesterasas. Los oligómeros que son liberados por las mananasas o por una combinación de mananasas y α -galactosidasa y/o manano acetil estererasas pueden ser degradados adicionalmente para liberar maltosa libre por parte de la β -manosidasa y/o la β -glucosidasa.

Las mananasas han sido identificadas en diferentes microorganismos *Bacillus*. Por ejemplo, Talbot y col., *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 56, n° 11, págs. 3505-3510 (1990) describen una beta-mananasa derivada de *Bacillus stearothermophilus* en forma dímera con un peso molecular de 162 kDa y un pH óptimo de 5,5 a 7,5. Mendoza y col., *World J. Microbiol. Biotech.*, vol. 10, n° 5, págs. 551-555 (1994) describe una beta-mananasa derivada de *Bacillus subtilis* que tiene un peso molecular de 38 kDa, una actividad óptima a pH 5,0 y 55°C y un pI de 4,8. La patente JP-0304706 describe una beta-mananasa derivada de *Bacillus sp.* que tiene un peso molecular de 373 kDa medido mediante filtración en gel, un pH óptimo de 8-10 y un pI de 5,3-5,4. La patente JP-63056289 describe el producto de una beta-mananasa alcalina termoestable que hidroliza enlaces beta-1,4-D-manopiranosido de, por ejemplo, mananos y produce mano-oligosacáridos. JP-63036774 se refiere al microorganismo *Bacillus* FERM P-8856 que produce beta-mananasa y beta-manosidasa a pH alcalino. En JP-08051975 se describen beta-mananasas alcalinas del *Bacillus sp.* alcalófilo AM-001. Una mananasa purificada de *Bacillus amyloliquefaciens* útil para blanquear pasta y papel y un método para preparar los mismos se describe en WO 97/11164. WO 91/18974 describe una hemicelulasa tal como una glucanasa, xilanasa o mananasa activa en condiciones extremas de pH y temperatura. En WO 94/25576 se describe una enzima de *Aspergillus aculeatus*, CBS 101.43 que presenta actividad mananasa y puede ser útil para degradar o modificar el material de la pared celular de plantas o algas. En WO 93/24622 se describe una mananasa aislada de *Trichoderma reesei* útil para el blanqueado de pastas lignocelulósicas. Una hemicelulasa capaz de degradar una hemicelulosa que contiene manano se describe en WO91/18974 y una mananasa purificada de *Bacillus amiloliquefaciens* se describe en WO97/11164.

En particular, esta enzima mananasa será una mananasa alcalina como se define más adelante, con máxima preferencia una mananasa procedente de una fuente bacteriana. Especialmente, la composición detergente de lavado de ropa de la presente invención comprenderá una mananasa alcalina seleccionada de la mananasa de la cepa *Bacillus agaradherens* y/o de la cepa *Bacillus subtilis* 168, gen yght.

El término “enzima mananasa alcalina” significa que comprende enzimas con una actividad enzimática de al menos 10%, preferiblemente de al menos 25%, más preferiblemente de al menos 40%, de su actividad máxima a un determinado pH de 7 a 12, preferiblemente de 7,5 a 10,5.

Con máxima preferencia, la composición detergente de lavado de ropa de la presente invención comprenderá la mananasa alcalina de *Bacillus agaradherens*. Dicha mananasa es

- i) un polipéptido producido por *Bacillus agaradherens*, NCIMB 40482, o
- ii) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se muestra en las posiciones 32-343 de SEC. 2, o
- iii) un análogo del polipéptido definido en i) o ii) que es al menos homólogo al 70% con dicho polipéptido, o se deriva de dicho polipéptido por sustitución, deleción o adición de uno o varios aminoácidos, o es inmunológicamente reactivo con un anticuerpo policlonal dirigido contra dicho polipéptido en forma purificada.

ES 2 268 780 T3

La presente invención también abarca un polipéptido aislado con actividad mananasa seleccionado del grupo que consiste en:

- 5 (a) moléculas de polinucleótido que codifican un polipéptido con actividad mananasa y que comprenden una secuencia de nucleótidos como se muestra en la SEC. 1 del nucleótido 97 al nucleótido 1029;
- (b) especies homólogas de (a);
- 10 (c) moléculas de polinucleótido que codifican un polipéptido con actividad mananasa que es idéntico al menos en un 70% a la secuencia de aminoácidos SEC. 2 desde el residuo de aminoácido 32 al residuo de aminoácido 343;
- (d) moléculas complementarias a (a), (b) o (c); y
- 15 (e) secuencias de nucleótidos degeneradas de (a), (b), (c) o (d).

El plásmido pSJ1678 que comprende la molécula de polinucleótido (la secuencia de ADN) que codifica una mananasa de la presente invención ha sido transformado en una cepa de *Escherichia coli* que ha sido depositada por los inventores, de acuerdo con el Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a los Fines del Procedimiento en Materia de Patentes, en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, República Federal de Alemania, el 18 de mayo de 1998 con el número de depósito DSM 12180.

Una segunda enzima muy preferida es la mananasa de la cepa 168 de *Bacillus subtilis*, en donde la mananasa:

- 25 i) está codificada por la parte codificante de la secuencia de ADN que se muestra en la SEC. 5 o un análogo de dicha secuencia y/o
- 30 ii) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos según SEC. 6 o
- iii) un análogo del polipéptido definido en ii) que es homólogo al menos en un 70% a dicho polipéptido, o está derivado de dicho polipéptido por sustitución, delección o adición de uno o varios aminoácidos, o reacciona inmunológicamente con un anticuerpo policlonal frente a dicho polipéptido en forma purificada.

35 La presente invención también abarca un polipéptido aislado con actividad mananasa seleccionado del grupo que consiste en:

- 40 (a) moléculas de polinucleótido que codifican un polipéptido con actividad mananasa y que comprenden una secuencia de nucleótidos según SEC. 5
- (b) especies homólogas de (a);
- (c) moléculas de polinucleótido que codifican un polipéptido con actividad mananasa que es idéntico al menos en un 70% a la secuencia de aminoácidos SEC. 6)
- 45 (d) moléculas complementarias a (a), (b) o (c); y
- (e) secuencias de nucleótidos degeneradas de (a), (b), (c) o (d).

50 Definiciones

Antes de estudiar la presente invención en más detalle deben definirse los siguientes términos:

55 El término “ortólogo” (o “especie homóloga”) significa un polipéptido o una proteína obtenida de una especie que tiene homología con un polipéptido o una proteína análoga de una especie diferente.

El término “parólogo” significa un polipéptido o una proteína obtenida de una determinada especie que tiene homología con un polipéptido o una proteína diferente de la misma especie.

60 El término “vector de expresión” significa una molécula de ADN, lineal o circular, que comprende un segmento que codifica un polipéptido de interés unido de forma operable a segmentos adicionales que realizan su transcripción. Estos segmentos adicionales pueden incluir secuencias de promotor y terminador y pueden opcionalmente incluir uno o más orígenes de replicación, uno o más marcadores seleccionables, un mejorador, una señal de poliadenilación, y similares. Los vectores de expresión se derivan generalmente de ADN plásmido o viral o pueden contener elementos de ambos. El vector de expresión puede ser cualquier vector de expresión convenientemente sometido a procedimientos de ADN recombinante y la elección del vector a menudo dependerá de la célula huésped en la que deba introducirse el vector. Así, el vector puede ser un vector que se replica de forma autónoma, es decir un vector que existe como una entidad cromosómica independiente cuya replicación es independiente de la replicación cromosómica, p. ej., un

ES 2 268 780 T3

plásmido. De forma alternativa, el vector puede ser uno que, cuando es introducido en una célula huésped, se integra en el genoma de la célula huésped y se replica junto con el(los) cromosoma(s) en el(los) que ha sido integrado.

5 El término “expresado de forma recombinante” utilizado en la presente memoria en relación con la expresión de un polipéptido o proteína sigue la definición estándar en la técnica. La expresión recombinante de una proteína se realiza generalmente utilizando un vector de expresión como se ha descrito anteriormente.

10 El término “aislado”, cuando se aplica a una molécula de polinucleótido, significa que el polinucleótido ha sido sacado de su medio genético natural y, por tanto, está libre de otras secuencias codificantes extrañas o no deseadas y se encuentra en una forma adecuada para su uso en sistemas de producción de proteínas de ingeniería genética. Estas moléculas aisladas están separadas de su entorno natural e incluyen ADNc y clones genómicos. Las moléculas de ADN aisladas de la presente invención están libres de otros genes con los que están normalmente asociadas pero pueden incluir regiones 5' y 3' naturales no traducidas tales como promotores y terminadores. La identificación de regiones asociadas resulta evidente para el experto en la materia (véase, por ejemplo, Dynan y Tijan, Nature 316:774-78, 1985).

20 El término “un polinucleótido aislado” también pueden sustituirse por “un polinucleótido clonado”. Cuando el término “aislado” se aplica a una proteína/polipéptido indica que la proteína se encuentra en una condición diferente a su entorno natural. En una forma preferida, la proteína aislada está prácticamente libre de otras proteínas, especialmente de otras proteínas homólogas (es decir “impurezas homólogas” [ver más adelante]). Es preferible proporcionar la proteína en una forma pura superior al 40%, más preferiblemente en una forma pura superior al 60%. Aún más preferiblemente se prefiere proporcionar la proteína en una forma de alta puro, es decir, con una puro superior al 80%, más preferiblemente superior al 95% y aún más preferiblemente superior al 99%, de acuerdo con la determinación SDS-PAGE.

25 El término “proteína/polipéptido aislado” puede sustituirse también por “proteína/polipéptido purificado”.

30 El término “impurezas homólogas” significa cualquier impureza (p. ej., otro polipéptido diferente al polipéptido de la invención) que proceda de la célula homóloga de la que se ha obtenido originalmente el polipéptido de la invención. El término “obtenido de” utilizado en la presente memoria en relación con una fuente microbiana específica significa que el polinucleótido y/o el polipéptido procede de una fuente específica o de una célula en la que se ha insertado un gen de la fuente.

35 El término “unido de forma operable”, referido a segmentos de ADN, significa que los segmentos están dispuestos de forma que funcionen de acuerdo con sus fines previstos, p. ej., que la transcripción se inicie en el promotor y prosiga por el segmento codificante hasta el terminador.

40 El término “polinucleótido” significa un polímero de cadena simple o doble de base de desoxirribonucleótido o ribonucleótido leído desde el extremo 5' hasta el extremo 3'. Los polinucleótidos incluyen ARN y ADN y pueden ser aislados de fuentes naturales, sintetizados *in vitro* o preparados a partir de una combinación de moléculas naturales y sintéticas.

45 El término “complementos de moléculas de polinucleótido” significa moléculas de polinucleótido que tienen una secuencia de base complementarias y una orientación invertida con respecto a una secuencia de referencia. Por ejemplo, la secuencia 5' ATGCACGGG 3' es complementaria a la 5' CCCGTGCAT 3'.

50 El término “secuencia degenerada de nucleótidos” significa una secuencia de nucleótidos que incluye uno o más codones degenerados (con respecto a una molécula de polinucleótido de referencia que codifica un polipéptido). Los codones degenerados contienen diferentes tripletes de nucleótidos pero codifica el mismo residuo de aminoácido (es decir, los tripletes GAU y GAC codifican cada uno Asp).

55 El término “promotor” significa una porción de un gen que contiene secuencias de ADN que unen la ARN polimerasa e inician la transcripción. Las secuencias del promotor se encuentran normalmente, aunque no siempre, en las regiones no codificantes 5' de genes.

60 El término “secuencia de señales de secreción” significa una secuencia de ADN que codifica un polipéptido (un “péptido de secreción”) que, como un componente de un polipéptido mayor, dirige al polipéptido mayor a través de una vía de secreción de una célula en la que es sintetizado. Generalmente el péptido mayor es escindido para eliminar el péptido de secreción durante el tránsito a través de la vía de secreción.

Cómo utilizar una secuencia de la invención para obtener otras secuencias relacionadas

65 La información incluida en la presente memoria relativa a una secuencia de polinucleótidos que codifica una mananasa de la invención puede utilizarse como herramienta para identificar otras mananasas homólogas. Por ejemplo, puede utilizarse la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar secuencias que codifican otras mananasas homólogas procedentes de diferentes fuentes microbianas, en particular de diferentes especies de Bacillus.

ES 2 268 780 T3

Valoración del ensayo de actividad

La actividad mananasa de un polipéptido de la invención con actividad mananasa puede analizarse mediante métodos de ensayo estándar conocidos en la técnica, tales como la aplicación de una solución experimental a orificios de 4 mm de diámetro realizados en placas de agar que contienen un 0,2% de AZCL galactomanano (goma de algarroba), es decir, un sustrato para el ensayo de endo-1,4-beta-D-mananasa disponible como CatNo. I- AZGMA de la empresa Megazyme, 110,00 dólares/3 gramos (sitio web de Megazyme: <http://www.megazyme.com/Purchase/index.html>).

Polinucleótidos

Un polinucleótido aislado de la invención se hibrida a regiones de tamaño similar de la SEC. 1, o a una secuencia complementaria a este, en condiciones de rigurosidad media como mínimo.

En particular los polinucleótidos de la invención hibridan a una sonda de ADN de doble cadena desnaturizada que comprende la secuencia completa que se muestra en las posiciones 97-1029 de SEC. 1 o cualquier sonda que comprenda una subsecuencia de SEC. 1 con una longitud de al menos aproximadamente 100 pares de base en condiciones de rigurosidad media como mínimo, pero preferiblemente en condiciones de alta rigurosidad como se describe en detalle más adelante. Las condiciones experimentales adecuadas para determinar la hibridación con una rigurosidad de media a alta entre una sonda de nucleótido y una secuencia de ADN o ARN homóloga implica la humectación previa del filtro que contiene los fragmentos de ADN o ARN que se van a hibridar en 5 x SSC (cloruro sódico/citrato sódico, Sambrook y col. 1989) durante 10 min y la hibridación previa del filtro en una solución de 5 x SSC, 5 x Solución Denhardt (Sambrook y col. 1989), 0,5% de SDS y 100 µg/ml de ADN de esperma de salmón desnaturizado sonificado (Sambrook y col. 1989), seguido por hibridación en la misma solución que contiene una concentración de 10 ng/ml de una sonda cebada de forma aleatoria (Feinberg, A. P. y Vogelestein, B. (1983) Anal. Biochem. 132:6-13), con etiqueta 32P-dCTP (actividad específica superior a 1 x 10⁹ cpm/µg) durante 12 horas a aprox. 45°C. A continuación se lava el filtro dos veces durante 30 minutos en 2 x SSC, SDS al 0,5% al menos a 60°C (rigurosidad media), aún más preferiblemente al menos a 65°C (rigurosidad media/alta), aún más preferiblemente al menos a 70°C (rigurosidad alta) y aún más preferiblemente al menos a 75°C (rigurosidad muy alta).

Las moléculas a las que hibridiza la sonda de oligonucleótidos en estas condiciones se detectan con una película de rayos X.

Como se ha mencionado anteriormente, los polinucleótidos aislados de la presente invención incluyen ADN y ARN. Los métodos para aislar ADN y ARN son bien conocidos en la técnica. Los genes que codifican ADN y ARN de interés pueden ser clonados en genotecas o bibliotecas de ADN utilizando métodos conocidos en la técnica.

A continuación se identifican y aíslan los polinucleótidos que codifican polipéptidos con actividad mananasa de la invención, por ejemplo, mediante hibridación o PCR.

La presente invención también proporciona polipéptidos y polinucleótidos contraparte de diferentes cepas bacterianas (ortólogos o parálogos). De especial interés son los polipéptidos con actividad mananasa de cepas alcalófilas gram-positivas, incluida la especie *Bacillus*.

Las especies homólogas de un polipéptido con actividad mananasa de la presente invención pueden ser clonadas utilizando la información y las composiciones proporcionadas por la presente invención junto con técnicas de clonación convencionales. Por ejemplo, una secuencia de ADN de la presente invención puede ser clonada utilizando ADN cromosómico obtenido de un tipo de célula que expresa la proteína. Las fuentes adecuadas de ADN pueden identificarse analizando Northern blots con sondas diseñadas de acuerdo con las secuencias descritas en la presente memoria. A continuación se prepara una genoteca a partir de ADN cromosómico de una línea celular positiva. Una secuencia de ADN de la invención que codifica un polipéptido con actividad mananasa puede aislarse por diferentes métodos como, por ejemplo, con sondas diseñadas a partir de las secuencias descritas en la presente especificación y reivindicaciones o con uno o más juegos de sondas degeneradas basadas en las secuencias descritas. Una secuencia de ADN de la invención también puede ser clonada utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Mullis, patente US-4.683.202) utilizando cebadores diseñados a partir de las secuencias descritas en la presente memoria. En otro método puede utilizarse la genoteca de ADN para transformar o transfectar células huésped y puede detectarse la expresión del ADN de interés con un anticuerpo (monoclonal o policlonal) dirigido contra la mananasa clonada de *B. agaradherens*, NCIMB 40482, expresada y purificada como se describe en Materiales y Métodos y en el Ejemplo 1, o mediante un ensayo de actividad con un polipéptido con actividad mananasa.

La mananasa que codifica parte de la secuencia de ADN clonado en el plásmido pSJ1678 presente en *Escherichia coli* DSM 12180 y/o una secuencia de ADN análoga de la invención pueden ser clonadas a partir de una cepa de la especie bacteriana *Bacillus agaradherens*, preferiblemente la cepa NCIMB 40482, para obtener la enzima con actividad de degradación de manano o un microorganismo diferente o relacionado como se describe en la presente memoria.

De forma alternativa, la secuencia análoga puede ser construida a partir de la secuencia de ADN obtenible a partir del plásmido presente en *Escherichia coli* DSM 12180 (que se cree que es idéntico a la SEC. 1 adjunta), p. ej., de una subsecuencia del mismo, y/o introduciendo sustituciones de nucleótido que no den lugar a otra secuencia de

ES 2 268 780 T3

aminoácidos de la mananasa codificada por la secuencia de ADN, pero que corresponda con el uso de codon del microorganismo huésped previsto para la producción de la enzima, o introduciendo sustituciones de nucleótido que puedan dar lugar a una secuencia de aminoácidos diferente (es decir, una variante de la enzima de degradación de manano de la invención).

5 Polipéptidos

La secuencia de aminoácidos 32-343 de SEC. 2 es una secuencia de mananasa madura.

10 La presente invención también proporciona polipéptidos con actividad mananasa que son prácticamente homólogos al polipéptido de SEC. 2 y especies homólogas (parálogas u ortólogas) de los mismos. El término “prácticamente homólogo” se utiliza en la presente memoria para designar polipéptidos que tienen una identidad de secuencia del 70%, preferiblemente al menos del 80%, más preferiblemente al menos del 85% y aún más preferiblemente al menos del 90%, con la secuencia de los aminoácidos 32-343 de SEC. 2 o sus ortólogos o parálogos. Estos polipéptidos
15 serán más preferiblemente idénticos al menos en un 95%, y con máxima preferencia idénticos en un 98% o más, a la secuencia de aminoácidos 32-343 de SEC. 2 o sus ortólogos o parálogos. El porcentaje de identidad de la secuencia se determina mediante métodos convencionales, utilizando programas informáticos conocidos en la técnica tales como GAP que se incluye en el paquete de programa GCG (Program Manual for the Wisconsin Package, Versión 8, agosto 1994, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, EE.UU. 53711) según Needleman, S.B. y
20 Wunsch, C.D., (1970), *Journal of Molecular Biology*, 48, 443-453. Para la comparación de secuencias de polipéptidos se utiliza el método GAP con los siguientes valores: penalización de creación GAP de 3,0 y penalización de extensión GAP de 0,1.

La identidad de secuencia de moléculas de polinucleótido se determina mediante métodos similares utilizando los
25 siguientes valores de GAP para comparar secuencias de ADN: penalización de creación GAP de 5,0 y penalización de extensión GAP de 0,3.

La preparación de la enzima de la invención procede preferiblemente de un microorganismo, preferiblemente de una bacteria, una archea o un hongo, especialmente de una bacteria como, p. ej., una bacteria perteneciente a *Bacillus*,
30 preferiblemente de una cepa alcalófila de *Bacillus* que puede seleccionarse del grupo que consiste en la especie *Bacillus agaradherens* y especies *Bacillus* muy relacionadas en las que todas las especies son preferiblemente al menos un 95%, y aún más preferiblemente al menos un 98%, homólogas al *Bacillus agaradherens* en cuanto a secuencias del ADNr 16S alineadas.

35 Las proteínas y los polipéptidos prácticamente homólogos se caracterizan por tener una o más sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácido. Estos cambios son preferiblemente de naturaleza menor, es decir, sustituciones de aminoácido conservadoras (ver Tabla 2) y otras sustituciones que no afectan de forma considerable al plegamiento o a la actividad de la proteína o polipéptido; pequeñas deleciones, de forma típica de uno a aproximadamente 30 aminoácidos, y pequeñas extensiones de terminal amino o carboxilo, tales como un residuo metionina con terminal amino, un
40 pequeño péptido conector de hasta aproximadamente 20-25 residuos o una pequeña extensión que facilita la purificación (una etiqueta de afinidad), tales como un tracto poli-histidina, proteína A (Nilsson y col., *EMBO J.* 4:1075, 1985; Nilsson y col., *Methods Enzymol.* 198:3, 1991. Véase, en general, Ford y col., *Protein Expression and Purification* 2: 95-107, 1991. Existen en el mercado ADN que codifican etiquetas de afinidad (p. ej., Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ; New England Biolabs, Beverly, MA).

45 Sin embargo, aunque los cambios descritos anteriormente preferiblemente son de naturaleza menor, estos cambios también pueden ser de naturaleza mayor como, p. ej., la fusión de polipéptidos mayores de hasta 300 aminoácidos o más como extensión de terminales amino o carboxilo a un polipéptido mananasa de la invención.

50 TABLA 1

Sustituciones de aminoácido conservadoras

Básicas	:	arginina, lisina, histidina
55 Ácidas	:	ácido glutámico, ácido aspártico
Polares	:	glutamina, asparagina
60 Hidrófobas	:	leucina, isoleucina, valina
Aromáticas	:	fenilalanina, triptófano, tirosina
Pequeñas	:	glicina, alanina, serina, treonina, metionina

65 Además de los 20 aminoácidos convencionales, también pueden sustituirse aminoácidos no convencionales (tales como 4-hidroxiprolina, 6-N-metil lisina, ácido 2-aminoisobutírico, isovalina y a-metil serina) por residuos aminoácido de un polipéptido. Un número limitado de aminoácidos no conservadores, aminoácidos que no son codificados

por el código genético y aminoácidos no naturales pueden sustituirse por residuos aminoácido. Los “aminoácidos no naturales” han sido modificados tras la síntesis proteica y/o tienen una estructura química en su(s) cadena(s) lateral(es) diferente a la de los aminoácidos estándar. Los aminoácidos no naturales pueden obtenerse por síntesis química, o preferiblemente, son productos comerciales que incluyen ácido pipecólico, ácido tiazolidincarboxílico, 5 dehidroprolina, 3-metilprolina y 4-metilprolina y 3,3-dimetilprolina.

Los aminoácidos esenciales en los polipéptidos con actividad mananasa pueden ser identificados mediante procedimientos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis de detección de alanina (Cunningham and Wells, *Science* 244: 1081-1085, 1989). En esta última técnica se introducen mutaciones individuales de alanina en cada residuo en la molécula y en las moléculas mutantes resultantes se analiza la actividad biológica (es decir, la actividad mananasa) para identificar los residuos aminoácido que son críticos para la actividad de la molécula. Véase también, Hilton y col., *J. Biol. Chem.* 271:4699-4708, 1996. También pueden determinarse el sitio activo de la enzima u otra interacción biológica mediante análisis de la estructura física con técnicas como, p. ej., resonancia magnética nuclear, cristalografía, difracción de electrones o etiquetado de fotoafinidad, junto con la mutación de nuevos 15 sitios de contacto de aminoácidos. Véase, por ejemplo, de Vos y col., *Science* 255:306-312, 1992; Smith y col., *J. Mol. Biol.* 224:899-904, 1992; Wlodaver y col., *FEBS Lett.* 309:59-64, 1992. Las identidades de los aminoácidos esenciales también pueden ser inferidas del análisis de homologías con polipéptidos que están relacionados con un polipéptido según la invención.

Pueden realizarse y analizarse múltiples sustituciones de aminoácidos utilizando métodos conocidos de mutagénesis, recombinación y/o redistribución seguidos de un procedimiento de detección adecuado como los descritos por Reidhaar-Olson y Sauer (*Science* 241:53-57, 1988), Bowie y Sauer (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:2152-2156, 1989), WO95/17413, o WO 95/22625. Estos autores describen métodos para aleatorizar de forma simultánea dos o más posiciones en un polipéptido o recombinar/redistribuir diferentes mutaciones (WO95/17413, WO95/22625) para 25 a continuación seleccionar un polipéptido funcional y secuenciar los polipéptidos mutagenizados y determinar el espectro de sustituciones permitidas en cada posición. Otros métodos que pueden utilizarse incluyen la visualización de fagos (p. ej., Lowman y col., *Biochem.* 30:10832-10837, 1991; Ladner y col., US-5.223.409; Huse, WIPO Publication WO 92/06204) y la mutagénesis dirigida a región (Derbyshire y col., *Gene* 46:145, 1986; Ner y col., *DNA* 7:127, 1988).

Los métodos de mutagénesis/redistribución descritos anteriormente pueden combinarse con métodos de detección automáticos de alto rendimiento para detectar la actividad de los polipéptidos mutagenizados clonados en las células huésped. Las moléculas de ADN mutagenizadas que codifican polipéptidos activos puede ser recuperadas de las células huésped y secuenciadas rápidamente utilizando equipos modernas. Estos métodos permiten determinar rápidamente la 35 importancia de los residuos individuales de aminoácido en un polipéptido de interés y pueden aplicarse un polipéptidos de estructura desconocida.

Utilizando los métodos mencionados anteriormente, el experto en la materia puede identificar y/o preparar diferentes polipéptidos que son prácticamente homólogos a los residuos 32 a 343 de SEC. 2 y conservar la actividad mananasa de la proteína salvaje.

Obtención de proteínas

Las proteínas y los polipéptidos, incluidas las proteínas de longitud completa, fragmentos de las mismas y proteínas de fusión, pueden obtenerse en células huésped de ingeniería genética mediante técnicas convencionales. Las células huésped adecuadas son aquellos tipos de célula que pueden ser transformados o transfectados con ADN exógeno y cultivados e incluyen bacterias, células fúngicas y células eucariotas superiores cultivadas. Las células bacterianas, en especial las células cultivadas de microorganismos gram-positivos, son las preferidas. Las células gram-positivas del género *Bacillus* son especialmente preferidas como, p. ej., las del grupo que consiste en *Bacillus subtilis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus alqualophilus*, *Bacillus amiloliquefaciens*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus lautus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus licheniformis*, y *Bacillus agaradherens*, y en especial el *Bacillus agaradherens*.

Técnicas para manipular moléculas de ADN clonadas e introducir ADN exógeno en diferentes células huésped han sido descritas por Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989; Ausubel y col. (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Inc., NY, 1987; y “*Bacillus subtilis* and Other Gram-Positive Bacteria”, Sonensheim y col., 1993, American Society for Microbiology, Washington D.C.

En general, una secuencia de ADN que codifica una mananasa de la presente invención está unida de forma operable a otros elementos genéticos necesarios para su expresión, lo que incluye generalmente un promotor y un terminador de la transcripción dentro de un vector de expresión. El vector también contendrá generalmente uno o más marcadores seleccionables y uno o más orígenes de replicación, aunque el experto en la técnica reconocerá que en ciertos sistemas pueden proporcionarse marcadores seleccionables en vectores separados y que la replicación del ADN exógeno puede realizarse mediante integración en el genoma de la célula huésped. La selección de promotores, terminadores, marcadores seleccionables, vectores y otros elementos es una cuestión de diseño de rutina para el experto en la técnica. Muchos de estos elementos se encuentran descritos en la bibliografía y son comercializados por proveedores del mercado.

Para dirigir un polipéptido a la vía de secreción de una célula huésped, en el vector de expresión se encuentra una secuencia de señales de secreción (también conocida como secuencia líder, secuencia prepro o presecuencia). La secuencia de señales de secreción puede ser la del polipéptido, o puede derivarse de otra proteína secretada o sintetizada de novo. En la técnica se conocen numerosas secuencias de señales de secreción adecuadas, citándose como referencia “*Bacillus subtilis* and Other Gram-Positive Bacteria”, Sonensheim y col., 1993, American Society for Microbiology, Washington D.C.; and Cutting, S. M.(eds.) “Molecular Biological Methods for Bacillus”, John Wiley and Sons, 1990, para una descripción más detallada de las secuencias de señales de secreción adecuadas, especialmente para la secreción en una célula huésped *Bacillus*. La secuencia de señales de secreción se une a la secuencia de ADN en el marco de lectura correcta. Las secuencias de señales de secreción están generalmente en la posición 5' con respecto a la secuencia de ADN que codifica el polipéptido de interés, aunque ciertas secuencias señal pueden estar en otra posición en la secuencia de ADN de interés (véase, p. ej., Welch y col., US-5.037.743; Holland y col., US-5.143.830).

Las células huésped transformadas o transfectadas se cultivan mediante procedimientos convencionales en un medio de cultivo que contiene nutrientes y otros componentes necesarios para el crecimiento de las células huésped elegidas. En la técnica se conocen diferentes medios adecuados, incluidos los medios definidos y los medios complejos, y generalmente incluyen una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, aminoácidos esenciales, vitamina y minerales. Los medios también pueden contener estos componentes como factores de crecimiento o suero, según las necesidades. El medio de crecimiento generalmente seleccionará células que contengan el ADN añadido por vía exógena mediante, por ejemplo, selección de la sustancia o deficiencia de un nutriente esencial que es complementada por el marcador seleccionable transportado en el vector de expresión o co-transfectado en la célula huésped.

Aislamiento de proteínas

Cuando el polipéptido recombinante expresado es secretado, este puede ser purificado del medio de cultivo. Preferiblemente las células huésped de expresión son retiradas de los medios antes de la purificación del polipéptido (por ejemplo por centrifugación).

Cuando el polipéptido recombinante expresado no es secretado de la célula huésped, la célula huésped es preferiblemente alterada y el polipéptido se libera a un “extracto” acuoso que es la primera fase de estas técnicas de purificación. Preferiblemente las células huésped de expresión son recogidas de los medios antes de la alteración celular (por ejemplo por centrifugación).

La alteración celular puede realizarse mediante técnicas convencionales tales como digestión de lisozimas o forzando las células a través de alta presión. Para una descripción más detallada de estas técnicas de alteración celular, véase Robert K. Scobes, *Protein Purification*, 2ª edición, Springer-Verlag.

Ya sean o no secretados los polipéptidos recombinantes (o polipéptidos quiméricos) expresados, estos pueden ser purificados mediante métodos y medios de fraccionamiento y/o de purificación convencionales.

Para fraccionar las muestras puede utilizarse la precipitación con sulfato amónico y la extracción con un ácido o un agente caotrópico. Las etapas de purificación ilustrativas pueden incluir hidroxapatita, exclusión de tamaños, FPLC y cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa. Los medios de intercambio aniónico adecuados incluyen dextranos derivatizados, agarosa, celulosa, poliacrilamida, sílices especiales, y similares. Se prefieren los derivados de PEI, DEAE, QAE y Q, siendo DEAE Fast-Flow Sepharose (Pharmacia, Piscataway, NJ) especialmente preferido. Los medios cromatográficos ilustrativos incluyen los medios derivatizados con grupos fenilo, butilo u octilo, tales como Phenyl-Sepharose FF (Pharmacia), Toyopearl butyl 650 (Toso Haas, Montgomeryville, PA), Octyl-Sepharose (Pharmacia) y similares; o resinas poliacrílicas, tales como Amberchrom CG 71 (Toso Haas) y similares. Los soportes sólidos adecuados incluyen perlas de vidrio, resinas basadas en sílice, resinas celulósicas, perlas de agarosa, perlas de agarosa reticuladas, perlas de poliestireno, resinas de poliacrilamida reticulada, y similares, que son insolubles en las condiciones en las que son utilizados. Estos soportes pueden ser modificados con grupos reactivos que permiten la unión de proteínas mediante grupos amino, grupos carboxilo, grupos sulfhidrilo, grupos hidroxilo y/o restos carbohidrato. Los ejemplos de acoplamiento incluyen la activación de bromuro de cianógeno, la activación de N-hidroxisuccinimida, la activación de epóxido, la activación de sulfhidrilo, la activación de hidrazida y los carboxil derivados y amino derivados para la química de acoplamiento carbodiimida. Estos medios y otros medios sólidos son bien conocidos y ampliamente utilizados en la técnica y son productos de proveedores comerciales.

La elección de un determinado método es una cuestión de diseño rutinario y viene determinada en parte por las propiedades del soporte elegido. Véase, por ejemplo, *Affinity Chromatography: Principles & Methods*, Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Suecia, 1988.

Los polipéptidos de la invención o los fragmentos de los mismos también pueden prepararse mediante síntesis química. Los polipéptidos de la invención pueden ser monómeros o multímeros; glicosilados o no glicosilados; pegilados o no pegilados; y pueden o no incluir un residuo inicial de aminoácido metionina.

Utilizando la información de secuencias descrita en la presente memoria puede clonarse una secuencia de ADN de longitud completa que codifica una mananasa y que comprende la secuencia de ADN mostrada en la SEC. 1, al menos la secuencia de ADN desde la posición 97 a la posición 1029.

ES 2 268 780 T3

La clonación se realiza por procedimientos estándar conocidos en la técnica como, por ejemplo

- preparar una genoteca de una cepa *Bacillus*, especialmente la cepa *B. agaradherens*, NCIMB 40482;
- colocar esta genoteca en placas de sustrato adecuadas;
- identificar un clon que comprende una secuencia de polinucleótidos de la invención mediante técnicas de hibridación convencionales con una sonda basada en la SEC. 1; o
- identificar un clon de dicha genoteca *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482 mediante una estrategia PCR inversa utilizando cebadores basados en la información de secuencias de la SEC. 1. Para ello se hace referencia a M.J. MCPerson y col. (“PCR A practical approach” Information Press Ltd, Oxford, Inglaterra).

A la vista de la información sobre secuencias descrita en la presente memoria (SEC. 1, SEC. 2), el aislamiento de secuencias homólogas de polinucleótidos que codifican la mananasa homóloga de la invención mediante una estrategia similar utilizando genotecas de microorganismos microbianos relacionados, en particular de genotecas de otras cepas del género *Bacillus* tales como la especie alcalófila de *Bacillus*, representa un trabajo de rutina para el experto en la técnica.

De forma alternativa, el ADN que codifica la enzima de la invención que degrada manano o galactomanano puede ser clonado adecuadamente, de acuerdo con procedimientos bien conocidos, a partir de una fuente adecuada como cualquiera de los microorganismos anteriormente mencionados utilizando sondas de oligonucleótidos sintéticas preparadas de acuerdo con la secuencia de ADN que puede obtenerse del plásmido presente en *Escherichia coli* DSM 12180.

De la misma forma, la molécula de polinucleótido de la invención puede ser aislada de *Escherichia coli*, DSM 12180, en la que se deposita el plásmido obtenido por clonación como se ha descrito anteriormente. Asimismo, la presente invención se refiere a un cultivo biológico aislado prácticamente puro de la cepa *Escherichia coli*, DSM 12180.

En este contexto el término “preparación de la enzima” significa un producto enzimático de fermentación convencional, posiblemente aislado y purificado, a partir de una única especie de un microorganismo, en donde dicha preparación normalmente comprende diferentes actividades enzimáticas; o una mezcla de enzimas monocomponente, preferiblemente enzimas derivadas de especies bacterianas o fúngicas utilizando técnicas recombinante convencionales, cuyas enzimas han sido fermentadas y posiblemente aisladas y purificadas por separado y que pueden proceder de especies diferentes, preferiblemente especies fúngicas o bacterianas; o el producto de fermentación de un microorganismo que actúa como una célula huésped para expresar una mananasa recombinante, pero en donde dicho microorganismo produce al mismo tiempo otras enzimas, p. ej., enzimas de degradación de pectina, proteasas o celulasas, siendo productos de fermentación naturales del microorganismo, es decir, el complejo enzimático obtenido de forma convencional por el correspondiente microorganismo natural.

Un método para realizar la preparación de la enzima es el método que comprende cultivar un microorganismo, p. ej. una cepa de tipo salvaje, capaz de producir la mananasa en condiciones que permitan producir la enzima y recuperar la enzima del cultivo. El cultivo puede ser realizado utilizando técnicas de fermentación convencionales, p. ej., cultivo en frascos o fermentadores con agitación para garantizar una suficiente aireación en un medio de crecimiento que induzca la producción de la enzima mananasa. El medio de crecimiento puede contener una fuente de N convencional como, p. ej., peptona, extracto de levadura o casaminoácidos, una cantidad reducida de una fuente convencional de C como, p. ej., dextrosa o sucrosa y un inductor como la goma guar o la goma de algarroba. La recuperación puede realizarse utilizando técnicas convencionales como, p. ej., separación de biomasa y sobrenadante por centrifugación o filtración, recuperación del sobrenadante o alteración de células si la enzima de interés es intracelular, tal vez seguido de otra purificación según EP 0 406 314 o por cristalización según WO 97/15660.

Reactividad cruzada inmunológica

Los anticuerpos policlonales utilizados para determinar la reactividad cruzada inmunológica pueden prepararse utilizando una enzima mananasa purificada. De forma más específica, puede obtenerse antisuero frente a la mananasa de la invención inmunizando conejos (u otros roedores) según el método descrito por N. Axelsen y col. en: A Manual of Quantitative Immuno-electrophoresis, Blackwell Scientific Publications, 1973, cap. 23, o A. Johnstone y R. Thorpe, Immunochemistry in Practice, Blackwell Scientific Publications, 1982 (de forma más específica en las págs. 27-31). Las inmunoglobulinas purificadas pueden obtenerse de los antisueros, por ejemplo por precipitación salina ((NH₄)₂SO₄), seguida de diálisis y cromatografía de intercambio iónico, por ejemplo en DEAE-Sephadex. La caracterización inmunológica de proteínas puede realizarse mediante análisis de doble difusión de Ouchterlony (O. Ouchterlony en: Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir, Ed.), Blackwell Scientific Publications, 1967, págs. 655-706), mediante inmuno-electroforesis cruzada (N. Axelsen y col., *supra*, caps. 3 y 4), o mediante inmuno-electroforesis tipo rocket (N. Axelsen y col., cap. 2).

Ejemplos de bacterias útiles para obtener la enzima o la preparación de la enzima de la invención son bacterias gram-positivas, preferiblemente de la subdivisión *Bacillus/Lactobacillus*, preferiblemente una cepa del género *Bacillus*, más preferiblemente una cepa *Bacillus agaradherens*, especialmente la cepa *Bacillus agaradherens*, NCIMB 40482.

ES 2 268 780 T3

También se incluye una mananasa aislada que tiene las propiedades descritas anteriormente y que está exenta de impurezas homólogas, y que se obtiene utilizando técnicas recombinantes convencionales.

Determinación de la actividad catalítica (ManU) de la mananasa

5 Determinación colorimétrica: Sustrato: 0,2% de AZCL-galactomanano (Megazyme™, Australia) de goma de algarroba en tampón glicina 0,1 M, pH10,0. La determinación se realiza en un microtubo Eppendorf de 1,5 ml en un termomezclador con agitación y con control de la temperatura a 40°C. Se incubaron 0,750 ml de sustrato con 0,05 ml de enzima durante 20 min y se centrifugó durante 4 minutos a 1570,8 rad/s (15000 rpm). Se mide el color del sobrenadante a 600 nm en una cubeta de 1 cm. Un ManU (unidades mananasa) proporciona 0,24 abs en 1 cm.

Obtención del *Bacillus Agaradherens* mananasa NCIMB 40482

Cepas

15 El *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482 comprende la enzima mananasa que codifica la secuencia de ADN.

Cepa *E. coli*: se prepararon células de *E. coli* SJ2 (Diderichsen, B., Wedsted, U., Hedegaard, L., Jensen, B. R., Sjøholm, C. [1990] Cloning of aldB, which encodes alpha-acetolactate decarboxylase, an exoenzyme from *Bacillus brevis*. J. Bacteriol., 172, 4315-4321) y se transformaron por electroporación utilizando un electroporador Gene Pulser™ de BIO-RAD según las instrucciones del proveedor.

25 *B. subtilis* PL2306. Esta cepa es el *B. subtilis* DN1885 con genes apr y npr alterados (Diderichsen, B., Wedsted, U., Hedegaard, L., Jensen, B. R., Sjøholm, C. [1990] Cloning of aldB, which encodes alpha-acetolactate decarboxylase, an exoenzyme from *Bacillus brevis*. J. Bacteriol., 172, 4315-4321) que está alterada en la unidad transcripcional del conocido gen celulasa de *Bacillus subtilis* para obtener células negativas de celulasa. La alteración se realizó básicamente según (Eds. A.L. Sonenshein, J.A. Hoch y Richard Losick [1993] *Bacillus subtilis* and other Gram-Positive Bacteria, American Society for microbiology, p. 618).

30 Se prepararon células competentes y se transformaron como describen Yasbin, R.E., Wilson, G.A. y Young, F.E. (1975) Transformation and transfection in lysogenic strains of *Bacillus subtilis*: evidence for selective induction of prophage in competent cells. J. Bacteriol, 121:296-304.

Plásmidos

35 pSJ1678 (como se describe en detalle en WO 94/19454).

40 pMOL944: este plásmido es un derivado de pUB110 que contiene básicamente elementos que hacen que el plásmido sea propagable en *Bacillus subtilis*, gen de resistencia de la canamicina, y que tiene un fuerte promotor y péptido de señal clonado a partir del gen amyL de *B. licheniformis* ATCC14580. El péptido de señal contiene un sitio SacII que hace que sea adecuado para clonar el ADN que codifica la parte madura de una infusión de proteína con el péptido de señal. Esto da lugar a la expresión de una Pre-proteína que está dirigida hacia el exterior de la célula.

45 El plásmido se construyó utilizando técnicas de ingeniería genética convencionales que se describen brevemente a continuación.

Construcción de pMOL944

50 El plásmido pUB110 (McKenzie, T. y col., 1986, Plasmid 15:93-103) fue digerido con la enzima de restricción única NciI. Un fragmento PCR amplificado del promotor amyL codificado en el plásmido pDN1981 (P.L. Jørgensen y col., 1990, Gene, 96, p. 37-41) fue digerido con NciI e pieza de insertado en el pUB110 digerido con NciI para obtener el plásmido pSJ2624.

55 Los dos cebadores PCR utilizados tienen las siguientes secuencias:

LWN5494 5' -

GTCGCCGGGGCGGCCGCTATCAATTGGTAACTGTATCTCAGC -3'

60

LWN5495 5' -

GTCGCCGGGAGCTCTGATCAGGTACCAAGCTTGTCGACCTGCAGAA

65

TGAGGCAGCAAGAAGAT -3'

ES 2 268 780 T3

El cebador #LWN5494 inserta un sitio NotI en el plásmido.

5 A continuación el plásmido pSJ2624 fue digerido con SacI y NotI y un nuevo fragmento PCR amplificado en el promotor amyL codificado en el pDN1981 fue digerido con SacI y NotI y este fragmento de ADN se insertó en el pSJ2624 digerido con SacI-NotI para obtener el plásmido pSJ2670.

Esta clonación sustituye a la primera clonación del promotor amyL con el mismo promotor pero en la dirección contraria. Los dos cebadores utilizados para la amplificación PCR tienen las siguientes secuencias:

10 #LWN5938 5`-
GTCGGCGGCCGCTGATCACGTACCAAGCTTGTCGACCTGCAGAATG
15 AGGCAGCAAGAAGAT -3`
#LWN5939 5`-GTCGGAGCTCTATCAATTGGTAACTGTATCTCAGC -3`

20 El plásmido pSJ2670 fue digerido con las enzimas de restricción PstI y BclI y un fragmento PCR amplificado a partir de una secuencia de ADN clonada que codifica la amilasa alcalina SP722 (descrita en la solicitud de patente internacional publicada como WO95/26397) fue digerido con PstI y BclI e insertado para obtener el plásmido pMOL944. Los dos cebadores utilizados para la amplificación PCR tienen la siguiente secuencia:

25 #LWN7864 5` -AACAGCTGATCACGACTGATCTTTTAGCTTGGCAC-3`
#LWN7901 5` -AACTGCAGCCGCGGCACATCATAATGGGACAAATGGG -3`

30 *Clonación del gen mananasa de Bacillus agaradherens*

Preparación del ADN genómico

35 La cepa *Bacillus agaradherens* NCIMB 40482 se propagó en medio líquido según se describe en WO94/01532. Tras 16 horas de incubación a 30°C y 31,4 rad/s (300 rpm), las células fueron cosechadas y se aisló el ADN genómico aislado por el método descrito por Pitcher y col. (Pitcher, D. G., Saunders, N. A., Owen, R. J. (1989). Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. Lett. Appl. Microbiol., 8, 151-156).

Construcción de la genoteca

45 El ADN genómico fue parcialmente digerido con la enzima de restricción Sau3A y fraccionado por tamaño mediante electroforesis en gel agarosa al 0,7%. Se aislaron fragmentos de 2 a 7 kb de tamaño mediante electroforesis sobre papel de celulosa DEAE (Dretzen, G., Bellard, M., Sassone-Corsi, P., Chambon, P. [1981] A reliable method for the recovery of DNA fragments from agarose and acrylamide gels. Anal. Biochem., 112, 295-298).

Los fragmentos aislados de ADN se ligaron al ADN del plásmido pSJ1678 digerido con BamHI y la mezcla ligada se utilizó para transformar *E. coli* SJ2.

Identificación de clones positivos

55 Una genoteca de ADN en *E. coli*, construida como se ha descrito anteriormente, se analizó en placas de agar LB que contenían 0,2% de AZCL-galactomanano (Megazyme) y 9 µg/ml de cloramfenicol y se incubó durante la noche a 37°C. Los clones que expresan la actividad mananasa aparecieron con un halo de difusión azul. El ADN del plásmido de uno de estos clones fue aislado con Qiagen plasmid spin preps en 1 ml de caldo de cultivo durante la noche (células incubadas a 37°C en TY con 9 µg/ml de cloramfenicol y agitando a 26,2 rad/s [250 rpm]).

60 Este clon (MB525) también fue caracterizado mediante secuenciación de ADN del fragmento ADN Sau3A clonado. La secuenciación de ADN se realizó mediante "primerwalking", utilizando el kit de secuenciación Taq deoxy-C terminal cycle (Perkin-Elmer, EE.UU.), terminadores con etiqueta fluorescente y oligonucleótidos adecuados como cebadores.

65 El análisis de los datos de secuencia se realizó según Devereux y col. (1984) Nucleic Acids Res. 12, 387-395. La secuencia que codifica la mananasa se muestra en la SEC. 1. La secuencia derivada de proteína se muestra en la SEC. 2.

ES 2 268 780 T3

Subclonación y expresión de la mananasa en *B.subtilis*

La mananasa que codifica la secuencia de ADN fue amplificada con PCR utilizando el juego de cebador PCR que consiste en estos dos oligonucleótidos:

Mananasa.superior.SacII

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

Mananasa.inferior.NotI

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

Se han subrayado los sitios de restricción SacII y NotII.

El ADN cromosómico aislado de *B. agaradherens* NCIMB 40482 descrito anteriormente se utilizó como plantilla en una reacción PCR utilizando Amplitaq DNA Polymerase (Perkin Elmer) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La reacción PCR se realizó en tampón PCR (Tris-HCl 10 mM, pH 8,3, KCl 50 mM, MgCl₂ 1,5 mM, 0,01% [p/v] de gelatina) que contiene 200 μM de cada dNTP, 2,5 unidades de AmpliTaQ polymerase (Perkin-Elmer, Cetus, EE.UU.) y 100 pmol de cada cebador.

La reacción PCR se realizó utilizando un ciclador térmico de ADN (Landgraf, Alemania). Se realizó una incubación a 94°C durante 1 min seguida de treinta ciclos de PCR utilizando un perfil de ciclo de desnaturalización a 94°C durante 30 s, apareamiento a 60°C durante 1 min y extensión a 72°C durante 2 min. Cinco alícuotas de -μl del producto de amplificación se analizaron mediante electroforesis en 0,7% de geles de agarosa (NuSieve, FMC). El aspecto de un tamaño de fragmento de ADN de 1,4 kb indicó que la amplificación del segmento de gen era adecuada.

Subclonación de fragmentos PCR

Alícuotas de 45-μl de los productos PCR generados como se ha descrito anteriormente fueron purificadas utilizando el kit de purificación QIAquick PCR (Qiagen, EE.UU.) según las instrucciones del fabricante. El ADN purificado se eluyó en 50 μl de Tris-HCl 10 mM, pH 8,5.

5 μg de pMOL944 y 25 μl del fragmento PCR purificado fueron digeridos con SacII y NotI, sometidos a electroforesis en 0,8% de gel de agarosa de baja temperatura de gelificación (SeaPlaque GTG, FMC) y a continuación los fragmentos relevantes fueron retirados de los geles y purificados utilizando el kit de extracción QIAquick Gel (Qiagen, EE.UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El fragmento PCR de ADN aislado se unió a continuación al pMOL944 digerido con SacII-NotI y purificado. La unión se realizó durante la noche a 16°C utilizando 0,5 μg de cada fragmento de ADN, 1 U de T4 ADN ligasa y tampón ligasa T4 (Boehringer Mannheim, Alemania).

La mezcla ligada se utilizó para transformar el PL2306 de *B. subtilis* competente. Las células transformadas se colocaron sobre placas LBPG-10 μg/ml de canamicina. Tras 18 horas de incubación a 37°C se observaron colonias en las placas. Se analizaron diferentes clones mediante aislamiento de plásmido de ADN en el caldo de cultivo nocturno.

Un clon positivo de este tipo fue reseñado en estrías varias veces en placas de agar como se ha utilizado anteriormente y este clon fue denominado MB594. El clon MB594 se cultivó durante la noche en TY-10 μg/ml de canamicina a 37°C, y al día siguiente se utilizó 1 ml de células para aislar plásmido de las células utilizando el Qiaprep Spin Plasmid Miniprep Kit n° 27106 según las recomendaciones del fabricante para las preparaciones de plásmido *B. subtilis*. Este ADN fue secuenciado y reveló la secuencia de ADN correspondiente a la parte madura de la mananasa, es decir, las posiciones 94-404 de la SEC. 3 adjunta. La proteína madura derivada se muestra en la SEC. 4. Parece que el extremo 3' de la mananasa codificada por la secuencia de SEC. 1 ha sido cambiado por el que se muestra en la SEC. 3 debido al diseño del cebador inferior utilizado en el PCR. La secuencia resultante de aminoácidos se muestra en la SEC. 4 y es evidente que el C terminal de la SEC. 2 (SHHVREIGVQFSAADNSSGQTALYVDNVTLR) ha cambiado al C terminal de la SEC. 4 (IIMLGK).

Medios

TY (según Ausubel, F. M. y col. [eds.] "Current protocols in Molecular Biology". John Wiley and Sons, 1995).

Agar LB (según Ausubel, F. M. y col. [eds.] "Current protocols in Molecular Biology". John Wiley and Sons, 1995).

LBPG es agar LB (véase más arriba) complementado con 0,5% de glucosa y fosfato potásico 0,05 M, pH 7,0

El medio BPX se describe en EP 0 506 780 (WO 91/09129).

ES 2 268 780 T3

Expresión, purificación y caracterización de la mananasa de Bacillus agaradherens

El clon MB 594 obtenido como se ha descrito anteriormente en Materiales y métodos se cultivó en 25 x 200 ml de medio BPX con 10 µg/ml de canamicina en dos frascos difusores de 500 ml durante 5 días a 37°C y 31,4 rad/s (300 rpm).

Se recogieron 6500 ml del líquido de cultivo del frasco del clon MB 594 (lote nº 9813) y se ajustó el pH a 5,5. Se añadieron 146 ml de agente catiónico (C521) y 292 ml de agente aniónico (A130) agitando para conseguir la floculación. El material floculado se separó por centrifugación utilizando una centrífuga Sorval RC 3B a 942,5 rad/s (9000 rpm) durante 20 min a 6°C. El sobrenadante se clarificó utilizando filtros de vidrio Whatman GF/D y C y finalmente se concentró en un filtron con un valor de corte de 10 kDa.

750 ml de este concentrado se ajustó a pH 7,5 con hidróxido sódico. La solución transparente se analizó mediante cromatografía de intercambio aniónico con una columna Q-Sepharose de 900 ml equilibrada con Tris 50 mmol a pH 7,5. La actividad mananasa unida se eluyó con un gradiente de cloruro sódico.

La enzima pura proporcionó una única banda en SDS-PAGE con un peso molecular de 38 kDa. La secuencia de aminoácidos de la enzima mananasa, es decir, la secuencia de ADN traducida, se muestra en la SEC. 2.

20 *Determinación de las constantes cinéticas*

Sustrato: goma de algarroba y análisis de los azúcares reductores (PHBAH). Goma de algarroba de Sigma (G-0753).

En la determinación cinética con diferentes concentraciones de goma de algarroba e incubación durante 20 min a 40°C a pH 10 se obtuvo un valor

Kcat: 467/s

30 K_m: 0,08 g/l

PM: 38 kDa

pI (punto isoeléctrico): 4,2

35

La temperatura óptima de la mananasa fue de 60°C.

El perfil de actividad pH presentó una actividad máxima entre pH 8 y pH 10.

40 Con la DSC (calorimetría diferencial de barrido) se obtiene una temperatura de 77°C como punto de fusión a pH 7,5 en tampón Tris, lo que indica que esta enzima es muy termoestable.

45 Cuando se utiliza un 0,2% de AZCL-galactomanano de goma de algarroba como sustrato y una incubación según las indicaciones anteriores a 40°C, el detergente presenta una excelente compatibilidad con los detergentes líquidos convencionales y una buena compatibilidad con los detergentes en polvo convencionales.

Obtención de la mananasa de Bacillus Subtilis 168

La β-mananasa de *Bacillus subtilis* fue identificada y purificada de la forma siguiente: se buscó la homología del genoma de *Bacillus subtilis* con una secuencia de genes de β-mananasa de *Bacillus sp* conocida (Mendoza y col., *Biochemica et Biophysica Acta* 1243:552-554, 1995). La región de codificación de *ydhT*, cuyo producto era desconocido, presentó una similitud del 58% con la β-mananasa de *Bacillus* conocida. Se diseñaron los siguientes oligonucleótidos para amplificar la codificación de secuencias para la parte madura de la β-mananasa putativa: 5'-GCT CAA TTG GCG CAT ACT GTG TCG CCT GTG-3' y 5'-GAC GGA TCC CGG ATT CAC TCA ACG ATT GGC G-3'. El ADN total genómico de la cepa 1A95 de *Bacillus subtilis* se utilizó como plantilla para amplificar la región madura *ydhT* utilizando los cebadores antes mencionados. La PCR se realiza con el kit GENE-AMP PCR con AMPLITAQ DNA Polymerase (Perkin Elmer, Applied Biosystems, Foster City, CA). Tras un período inicial de fusión de 5 min a 95°C se ejecutaron 25 ciclos del siguiente programa: fusión a 95°C durante 1 min, apareamiento a 55°C durante 2 min y extensión a 72°C durante 2 min. Tras el último ciclo, la reacción se mantuvo a 72°C durante 10 min para completar la extensión. Los productos PCR se purificaron utilizando el kit de purificación QIAquick PCR (Qiagen, Chatsworth, CA).

La región madura *ydhT* amplificada de la cepa 1A95 de *Bacillus subtilis* se insertó en el vector de expresión pPG1524 (descrito anteriormente) de la siguiente forma: el fragmento 1028bp amplificado fue digerido con *Mfe* I y *Bam*H I. El vector de expresión pPG1527 fue digerido con *Eco*R I y *Bam*H I. Los productos de restricción se purificaron con el kit de purificación QIAquick PCR (Qiagen, Chatsworth, CA). Los dos fragmentos se ligaron utilizando T4 ADN ligasa (13 h, 16°C) y se utilizaron para transformar la cepa DH5-α de *E. coli* competente. Se cultivaron colonias resistentes a la ampicilina para las preparaciones de ADN. A continuación se identificó el ADN mediante análisis

ES 2 268 780 T3

de restricción. El plásmido pPG3200 contiene la región madura del gen *ydhT*. A continuación se utilizó el plásmido pPG3200 para transformar la cepa PG 632 de *Bacillus subtilis* competente (Saunders y col., 1992).

Se tomaron siete clones resistentes a la canamicina de *Bacillus subtilis* y un clon de control PG 632 y se cultivaron en 20 ml de medio 20/20/5 (20 g/l de triptona, 20 g/l de extracto de levadura, 5 g/l de NaCl) suplementado con 1 ml de maltrina al 25%, 120 μ l de $MnCl_2$ 10 mM y 20 μ l de canamicina 50 mg/ml. Los clones se cultivaron durante la noche en frascos difusores de 250 ml agitando a 26,2 rad/s (250 rpm) y 37°C para expresar la proteína. Las células se centrifugaron a 1466,1 rad/s (14.000 rpm) durante 15 minutos. Un μ l de cada sobrenadante se diluyó en 99 μ l de acetato sódico 50 mM (pH 6,0). Un μ l de esta dilución se valoró utilizando los comprimidos de endo-1,4- β -mananasa Beta-Mannazyme (Megazyme, Irlanda) según las instrucciones del fabricante. Se leyó la absorbancia a 590 nm en un espectrofotómetro Beckman DU640. El clon 7 presenta una absorbancia máxima de 1,67. El control PG632 no presenta absorbancia a 590 nm.

El sobrenadante se analizó mediante SDS-PAGE en un gel Tris-glicina al 10-20% (Novex, San Diego, Ca) para confirmar el tamaño de proteína esperado de 38 kDa. Las muestras se prepararon como se indica a continuación. Se precipitaron una muestra de 500 μ l del clon *ydhT* 7 y sobrenadantes PG 632 con 55,5 μ l de ácido tricloroacético al 100% (Sigma), se lavaron con 100 μ l de ácido tricloroacético al 5%, se volvieron a suspender en 50 μ l de tampón para muestras Tris-glicina SDS (Novex) y la mezcla se mantuvo en ebullición durante cinco minutos. Un μ l de cada muestra se sometió a electroforesis en el gel a 30 mA durante 90 minutos. Se observó una gran banda de proteína a 38 kDa para el clon *ydhT* 7.

Se realizó una fermentación de 10 l de clon *ydhT* 7 de *Bacillus subtilis* en un fermentador B. Braun Biostat C. Las condiciones de fermentación fueron las siguientes: las células se cultivaron durante 18 horas en un medio rico similar al 20/20/5 a 37°C. Al finalizar el ciclo de fermentación se retiraron las células y el sobrenadante se concentró a 1 litro utilizando un sistema de filtración de flujo tangencial. El rendimiento final de β -mananasa en el sobrenadante concentrado fue de 3 g/l.

La purificación de la β -mananasa del sobrenadante de la fermentación se realizó de la forma siguiente: 500 ml de sobrenadante se centrifugaron a 1047,2 rad/s (10.000 rpm) durante 10 min a 4°C. El sobrenadante centrifugado se dializó a continuación durante la noche a 4°C en dos cargas de 4 l de fosfato potásico 10 mM (pH 7,2) a través de Spectrapor™ 12.000-14.000 mol.peso con membrana con tamaño de poro limitante (espectro). El sobrenadante dializado se centrifugó a 1047,2 rad/s (10.000 rpm) durante 10 min a 4°C. Se equilibró una columna de intercambio aniónico de 200 ml Q Sepharose™ de flujo rápido (Pharmacia) con 1 litro de fosfato potásico 10 mM (pH 7,2) a 20°C y se cargaron 300 ml de sobrenadante en la columna. Se recogieron dos fracciones de flujo de pasada de 210 ml (muestra A) y de 175 ml (muestra B). Las dos fracciones fueron valoradas como antes, salvo que las muestras se diluyeron con 199 μ l de acetato sódico 50 mM (pH 6,0), presentando absorbancias de 0,38 y 0,52, respectivamente. Se añadieron 2 μ l de cada muestra a 8 μ l de tampón para muestras Tris-glicina SDS (Novex, CA) y se mantuvo en ebullición durante 5 min. Las muestras resultantes se sometieron a electroforesis en un gel de Tris-glicina al 10-20% (Novex, Ca) a 30 mA durante 90 minutos. Se observó una banda principal correspondiente a 38 kDa en cada muestra que comprendía más del 95% de la proteína total. Se realizó una determinación de proteína BCA (Pierce) en ambas muestras según las instrucciones del fabricante y utilizando como patrón albúmina de suero bovino. Las muestras A y B contenían 1,3 mg/ml y 1,6 mg/ml de β -mananasa, respectivamente. La identidad de la proteína se confirmó mediante espectrometría de masas de tipo electrospray y análisis de secuencias de aminoácidos terminales.

Las muestras de β -mananasa purificadas se utilizaron para identificar la actividad enzimática de la forma siguiente: en todas las determinaciones se utilizaron comprimidos de endo-1,4- β -mananasa Beta-Mannazyme (Megazyme, Irlanda) según se ha descrito anteriormente. La actividad en el intervalo de pH de 3,0-9,0 se determinó con tampón citrato fosfato 50 mM, la actividad a pH 9,5 se determinó con tampón CAPSO 50 mM (Sigma) y la actividad en el intervalo de pH de 10,0-11,0 se determinó con tampón CAPS 50 mM. El pH óptimo para la β -mananasa de *Bacillus subtilis* resultó ser de 6,0-6,5. Los perfiles de actividad en función de la temperatura se realizaron en tampón citrato fosfato 50 mM (pH 6,5). La enzima presentó una actividad óptima a 40-45°C. La β -mananasa de *Bacillus subtilis* conservó una actividad significativa por debajo de 15°C y por encima de 80°C. La actividad específica frente al β -1,4-galactomanano resultó ser de 160.000 μ mol/min.mg de β -mananasa utilizando comprimidos de endo-1,4- β -mananasa Beta-Mannazyme (Megazyme, Irlanda) según las indicaciones del fabricante. Las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de la β -mananasa de *Bacillus subtilis* se muestran en las SEC. 5 y 6.

La mananasa se incorpora a las composiciones de la invención preferiblemente a un nivel de 0,0001% a 2%, más preferiblemente de 0,0005% a 0,5%, más preferiblemente de 0,001% a 0,1%, de enzima pura en peso de la composición.

La enzima de la invención comprende, además del núcleo de la enzima que comprende el dominio catalíticamente activo, también un dominio de unión a celulosa (CBD), estando el dominio de unión a celulosa y el núcleo (el dominio catalíticamente activo) de la enzima unidos de forma operable. El dominio de unión a celulosa (CBD) puede existir como parte integrante de la enzima codificada o puede introducirse un CBD de otro origen en la enzima para crear una enzima híbrida. En este contexto, el término "dominio de unión a celulosa" debe entenderse según la definición de Tomme y col. en "Cellulose-Binding Domains: Classification and Properties" in "Enzymatic Degradation of Insoluble Carbohydrates", John N. Saddler y Michael H. Penner (Eds.), ACS Symposium Series, nº 618, 1996. Esta definición clasifica más de 120 dominios de unión a celulosa distribuidos en 10 familias (I-X) y demuestra que los CBDs se

ES 2 268 780 T3

encuentran en diferentes enzimas como celulasas, xilanasas, mananasas, arabinofuranosidasas, acetil esterases o quitinasas. Los CBDs también se han encontrado en algas, p. ej., en el alga roja *Porphyra purpurea*, como una proteína de unión a polisacáridos no hidrolíticos (véase Tomme y col., op.cit.). Sin embargo, la mayoría de los CBDs proceden de celulasas y xilanasas y se encuentran en los N y C terminales de proteínas o son internos. Las enzimas híbridas son conocidas en la técnica (véase, p. ej., WO 90/00609 y WO 95/16782) y pueden prepararse mediante transformación en una célula huésped de una estructura ADN que comprende al menos un fragmento de ADN que codifica el dominio de unión a celulosa ligado, con o sin un conector, a una secuencia de ADN que codifica la enzima mananasa y cultivando la célula huésped para expresar el gen fusionado. Las enzimas híbridas pueden describirse mediante la siguiente fórmula:



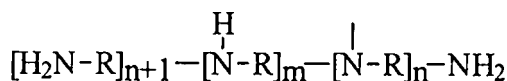
en donde CBD es la región N-terminal o C-terminal de una secuencia de aminoácidos correspondiente a al menos el dominio de unión a celulosa; MR es la región intermedia (el conector), y puede ser una unión, o un grupo de unión corta preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 100 átomos de carbono, más preferiblemente de 2 a 40 átomos de carbono; o es preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 100 aminoácidos, más preferiblemente de 2 a 40 aminoácidos; y X es una región N-terminal o C-terminal de la enzima de la invención.

Las enzimas anteriormente mencionadas pueden tener cualquier origen adecuado como, p. ej., vegetal, animal, bacteriano, fúngico o de levadura. El origen también puede ser mesófilo o extremófilo (psicrófilo, psicotrópico, termófilo, barófilo, alcalófilo, acidófilo, halófilo, etc.). Pueden utilizarse formas purificadas o no purificadas de estas enzimas. En la actualidad es práctica habitual modificar las enzimas salvajes mediante técnicas de ingeniería proteica o genética para optimizar su eficacia en las composiciones limpiadoras de la invención. Por ejemplo, las variantes pueden diseñarse para aumentar la compatibilidad de la enzima con respecto a los ingredientes de uso común en estas composiciones. De forma alternativa, la variante se puede diseñar de tal modo que el pH óptimo, la estabilidad del blanqueador o del quelante, la actividad catalítica y similares de la enzima sean las adecuadas para la aplicación limpiadora particular.

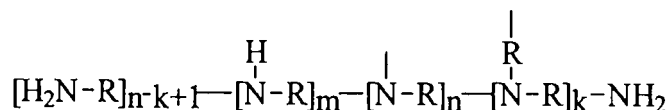
En particular, debe dedicarse especial atención a los aminoácidos sensibles a la oxidación para la estabilidad del blanqueador y en el caso de cargas superficiales para la compatibilidad del tensioactivo. Puede modificarse el punto isoeléctrico de estas enzimas sustituyendo algunos aminoácidos cargados de forma que, p. ej., un aumento del punto isoeléctrico puede ayudar a mejorar la compatibilidad con los tensioactivos aniónicos. La estabilidad de las enzimas también puede mejorarse creando, p. ej., puentes de sal adicionales para hacer que los sitios de unión a metales mejoren la estabilidad del quelante.

El polímero para la liberación de la suciedad

La composición detergente de lavado de ropa de la presente invención comprende generalmente de 0,0001% a 20%, preferiblemente de 0,001% a 15%, más preferiblemente de 0,01% a 10%, en peso de un polímero para la liberación de la suciedad para tejidos de algodón de tipo polietilenimina. Los polímeros para la liberación de la suciedad para tejidos de algodón de tipo polietilenimina preferidos son los agentes para liberar la suciedad de tejidos de algodón de poliamina modificados hidrosolubles o dispersables que comprenden una cadena principal poliamínica correspondiente a la fórmula descrita en WO97/42288, presentada el 25 de abril de 1997 por Procter & Gamble:

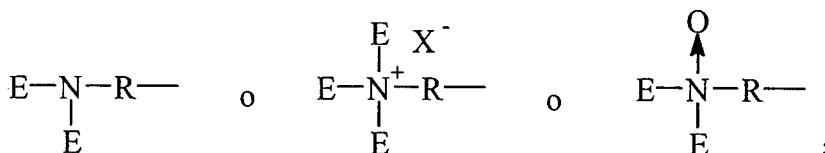


que tiene una fórmula de poliamina modificada $V_{(n+1)}W_mY_nZ$ o una cadena principal poliamínica de fórmula:



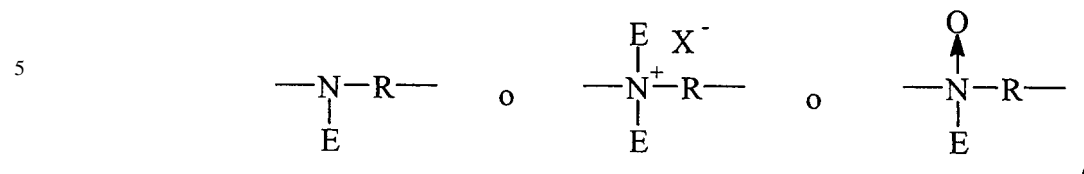
que tiene una fórmula de poliamina modificada $V_{(n-k+1)}W_mY_nY'_kZ$, en donde k es inferior o igual a n, dicha cadena principal poliamínica antes de la modificación tiene un peso molecular superior a aproximadamente 200 daltons, en donde

i) las unidades V son unidades terminales de fórmula:

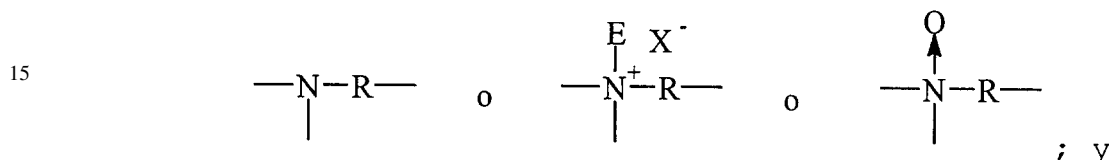


ES 2 268 780 T3

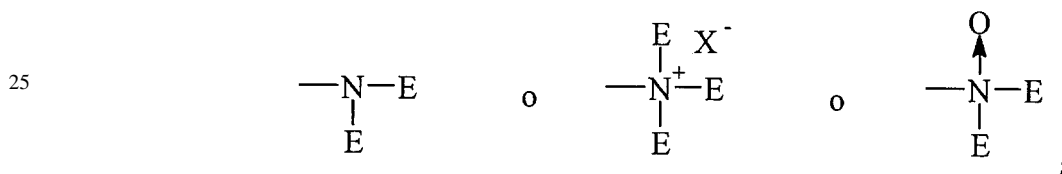
ii) las unidades W son unidades de cadena principal de fórmula:



iii) las unidades Y son unidades de ramificación de fórmula:



iv) las unidades Z son unidades terminales de fórmula:



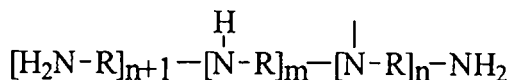
en donde las unidades de unión R de la cadena principal se seleccionan del grupo que consiste en alquileo C₂-C₁₂, alquenileno C₄-C₁₂, hidroxialquileo C₃-C₁₂, dihidroxialquileo C₄-C₁₂, dialquilarileno C₈-C₁₂, -(R¹O)_xR¹-, -(R¹O)_xR²(OR¹)_x-, -(CH₂CH(OR²)CH₂O)_z-(R¹O)_yR¹(OCH₂CH(OR²)CH₂)_w-, -C(O)(R⁴)_rC(O)-, -CH₂CH(OR²)CH₂-, y mezclas de los mismos; en donde R¹ es alquileo C₂-C₆ y mezclas del mismo; R² es hidrógeno, -(R¹O)_xB, y mezclas de los mismos; R³ es alquilo C₁-C₁₈, arilalquilo C₇-C₁₂, arilo sustituido con alquilo C₇-C₁₂, arilo C₆-C₁₂, y mezclas de los mismos; R⁴ es alquileo C₁-C₁₂, alquenileno C₄-C₁₂, arilalquileo C₈-C₁₂, arileno C₆-C₁₀, y mezclas de los mismos; R⁵ es alquileo C₁-C₁₂, hidroxialquileo C₃-C₁₂, dihidroxialquileo C₄-C₁₂, dialquilarileno C₈-C₁₂, -C(O)-, -C(O)NHR⁶NHC(O)-, -R¹(OR¹)-, -C(O)(R⁴)_rC(O)-, -CH₂CH(OH)CH₂-, -CH₂CH(OH)CH₂O(R¹O)_yR¹-OCH₂CH(OH)CH₂-, y mezclas de los mismos; R⁶ es alquileo C₂-C₁₂ o arileno C₆-C₁₂; las unidades E se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₂₂, alquenilo C₃-C₂₂, arilalquilo C₇-C₂₂, hidroxialquilo C₂-C₂₂, -(CH₂)_pCO₂M, -(CH₂)_qSO₃M, -CH(CH₂CO₂M)CO₂M, -(CH₂)_pPO₃M, -(R¹O)_xB, -C(O)R³, y mezclas de los mismos; siempre que cuando cualquier unidad E de un nitrógeno es un hidrógeno, dicho nitrógeno no es también un N-óxido; B es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, -(CH₂)_qSO₃M, -(CH₂)_pCO₂M, -(CH₂)_q(CHSO₃M)CH₂SO₃M, -(CH₂)_q(CHSO₂M)-CH₂SO₃M, -(CH₂)_pPO₃M, -PO₃M, y mezclas de los mismos; M es hidrógeno o un catión hidrosoluble en cantidad suficiente para satisfacer el equilibrio de cargas; X es un anión hidrosoluble;

k y k' tienen el valor de 1 a aproximadamente 15; m tiene el valor de 4 a aproximadamente 400; n tiene el valor de 0 a aproximadamente 200; p tiene el valor de 1 a 6, q tiene el valor de 0 a 6; r tiene el valor 0 ó 1; w tiene el valor 0 ó 1; x tiene el valor de 1 a 100; y tiene el valor de 0 a 100; z tiene el valor 0 ó 1.

Estas poliaminas comprenden cadenas principales que pueden ser lineales o cíclicas. Las cadenas principales poliamínicas pueden comprender también en un mayor o menor grado cadenas de ramificación. En general, las cadenas principales poliamínicas descritas en la presente memoria están modificadas de tal forma que cada nitrógeno de la cadena poliamínica se describe a continuación como una unidad sustituida, cuaternizada, oxidada o combinaciones de las mismas.

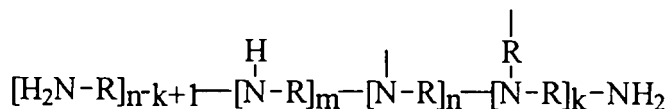
Para los fines de la presente invención el término "modificación" se define como la sustitución de un átomo de hidrógeno de la unidad -NH de la cadena principal por una unidad E (sustitución), la cuaternización de un nitrógeno de la cadena principal (cuaternizado) o la oxidación de un nitrógeno de la cadena principal para formar N-óxido (oxidado). Los términos "modificación" y "sustitución" se utilizan de forma intercambiable cuando se hace referencia al proceso de sustituir un átomo de hidrógeno unido a un nitrógeno de la cadena principal por una unidad E. La cuaternización u oxidación pueden tener lugar en algunos casos sin sustitución, pero preferiblemente la sustitución va acompañada de la oxidación o cuaternización de al menos un nitrógeno de la cadena principal.

Las cadenas principales poliamínicas lineales o no cíclicas comprendidas por los agentes para liberar la suciedad en tejidos de algodón de la presente invención tienen la fórmula general:



5 dichas cadenas principales antes de ser modificadas comprenden nitrógenos de amina primaria, secundaria y terciaria unidos por unidades R “de unión”. Las cadenas principales poliamínicas cíclicas que comprenden los agentes para liberar la suciedad en tejidos de algodón de la presente invención tienen la fórmula general:

10



15 dichas cadenas principales antes de ser modificadas comprenden nitrógenos de amina primaria, secundaria y terciaria unidos por unidades R “de unión”.

20 En la presente invención, los nitrógenos de la amina primaria que comprenden la cadena principal o la cadena de ramificación una vez modificados se definen como unidades “terminales” V o Z. Por ejemplo, cuando un resto de amina primaria situado en el extremo de la cadena principal poliamínica o en la cadena de ramificación que tiene la estructura

25



se modifica según la presente invención, se definirá en lo sucesivo como una unidad V “terminal” o simplemente como una unidad V. Sin embargo, en la presente invención, algunos o todos los restos de amina primaria pueden permanecer sin modificar sujetos a las restricciones que se describirán posteriormente en la presente memoria. Debido a su posición en la cadena principal, estos restos de amina primaria no modificados siguen siendo unidades “terminales”. De modo similar, cuando un resto de amina primaria situado en el extremo de la cadena principal poliamínica que tiene la estructura

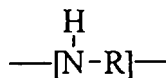
35



se modifica según la presente invención, se definirá en lo sucesivo como una unidad Z “terminal” o simplemente como una unidad Z. Esta unidad puede permanecer sin modificar sujeta a las restricciones que se describirán posteriormente en la presente memoria.

40 De manera similar, los nitrógenos de la amina secundaria que comprenden la cadena principal o la cadena de ramificación una vez modificados se definen como unidades W “de cadena principal”. Por ejemplo, cuando se modifica un resto de amina secundaria, el principal constituyente de las cadenas principales y de las cadenas de ramificación de la presente invención que tiene la estructura

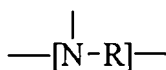
45



50 según la presente invención, en lo sucesivo se define como una unidad W “de cadena principal” o simplemente como una unidad W. Sin embargo, en la presente invención algunos o todos los restos de amina secundaria pueden permanecer sin modificar. Debido a su posición en la “cadena principal”, estos restos de amina secundaria siguen siendo unidades “de cadena principal”.

55 De modo similar, una vez modificados los nitrógenos de la amina terciaria que comprenden la cadena principal o la cadena de ramificación, en lo sucesivo reciben el nombre de unidades “de ramificación”. Por ejemplo, cuando un resto de amina terciaria, que es el punto de ramificación de la cadena principal poliamínica o de otras cadenas de ramificación o anillos que tienen la estructura

60



65 se modifica según la presente invención, en lo sucesivo se define como unidad Y de “ramificación” o simplemente como unidad Y. Sin embargo, en la presente invención algunos o todos los restos de amina terciaria pueden permanecer sin modificar. Debido a su posición en la cadena principal, estos restos de amina terciaria no modificados siguen siendo unidades “de ramificación”. Las unidades R asociadas a los nitrógenos de la unidad V, W e Y que sirven para unir los nitrógenos de la poliamina se describen posteriormente en la presente memoria.

ES 2 268 780 T3

La estructura final modificada de las poliaminas de la presente invención puede, por lo tanto, representarse mediante la fórmula general



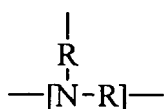
5

para los polímeros poliamínicos para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón lineales y por la fórmula general



10

para los polímeros poliamínicos cíclicos para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón. En el caso de las poliaminas que comprenden anillos, una unidad Y' de fórmula



15

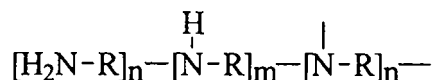
20 sirve como un punto de ramificación de una cadena principal o de un anillo de ramificación. Para cada unidad Y' existe una unidad Y que tiene la fórmula



25

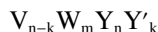
que formará el punto de unión del anillo con la cadena principal polimérica o la ramificación. Únicamente en el caso de que la cadena principal sea un anillo completo, la cadena principal poliamínica tiene la fórmula

30



35

y por lo tanto no comprende ninguna unidad terminal Z y tiene la fórmula



40

en donde k es el número de unidades de ramificación que forman el anillo. Preferiblemente las cadenas principales poliamínicas de la presente invención no comprenden anillos.

En el caso de las poliaminas no cíclicas, el cociente entre el índice n y el índice m indica el grado relativo de ramificación. Una poliamina modificada totalmente lineal no ramificada según la presente invención tiene la fórmula

45



50

es decir, n es igual a 0. Cuanto mayor es el valor de n (menor es la relación m:n), mayor es el grado de ramificación en la molécula. De forma típica el valor de m está en el intervalo de como mínimo 4 a aproximadamente 400, aunque también se prefieren valores mayores de m, especialmente cuando el valor del índice n es muy bajo o casi 0.

55

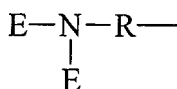
Cada nitrógeno de la poliamina, independientemente de si es primaria, secundaria o terciaria, una vez modificado según la presente invención, se define además como perteneciente a un miembro de una de las tres clases generales: con sustitución simple, cuaternizado u oxidado. Las unidades nitrógeno de poliamina no modificadas se clasifican en unidades V, W, Y o Z dependiendo de si son nitrógenos primarios, secundarios o terciarios. Es decir, para los fines de la presente invención los nitrógenos de amina primaria no modificados son unidades V o Z, los nitrógenos de amina secundaria no modificados son unidades W y los nitrógenos de amina terciaria no modificados son unidades Y.

60

Los restos de amina primaria modificados se definen como unidades "terminales" V que tienen una de las tres formas:

a) unidades con sustitución simple que tienen la estructura:

65



b) unidades cuaternizadas que tienen la estructura:



en donde X es un contraión apropiado que proporciona el equilibrio de cargas y

c) unidades oxidadas que tienen la estructura:



25 Los restos amina secundaria modificados se definen como unidades W “de cadena principal” que tiene una de las tres formas siguientes:

a) unidades con sustitución simple que tienen la estructura:



b) unidades cuaternizadas que tienen la estructura:



en donde X es un contraión apropiado que proporciona el equilibrio de cargas y

c) unidades oxidadas que tienen la estructura:

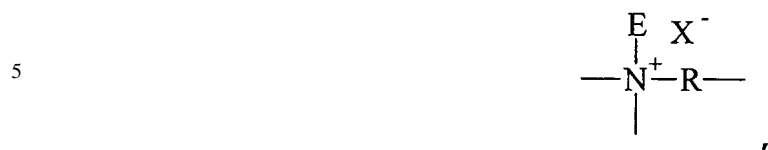


60 Los restos de amina terciaria modificada se definen como unidades Y “de ramificación” que tienen una de las tres formas siguientes:

a) unidades no modificadas que tienen la estructura:



b) unidades cuaternizadas que tienen la estructura:



10 en donde X es un contraión apropiado que proporciona el equilibrio de cargas y

c) unidades oxidadas que tienen la estructura:



Ciertos restos de amina primaria modificada se definen como unidades Z “terminales” que tienen una de las tres formas siguientes:

a) unidades con sustitución simple que tienen la estructura:



b) unidades cuaternizadas que tienen la estructura:



en donde X es un contraión apropiado que proporciona el equilibrio de cargas y

c) unidades oxidadas que tienen la estructura:



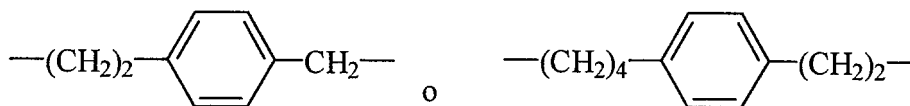
55 Cuando cualquier posición en un nitrógeno no está sustituida o modificada, se sobreentiende que el hidrógeno será sustituido por E. Así, por ejemplo, una unidad amina primaria que comprende una unidad E en forma de un resto hidroxietilo es una unidad terminal V que tiene la fórmula (HOCH₂CH₂)HN-.

60 En la presente invención existen dos tipos de unidades terminales de cadena, las unidades V y las unidades Z. La unidad Z “terminal” se deriva de un resto amina primaria terminal de la estructura -NH₂. Las cadenas principales poliamínicas no cíclicas según la presente invención comprenden únicamente una unidad Z mientras que las poliaminas cíclicas pueden no comprender unidades Z. La unidad Z “terminal” puede ser sustituida por cualquiera de las unidades E descritas más adelante en la presente memoria, salvo cuando la unidad Z está modificada para formar un N-óxido. Si el nitrógeno de la unidad Z está oxidado a N-óxido, el nitrógeno debe ser modificado y, por tanto, E no puede ser un hidrógeno.

65 Las poliaminas de la presente invención comprenden unidades R “de unión” de la cadena principal que sirven para unir los átomos de nitrógeno de la cadena principal. Las unidades R comprenden unidades que en la presente invención reciben el nombre de unidades R “hidrocarbilo” y unidades R “oxi”. Las unidades R “hidrocarbilo” son alquileo C₂-C₁₂, alquenileno C₄-C₁₂, hidroxialquileo C₃-C₁₂ en donde el resto hidroxilo puede tener cualquier posición en la

ES 2 268 780 T3

cadena de unidades R salvo en los átomos de carbono directamente unidos a los nitrógenos de la cadena principal poliamínica; dihidroxialquileno C₄-C₁₂ en donde los restos hidroxilo pueden ocupar cualquiera de los dos átomos de carbono de la cadena de unidades R salvo los átomos de carbono directamente unidos a los nitrógenos de la cadena principal poliamínica; dialquilarileno C₈-C₁₂ que para los fines de la presente invención son restos arileno que tienen dos grupos sustituyentes alquilo como parte de la cadena de unión. Por ejemplo, una unidad dialquilarileno tiene la fórmula



aunque la unidad no necesita ser 1,4-sustituida, pero también puede ser 1,2 ó 1,3 alquilen C₂-C₁₂ sustituida, preferiblemente etileno, 1,2-propileno, y mezclas de los mismos, más preferiblemente etileno. Las unidades R "oxi" comprenden $-(\text{R}^1\text{O})_x\text{R}^5(\text{OR}^1)_x-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OR}^2)\text{CH}_2\text{O}(\text{R}^1\text{O})_y\text{R}^1(\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OR}^2)\text{CH}_2)_w-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OR}^2)\text{CH}_2-$, $-(\text{R}^1\text{O})_x\text{R}^1-$, y mezclas de los mismos. Las unidades R preferidas son alquilen C₂-C₁₂, hidroxialquileno C₃-C₁₂, dihidroxialquileno C₄-C₁₂, dialquilarileno C₈-C₁₂, $-(\text{R}^1\text{O})_x\text{R}^1-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OR}^2)\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O})_z(\text{R}^1\text{O})_y\text{R}^1(\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2)_w-$, $-(\text{R}^1\text{O})_x\text{R}^5(\text{OR}^1)_x-$, unidades R más preferidas son alquilen C₂-C₁₂, hidroxialquileno C₃-C₁₂, dihidroxialquileno C₄-C₁₂, $-(\text{R}^1\text{O})_x\text{R}^1-$, $-(\text{R}^1\text{O})_x\text{R}^5(\text{OR}^1)_x-$, $-(\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O})_z(\text{R}^1\text{O})_y\text{R}^1(\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2)_w-$, y mezclas de las mismas, unidades R incluso más preferidas son alquilen C₂-C₁₂, hidroxialquileno C₃, y mezclas de las mismas, siendo las más preferidas alquilen C₂-C₆. Las cadenas principales más preferidas de la presente invención comprenden como mínimo 50% de unidades R que son etileno.

Las unidades R¹ son alquilen C₂-C₆, y mezclas del mismo, preferiblemente etileno.

R² es hidrógeno o $-(\text{R}^1\text{O})_xB$, preferiblemente hidrógeno.

R³ es alquilo C₁-C₁₈, arilalquilen C₇-C₁₂, arilo sustituido con alquilo C₇-C₁₂, arilo C₆-C₁₂, y mezclas de los mismos, preferiblemente alquilo C₁-C₁₂, arilalquilen C₇-C₁₂, más preferiblemente alquilo C₁-C₁₂ y con máxima preferencia metilo. Las unidades R³ sirven como parte de las unidades E descritas más adelante en la presente memoria.

R⁴ es alquilen C₁-C₁₂, alquilen C₄-C₁₂, arilalquilen C₈-C₁₂, arileno C₆-C₁₀, preferiblemente alquilen C₁-C₁₀, arilalquilen C₈-C₁₂, más preferiblemente alquilen C₂-C₈ y con máxima preferencia etileno o butileno.

R⁵ es alquilen C₁-C₁₂, hidroxialquilen C₃-C₁₂, dihidroxialquilen C₄-C₁₂, dialquilarileno C₈-C₁₂, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}^6\text{NHC}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})(\text{R}^4)_r\text{C}(\text{O})-$, $-\text{R}^1(\text{OR}^1)-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O}(\text{R}^1\text{O})_y\text{R}^1\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, $-\text{C}(\text{O})(\text{R}^4)_r\text{C}(\text{O})-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, R⁵ es preferiblemente etileno, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}^6\text{NHC}(\text{O})-$, $-\text{R}^1(\text{OR}^1)-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O}(\text{R}^1\text{O})_y\text{R}^1\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, más preferiblemente $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$.

R⁶ es alquilen C₂-C₁₂ o arileno C₆-C₁₂.

Las unidades R "oxi" preferidas también se definen en términos de las unidades R¹, R² y R⁵. Las unidades R "oxi" preferidas comprenden las unidades R¹, R² y R⁵ preferidas. Los agentes para liberar la suciedad en tejidos de algodón preferidos en la presente invención comprenden al menos 50% de unidades R¹ que son etileno. Las unidades R¹, R² y R⁵ preferidas se combinan con unidades R "oxi" para obtener las unidades R "oxi" preferidas de la siguiente manera:

i) La sustitución de las unidades R⁵ más preferidas en $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{R}^5(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x-$ proporciona $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x-$.

ii) La sustitución de las unidades R¹ y R² preferidas en $-(\text{CH}_2\text{CH}(\text{OR}^2)\text{CH}_2\text{O})_z(\text{R}^1\text{O})_y\text{R}^1\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{OR}^2)\text{CH}_2)_w-$ proporciona $-(\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O})_z(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2)_w-$.

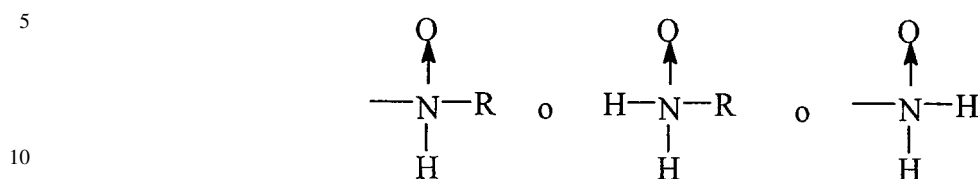
iii) La sustitución de las unidades R² preferidas en $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OR}^2)\text{CH}_2-$ proporciona



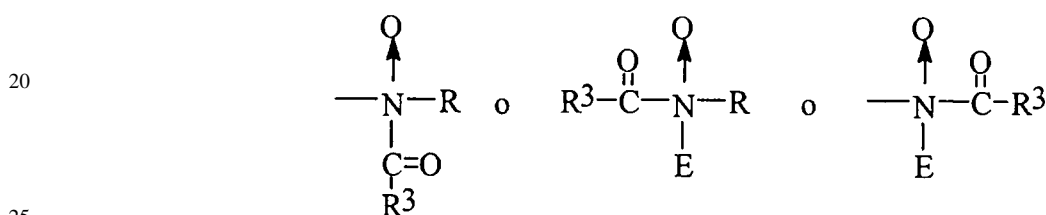
Las unidades E se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₂₂, alquilen C₃-C₂₂, arilalquilo C₇-C₂₂, hidroxialquilo C₂-C₂₂, $-(\text{CH}_2)_p\text{CO}_2\text{M}$, $-(\text{CH}_2)_q\text{SO}_3\text{M}$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{M})\text{CO}_2\text{M}$, $-(\text{CH}_2)_p\text{PO}_3\text{M}$, $-(\text{R}^1\text{O})_m\text{B}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^3$, preferiblemente hidrógeno, hidroxialquilen C₂-C₂₂, bencilo, alquilen C₁-C₂₂, $-(\text{R}^1\text{O})_m\text{B}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^3$, $-(\text{CH}_2)_p\text{CO}_2\text{M}$, $-(\text{CH}_2)_q\text{SO}_3\text{M}$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{M})\text{CO}_2\text{M}$, más preferiblemente alquilen C₁-C₂₂, $-(\text{R}^1\text{O})_xB$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^3$, $-(\text{CH}_2)_p\text{CO}_2\text{M}$, $-(\text{CH}_2)_q\text{SO}_3\text{M}$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{M})\text{CO}_2\text{M}$, con máxima preferencia alquilen C₁-C₂₂, $-(\text{R}^1\text{O})_xB$, y $-\text{C}(\text{O})\text{R}^3$. Si no se ha realizado ninguna modificación o sustitución en un nitrógeno, entonces el átomo de hidrógeno sigue siendo el resto que representa a E.

ES 2 268 780 T3

Las unidades E no comprenden un átomo de hidrógeno cuando las unidades V, W o Z están oxidadas, es decir, los nitrógenos son N-óxidos. Por ejemplo, la cadena principal o las cadenas de ramificación no comprenden unidades de la siguiente estructura:



Además, las unidades E no comprenden restos carbonilo unidos directamente a un átomo de nitrógeno cuando las unidades V, W o Z están oxidadas, es decir, los nitrógenos son N-óxidos. Según la presente invención, la unidad E -C(O)R³ no está unida a un nitrógeno modificado a N-óxido, es decir, no existen N-óxido amidas con la estructura



o combinaciones de las mismas.

B es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, -(CH₂)_qSO₃M, -(CH₂)_pCO₂M, -(CH₂)_q-(CHSO₃M)CH₂SO₃M, -(CH₂)_q(CHSO₂M)CH₂SO₃M, -(CH₂)_pPO₃M, -PO₃M, preferiblemente hidrógeno, -(CH₂)_qSO₃M, -(CH₂)_q(CHSO₃M)CH₂SO₃M, -(CH₂)_q-(CHSO₂M)CH₂SO₃M, más preferiblemente hidrógeno o -(CH₂)_qSO₃M.

30

M es hidrógeno o un catión hidrosoluble en cantidad suficiente para satisfacer el equilibrio de cargas. Por ejemplo, un catión sodio satisface igualmente -(CH₂)_pCO₂M, y -(CH₂)_qSO₃M, proporcionando restos -(CH₂)_pCO₂Na y -(CH₂)_qSO₃Na. Se puede combinar más de un catión monovalente, (sodio, potasio, etc.) para satisfacer el equilibrio de cargas químico requerido. Sin embargo, más de un grupo aniónico puede presentar equilibrio de cargas mediante un catión divalente o puede ser necesario más de un catión monovalente para satisfacer los requerimientos de carga de un radical polianiónico. Por ejemplo, un resto -(CH₂)_pPO₃M sustituido con átomos de sodio tiene la fórmula -(CH₂)_pPO₃Na₃. Los cationes divalentes como el calcio (Ca²⁺) o el magnesio (Mg²⁺) pueden sustituirse o combinarse con otros cationes hidrosolubles monovalentes adecuados. Los cationes preferidos son sodio y potasio y el más preferido es sodio.

35

40

X es un anión hidrosoluble como cloro (Cl⁻), bromo (Br⁻) o yodo

(I⁻) o X puede ser cualquier radical con carga negativa tal como sulfato (SO₄²⁻) y metosulfato (CH₃SO₃⁻).

45

Los índices de la fórmula tienen los siguientes valores: p tiene el valor de 1 a 6, q tiene el valor de 0 a 6; r tiene el valor 0 ó 1; w tiene el valor 0 ó 1, x tiene el valor de 1 a 100; y tiene el valor de 0 a 100; z tiene el valor 0 ó 1; k es inferior o igual al valor de n; m tiene el valor de 4 a aproximadamente 400, n tiene el valor de 0 a aproximadamente 200; m + n tiene el valor de al menos 5.

50

Los agentes para liberar la suciedad de tejidos de algodón preferidos en la presente invención comprenden cadenas principales poliamínicas en donde menos de aproximadamente 50% de los grupos R comprenden unidades R "oxi", preferiblemente menos de aproximadamente 20%, más preferiblemente menos de 5% y con máxima preferencia las unidades R no comprenden unidades R "oxi".

55

Los agentes para liberar la suciedad de tejidos de algodón que no comprenden unidades R "oxi" más preferidos comprenden cadenas principales poliamínicas en donde menos de 50% de los grupos R comprenden más de 3 átomos de carbono. Por ejemplo, etileno, 1,2-propileno y 1,3-propileno comprenden 3 o menos átomos de carbono y son las unidades R "hidrocarbilo" preferidas. Es decir, cuando las unidades R de la cadena principal son alquilenos C₂-C₁₂, se prefiere alquilenos C₂-C₃, siendo el más preferido el etileno.

60

Los agentes para liberar la suciedad de tejidos de algodón de la presente invención comprenden cadenas principales poliamínicas modificadas homogéneas y no homogéneas, en donde 100% o menos de las unidades -NH están modificadas. En la presente invención el término "cadena principal poliamínica homogénea" se define como una cadena principal poliamínica que tiene unidades R que son iguales (p. ej., todas etileno). Sin embargo, la definición de uniformidad no excluye poliaminas que comprenden otras unidades extrañas que comprenden la cadena principal polimérica y que están presentes debido a una impureza del método de síntesis química elegido. Por ejemplo, los expertos

65

ES 2 268 780 T3

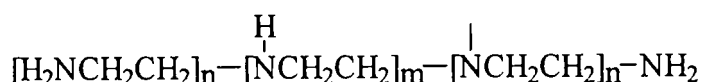
en la técnica saben que como “iniciador” de la síntesis de polietileniminas se puede utilizar etanolamina, por lo que una muestra de polietilenimina que comprende un resto hidroxietilo resultante del “iniciador” de la polimerización se consideraría que comprende una cadena principal poliamínica homogénea de la presente invención. Una cadena principal poliamínica que comprende todas las unidades R etileno en las que no existen unidades Y de ramificación es una cadena principal homogénea. Una cadena principal poliamínica que comprende todas las unidades R etileno es una cadena principal homogénea independientemente del grado de ramificación o del número de ramificaciones cíclicas presente.

En la presente invención el término “cadena principal polimérica no homogénea” se refiere a cadenas principales poliamínicas que son una mezcla de unidades R de distintas longitudes y unidades R de distintos tipos. Por ejemplo, una cadena principal no homogénea comprende unidades R que son una mezcla de unidades etileno y unidades 1,2-propileno. En la presente invención no es necesaria una mezcla de unidades R “hidrocarbilo” y unidades R “oxi” para obtener una cadena principal no homogénea. La manipulación adecuada de estas “longitudes de cadena de unidades R” permite al formulador modificar la solubilidad y la eficacia de los agentes para liberar la suciedad en tejidos de algodón de la presente invención.

Los polímeros para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón preferidos en la presente invención comprenden cadenas principales poliamínicas homogéneas que están total o parcialmente sustituidas por restos polietilenoxi, aminas total o parcialmente cuaternizadas, nitrógenos total o parcialmente oxidados a N-óxido, y mezclas de los mismos. Sin embargo, no todos los nitrógenos de la amina de la cadena principal deben estar modificados del mismo modo, dejándose la elección de la modificación a las necesidades específicas del formulador. El grado de etoxilación también viene determinado por los requisitos específicos del formulador.

Las poliaminas preferidas que comprenden la cadena principal de los compuestos de la presente invención son generalmente polialquilenamias (PAAs), polialquileniminas (PAIs), preferiblemente polietilenaminas (PEAs), polietileniminas (PEIs), o PEAs o PEIs unidos por restos que tienen unidades R más largas que los PAAs, PAIs, PEAs o PEIs precursores. Una polialquilenamias (PAA) común es la tetrabutilpentamina. Las PEAs se obtienen mediante reacciones que implican amoníaco y dicloruro de etileno, seguidas de una destilación fraccionada. Las PEAs comunes obtenidas son trietilentetramina (TETA) y tetraetilpentamina (TEPA). Por encima de las pentaminas, es decir, las hexaminas, heptaminas, octaminas y, posiblemente, nonaminas, la mezcla cogenéricamente derivada no parece separarse por destilación y puede incluir otros materiales tales como aminas cíclicas, particularmente piperazinas. También pueden estar presentes aminas cíclicas con cadenas laterales con átomos de nitrógeno. Véase la patente US-2.792.372, concedida a Dickinson el 14 de mayo de 1957, que describe la preparación de PEAs.

Las cadenas principales de polímero amínico preferidas comprenden unidades R que son unidades alquileo (etileno) C₂, también conocidas como polietileniminas (PEIs). Las PEIs preferidas tienen al menos una ramificación moderada, es decir la relación m:n es inferior a 4:1, aunque las PEIs que tienen una relación m:n de aproximadamente 2:1 son más preferidas. Las cadenas principales preferidas, antes de la modificación tienen la fórmula general:



en donde m y n son iguales según se ha definido anteriormente en la presente memoria. Las PEIs preferidas, antes de la modificación, tendrán un peso molecular superior a aproximadamente 200 daltons.

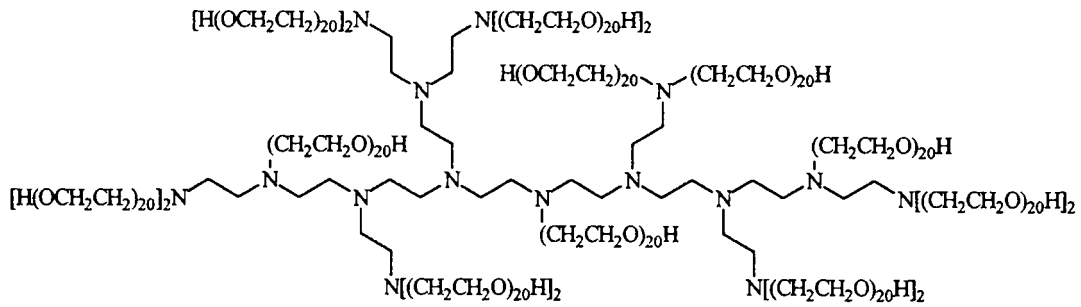
Las proporciones relativas de unidades de amina primaria, secundaria y terciaria en la cadena principal poliamínica, especialmente en el caso de las PEI, variarán dependiendo de la forma de preparación. Cada átomo de hidrógeno unido a cada de nitrógeno de la cadena principal poliamínica representa un posible sitio para una posterior sustitución, cuaternización u oxidación.

Estas poliaminas se pueden preparar, por ejemplo, por polimerización de la etilenimina en presencia de un catalizador como dióxido de carbono, bisulfito sódico, ácido sulfúrico, peróxido de hidrógeno, ácido clorhídrico, ácido acético, etc. Los métodos específicos para preparar estas cadenas principales poliamínicas se describen en las patentes US-2.182.306, concedida a Ulrich y col. el 5 de diciembre de 1939; US-3.033.746, concedida a Mayle y col. el 8 de mayo de 1962; US-2.208.095, concedida a Esselmann y col. el 16 de julio de 1940; US-2.806.839, concedida a Crowther el 17 de septiembre de 1957; y US-2.553.696, concedida a Wilson el 21 de mayo de 1951.

Ejemplos de polímeros para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón modificados de la presente invención que comprenden PEIs son los ilustrados en las fórmulas I-V:

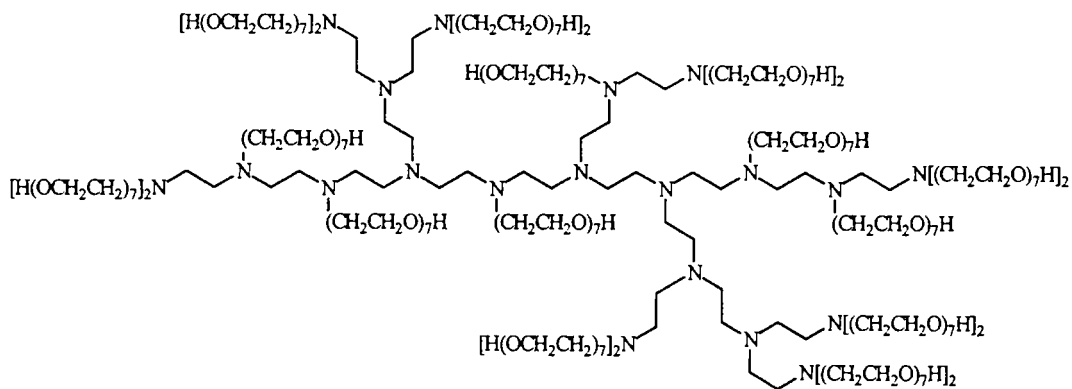
La Fórmula I ilustra un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón preferido que comprende una cadena principal PEI en donde todos los nitrógenos sustituibles están modificados por sustitución de hidrógeno por una unidad polioxialquilenoxi, -(CH₂CH₂O)₂₀H, que tiene la fórmula:

ES 2 268 780 T3



Fórmula I

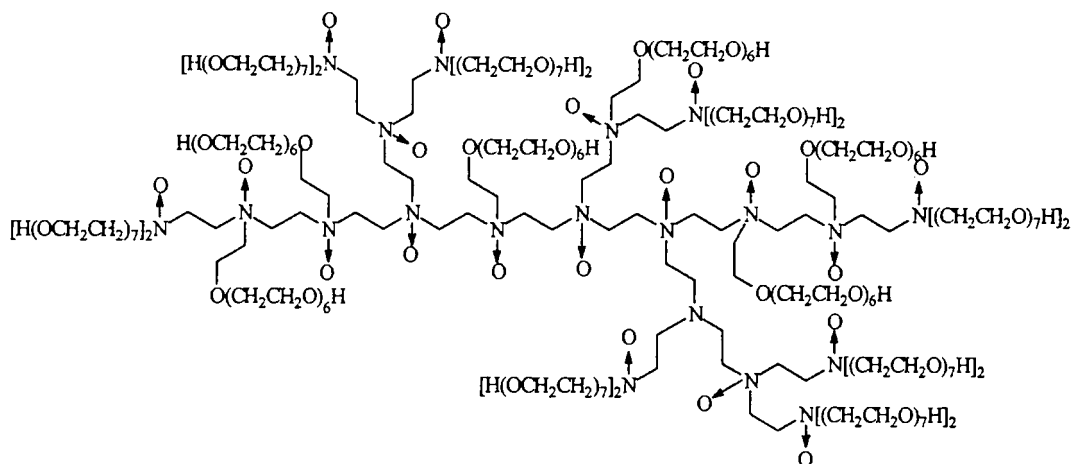
La Fórmula II ilustra un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón que comprende una cadena principal PEI en donde todos los nitrógenos sustituibles están modificados por sustitución de hidrógeno por una unidad polioxialquilenoxi, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_7\text{H}$, que tiene la fórmula



Fórmula II

Este es un ejemplo de un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón que está totalmente modificado por un tipo de resto.

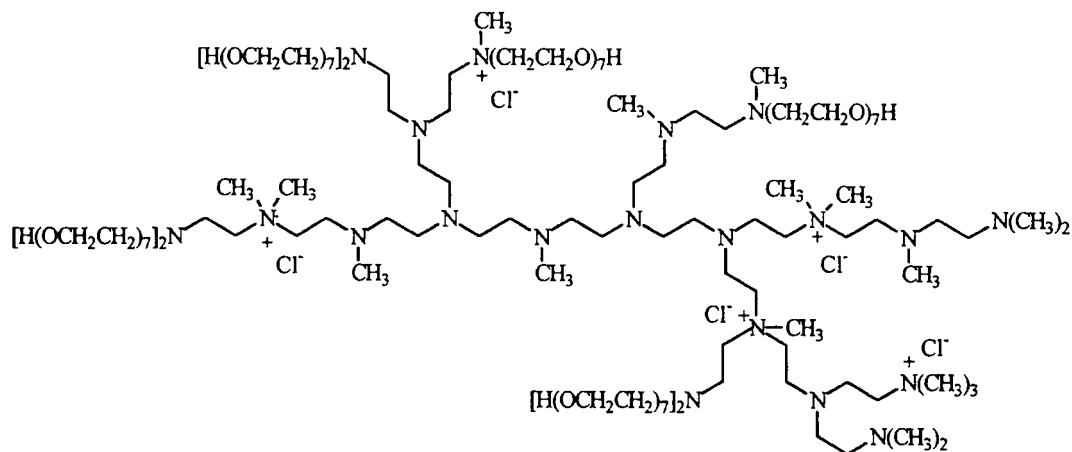
La Fórmula III ilustra un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón que comprende una cadena principal PEI en donde todos los nitrógenos de amina primaria sustituibles están modificados por sustitución de hidrógeno por una unidad polioxialquilenoxi, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_7\text{H}$ y la molécula es a continuación modificada por una posterior oxidación de todos los nitrógenos primarios y secundarios oxidables a N-óxido, teniendo dicho agente para liberar la suciedad de tejidos de algodón la fórmula



Fórmula III

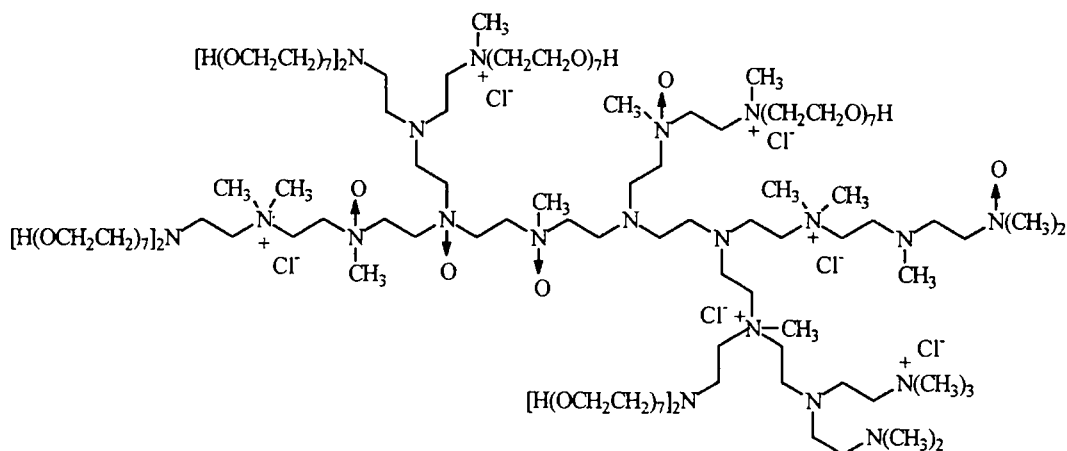
ES 2 268 780 T3

La Fórmula IV ilustra un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón que comprende una cadena principal PEI en donde todos los átomos de hidrógeno de la cadena principal están sustituidos y algunas unidades amina de la cadena principal están cuaternizadas. Los sustituyentes son unidades polioxialquilenoxi, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_7\text{H}$, o grupos metilo. El polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón con PEI modificada tiene la fórmula



Fórmula IV

La Fórmula V ilustra un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón que comprende una cadena principal PEI en la que los nitrógenos de la cadena principal están modificados por sustitución (por ej., por $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_7\text{H}$ o metilo), cuaternizados, oxidados a N-óxidos o combinaciones de los mismos. El polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón resultante tiene la fórmula



Fórmula V

En los ejemplos anteriores, no todos los nitrógenos de una clase de unidad comprenden la misma modificación. La presente invención permite al formulador tener una parte de los nitrógenos de amina secundaria etoxilados y tener otros nitrógenos de amina secundaria oxidados a N-óxido. Esto también es aplicable a los nitrógenos de amina primaria, en donde el formulador puede elegir modificar todos o parte de los nitrógenos de amina primaria con uno o más sustituyentes antes de la oxidación o la cuaternización. Puede sustituirse cualquier posible combinación de grupos E en los nitrógenos de amina primaria y secundaria, excepto por las restricciones descritas anteriormente en la presente memoria.

El formulador puede aprovechar la posibilidad de modificar las cadenas principales poliamínicas de la presente invención de manera que sólo se requiera una oxidación mínima de las cadenas principales del sustrato. Por ejemplo, puede realizarse un "templado" de blanqueo antes o después de la formulación. Para los fines de la presente invención, la expresión "templado de blanqueo" se define como tratar la poliamina modificada con suficiente agente blanqueador como para oxidar la cadena principal frente a las condiciones de formulación. A título ilustrativo, una cadena principal poliamínica no requiere necesariamente una modificación total por cuaternización o N-oxidación para ser estable al blanqueador. Cuando una muestra de cadena principal poliamínica modificada es expuesta a un sistema blanquea-

ES 2 268 780 T3

5 dor adecuado (por ejemplo, sulfonato/perborato de nonanoiloxibenceno), cualquier nitrógeno de la cadena principal oxidable se oxidará en estas condiciones. Sin embargo, debido a las propiedades estructurales exactas de la cadena principal, algunos o todos los nitrógenos del tratamiento preblanqueador pueden no verse afectados. Una vez realizado este templado, el formulador puede combinar la poliamina modificada con el sistema blanqueador y estar seguro de que la poliamina no consumirá la mayor parte del agente blanqueador.

El experto en la técnica de formulaciones blanqueadoras reconocerá que el templado de blanqueo tiene sus limitaciones y que no debería utilizarse un templado de blanqueo más débil en lugar del blanqueo de la formulación.

10 En otro modo, el formulador puede desear añadir un exceso de agente blanqueador a la composición detergente de lavado de ropa durante la formulación para realizar *in situ* un “templado” de blanqueo adecuado durante el almacenamiento y la manipulación de la formulación.

15 Una realización preferida de la presente invención implica el uso de tensioactivo de tipo polihidroxiamida de ácido graso junto con las poliaminas modificadas descritas en la presente memoria. Esta combinación de tensioactivo no iónico y poliamina modificada es especialmente útil en formulaciones de bajo pH, es decir, un pH inferior a aproximadamente 10. La polihidroxiamida de ácido graso adecuada para su uso en las realizaciones de bajo pH de la presente invención puede ser combinada con otros tensioactivos detergentes adecuados tales como tensioactivos aniónicos, anfóteros, de ion híbridos, y mezclas de los mismos.

20 Para la finalidad de la presente invención se prefiere el polímero para la liberación de la suciedad para tejidos de algodón de tipo polietilenoiminina seleccionadas de polietilenoiminina 1800E7 y sus derivados de óxido de amina, polietilenoiminina 1200E7 y sus derivados oxidados y/o cuaternizados, polietilenoiminina 600E20, y/o mezclas de las mismas como se describe en los Ejemplos 1-4 de WO97/42288.

25 *Componentes detergentes*

Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la invención deben contener al menos un componente detergente adicional. La naturaleza precisa de estos componentes adicionales y los niveles de incorporación de los mismos dependerán de la forma física de la composición y de la naturaleza de la operación de limpieza para la que van a ser utilizados.

35 Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención preferiblemente comprenden asimismo otro ingrediente detergente seleccionado de un aditivo reforzante de la detergencia, especialmente una zeolita, un tripolifosfato sódico y/o silicato laminar, un tensioactivo, preferiblemente un tensioactivo no iónico como alquiletoxilato o alquilmetil glucamida, un polímero para la liberación de la suciedad convencional y/o mezclas de los mismos.

40 Las composiciones detergentes de lavado de ropa según la invención pueden estar en forma de líquido, pasta, gel, barra, pastilla, pulverización, espuma, polvo o granulado. Las composiciones granuladas también pueden estar en forma “compacta” y las composiciones líquidas también pueden estar en forma “concentrada”.

45 Las composiciones de la invención pueden formularse, por ejemplo, como composiciones detergentes para el lavado de ropa a mano o a máquina incluyendo las composiciones con aditivo de lavado de ropa y composiciones adecuadas de uso en el remojo y/o pretratamiento de los tejidos sucios y en las composiciones de suavizante de los tejidos añadidas durante el aclarado.

50 Cuando las composiciones de la invención están formuladas como composiciones adecuadas para su uso en un método para lavado en lavadora, preferiblemente contienen un tensioactivo y un aditivo reforzante de la detergencia y además uno o más componentes detergente preferiblemente seleccionados de compuestos poliméricos orgánicos, agentes blanqueadores, enzimas adicionales, antiespumantes, dispersante, dispersante de jabón de cal, suspensores de manchas y agentes antirredeposición e inhibidores de la corrosión. Las composiciones de lavado pueden contener además suavizantes como componentes detergente suplementarios. Estas composiciones que contienen una mananasa y un polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón pueden proporcionar ventajas de limpieza de tejidos, eliminación de manchas, mantenimiento de la blancura y aspecto de color cuando se formulan como composiciones detergentes de lavado de ropa.

60 Las composiciones de la invención también pueden ser utilizadas como aditivos detergentes en forma sólida o líquida. Estos aditivos están previstos para complementar o mejorar el rendimiento de las composiciones detergentes convencionales y pueden ser añadidos en cualquier etapa del proceso de limpieza.

En caso necesario, la densidad de las composiciones detergentes para el lavado de ropa de la presente invención puede oscilar de 400 a 1200 g/litro, preferiblemente de 500 a 950 g/litro, de las composiciones medidas a 20°C.

65 La forma “compacta” de las composiciones de la presente invención queda reflejada de forma óptima por la densidad y, en términos de composición, por la cantidad de sal de carga inorgánica. Las sales de carga inorgánicas son ingredientes convencionales de las composiciones detergentes en polvo; en las composiciones detergentes convencionales la sal de carga está presente en cantidades importantes, de forma típica del 17% al 35% en peso de la composición total.

ES 2 268 780 T3

En las composiciones compactas, la sal de carga está presente en cantidades que no superan el 15% de la composición total, preferiblemente que no superan el 10% y con máxima preferencia que no superan el 5%, en peso de la composición. Las sales de carga inorgánicas, como las utilizadas en las presentes composiciones, se seleccionan de las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos de sulfatos y cloruros. Una sal de carga preferida es el sulfato sódico.

5

Las composiciones líquidas detergentes según la presente invención también pueden estar en “forma concentrada”, en cuyo caso las composiciones líquidas detergentes según la presente invención contendrán una cantidad de agua inferior a la de los detergentes líquidos convencionales. De forma típica el contenido de agua del detergente líquido concentrado es preferiblemente inferior al 40%, más preferiblemente inferior al 30% y con máxima preferencia inferior al 20%, en peso de la composición detergente.

10

Los compuestos detergentes adecuados de uso en la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en los compuestos que figuran a continuación.

15 *Sistema tensioactivo*

Preferiblemente, las composiciones detergentes de lavado de ropa según la presente invención también pueden comprender un sistema tensioactivo en donde el tensioactivo puede seleccionarse de tensioactivos no iónicos y/o aniónicos y/o catiónicos y/o anfóteros y/o de ion híbrido y/o semipolares. Especialmente, las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención comprenderán, además de la enzima mananasa y del polímero para la liberación de la suciedad en tejidos de algodón, un tensioactivo no iónico, preferiblemente alquiletoxilado con una longitud de cadena de C8 a C20, preferiblemente de C12 a C16, y un grado de etoxilación de 2 a 9, preferiblemente de 3 a 7, o un tensioactivo de tipo alquilmetil glucamina con una longitud de cadena alquílica de C8 a C20, preferiblemente de C12 a C18. Se ha observado de forma sorprendente que estas composiciones proporcionan mejor capacidad limpiadora, especialmente de manchas de cosméticos y alimentos, y mayores ventajas de liberación de la suciedad.

20

El otro tensioactivo está de forma típica presente a un nivel de 0,1% a 60% en peso. Los niveles de incorporación más preferidos son de 1% a 35% en peso, con máxima preferencia de 1% a 30% en peso, de las composiciones detergentes de lavado de ropa de acuerdo con la invención.

30

El tensioactivo se formula preferiblemente para que sea compatible con los componentes enzimáticos presentes en la composición. En composiciones líquidas o en gel, el tensioactivo se formula con máxima preferencia de manera que mejore, o al menos no reduzca, la estabilidad de las enzimas presentes en estas composiciones.

35

Los condensados de poli(óxido de etileno), poli(óxido de propileno) y poli(óxido de butileno) de los alquil fenoles son adecuados para su uso como el tensioactivo no iónico de los sistemas tensioactivos de la presente invención, siendo los condensados de poli(óxido de etileno) los preferidos. Estos compuestos incluyen los productos de condensación de alquilfenoles con un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 átomos de carbono, preferiblemente de aproximadamente 8 a aproximadamente 14 átomos de carbono, en configuración de cadena lineal o cadena ramificada con el óxido de alquileno. En una realización preferida, el óxido de etileno está presente en una cantidad equivalente de aproximadamente 2 a aproximadamente 25 moles, más preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 15 moles, de óxido de etileno por mol de alquilfenol. Tensioactivos no iónicos comerciales de este tipo incluyen Igepal™ CO-630, comercializado por GAF Corporation; y Triton™ X-45, X-114, X-100 y X-102, todos comercializados por Rohm & Haas Company. Estos tensioactivos se denominan genéricamente alquil fenol alcóxilatos (por ejemplo alquilfenol etoxilatos).

45

Los productos de condensación de los alcoholes alifáticos primarios y secundarios que tienen de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 moles de óxido de etileno resultan adecuados para su uso como el tensioactivo no iónico de los sistemas tensioactivos no iónicos de la presente invención. La cadena alquílica del alcohol alifático puede ser lineal o ramificada, primaria o secundaria y, generalmente, contiene de aproximadamente 8 a aproximadamente 22 átomos de carbono. Se da preferencia a los productos de condensación de alcoholes con un grupo alquilo que contiene de aproximadamente 8 a aproximadamente 20 átomos de carbono, más preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 18 átomos de carbono, con de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 moles de óxido de etileno por mol de alcohol. Están presentes en dichos productos de condensación de aproximadamente 2 a aproximadamente 7 moles de óxido de etileno y con máxima preferencia de 2 a 5 moles de óxido de etileno por mol de alcohol. Ejemplos de tensioactivos no iónicos comerciales de este tipo incluyen Tergitol™ 15-S-9 (el producto de condensación del alcohol C₁₁-C₁₅ lineal con 9 moles de óxido de etileno), Tergitol™ 24-L-6 NMW (el producto de condensación del alcohol C₁₂-C₁₄ primario con 6 moles de óxido de etileno con una distribución estrecha de peso molecular), ambos comercializados por Union Carbide Corporation; Neodol™ 45-9 (el producto de condensación del alcohol C₁₄-C₁₅ lineal con 9 moles de óxido de etileno), Neodol™ 23-3 (el producto de condensación del alcohol C₁₂-C₁₃ lineal con 3,0 moles de óxido de etileno), Neodol™ 45-7 (el producto de condensación del alcohol C₁₄-C₁₅ lineal con 7 moles de óxido de etileno), Neodol™ 45-5 (el producto de condensación del alcohol C₁₄-C₁₅ lineal con 5 moles de óxido de etileno) comercializado por Shell Chemical Company, Kyro™ EOB (el producto de condensación del alcohol C₁₃-C₁₅ con 9 moles de óxido de etileno), comercializado por The Procter & Gamble Company, y Genapol LA O3O u O5O (el producto de condensación del alcohol C₁₂-C₁₄ con 3 ó 5 moles de óxido de etileno) comercializado por Hoechst. El intervalo preferido de HLB en estos productos es de 8-11 y con máxima preferencia de 8-10.

65

ES 2 268 780 T3

También útiles como el tensioactivo no iónico de los sistemas tensioactivos de la presente invención son los alquilpolisacáridos descritos en la patente US-4.565.647, concedida a Llenado el 21 de enero de 1986, que tienen un grupo hidrófobo que contiene de aproximadamente 6 a aproximadamente 30 átomos de carbono, preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 16 átomos de carbono, y un polisacárido, p. ej., un grupo hidrófilo de poliglicósido que contiene de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 10, preferiblemente de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 3 y con máxima preferencia de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 2,7, unidades sacárido. Puede utilizarse cualquier sacárido reductor que contenga 5 ó 6 átomos de carbono, como por ejemplo restos de glucosa, galactosa y galactosilo pueden sustituirse por los restos glucosilo (opcionalmente el grupo hidrófobo está enlazado a las posiciones 2, 3, 4, etc. formando, por tanto, una glucosa o galactosa en lugar de un glucósido o galactósido). Los enlaces entre sacáridos pueden estar, por ejemplo, entre la posición uno de las unidades sacárido adicionales y las posiciones 2, 3, 4 y/ó 6 en las unidades sacárido precedentes.

Los alquilpoliglicósidos preferidos tienen la fórmula



en donde R^2 se ha seleccionado del grupo que consiste en alquilo, alquilfenilo, hidroxialquilo, hidroxialquilfenilo y mezclas de los mismos, en donde los grupos alquilo contienen de aproximadamente 10 a aproximadamente 18, preferiblemente de aproximadamente 12 a aproximadamente 14, átomos de carbono; n es 2 ó 3, preferiblemente 2; t es de 0 a aproximadamente 10, preferiblemente 0; y x es de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 10, preferiblemente de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 3, con máxima preferencia de aproximadamente 1,3 a aproximadamente 2,7. El glicosilo se deriva preferiblemente de la glucosa. Para preparar estos compuestos, se forma primero el alcohol o el alquilpolietoxi-alcohol y luego se hace reaccionar con glucosa o una fuente de glucosa para formar el glucósido (fijación en la posición 1). Las unidades glucosilo adicionales pueden enlazarse entre su posición 1 y la posición 2, 3, 4 y/o 6 de las unidades glucosilo precedentes, predominantemente en la posición 2.

Los productos de condensación del óxido de etileno con una base hidrófoba formada por la condensación de óxido de propileno con propilenglicol resultan también adecuados para su uso como sistemas adicionales de tensioactivo no iónico de la presente invención. La fracción hidrófoba de estos compuestos tiene preferiblemente un peso molecular de aproximadamente 1500 a aproximadamente 1800 y presenta insolubilidad en agua. La adición de restos polioxietileno a esta porción hidrófoba tiende a incrementar la solubilidad en agua de la molécula en su conjunto, y el carácter líquido del producto se conserva hasta el punto en el que el contenido en polioxietileno es aproximadamente 50% del peso total del producto de condensación, lo que corresponde a una condensación de hasta aproximadamente 40 moles de óxido de etileno. Ejemplos de compuestos de este tipo incluyen algunos de los tensioactivos comerciales Plurafac™ LF404 y Pluronic™, comercializados por BASF.

También adecuados para su uso como el tensioactivo no iónico del sistema tensioactivo no iónico de la presente invención son los productos de condensación del óxido de etileno y el producto resultante de la reacción entre óxido de propileno y etilendiamina. El resto hidrófobo de estos productos consiste en el producto de reacción de etilendiamina y óxido de propileno en exceso y, generalmente, tiene un peso molecular de aproximadamente 2.500 a aproximadamente 3.000. Este resto hidrófobo se condensa con óxido de etileno en la medida que el producto de condensación contiene de aproximadamente 40% a aproximadamente 80% de polioxietileno en peso y tiene un peso molecular de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 11.000. Ejemplos de este tipo de tensioactivo no iónico incluyen algunos de los compuestos comerciales Tetronic™, comercializados por BASF.

Preferidos para su uso como el tensioactivo no iónico de los sistemas tensioactivos de la presente invención son los condensados de poli(óxido de etileno) de alquilfenoles, los productos de condensación de alcoholes alifáticos primarios y secundarios con de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 moles de óxido de etileno, los alquilpolisacáridos, y mezclas de los mismos. Los más preferidos son los alquil C_8 - C_{14} fenol etoxilatos que tienen de 3 a 15 grupos etoxi y los alcoholes C_8 - C_{18} etoxilados (preferiblemente C_{10} de media) que tienen de 2 a 10 grupos etoxi, y mezclas de los mismos.

Tensioactivos no iónicos especialmente preferidos son los tensioactivos de tipo polihidroxiamida de ácido graso de la fórmula



en donde R^1 es H, o R^1 es C_{1-4} hidrocarbilo, 2-hidroxi etilo, 2-hidroxi propilo o una mezcla de los mismos, R^2 es C_{5-31} hidrocarbilo, y Z es un polihidroxihidrocarbilo con una cadena hidrocarbilo lineal con por lo menos 3 hidroxilos unidos directamente a la misma, o un derivado alcoxilado del mismo. Preferiblemente, R^1 es metilo, R^2 es una cadena lineal de alquilo C_{11-15} o cadena de alquilo o alqueno C_{16-18} como, por ejemplo, cocoalquilo o mezclas de los mismos, y Z es un derivado de un azúcarreductor como glucosa, fructosa, maltosa, lactosa, en una reacción de aminación reductora.

Los tensioactivos aniónicos adecuados para su uso en la presente invención son los tensioactivos de tipo alquilbenzeno sulfonato y alquil éster sulfonato lineales incluidos los ésteres lineales de ácidos carboxílicos C_8 - C_{20} (es decir,

ES 2 268 780 T3

ácidos grasos) sulfonados con SO₃ gaseoso según "The Journal of the American Oil Chemists Society", 52 (1975), págs. 323-329. Los materiales de partida adecuados incluirían sustancias grasas naturales como las derivadas de sebo, aceite de palma, etc.

- 5 Los tensioactivos de tipo alquiléster sulfonato preferidos, especialmente para aplicaciones de lavado, comprenden tensioactivos de tipo alquiléster sulfonato con la fórmula estructural:



15 en donde R³ es un hidrocarbilo C₈-C₂₀, preferiblemente un alquilo o una combinación del mismo, R⁴ es un hidrocarbilo C₁-C₆, preferiblemente un alquilo o una combinación del mismo, y M es un catión que forma una sal hidrosoluble con el alquiléster sulfonato. Los cationes formadores de sales adecuados incluyen metales como sodio, potasio y litio y cationes de amonio sustituido y no sustituido como, por ejemplo, monoetanolamina, dietanolamina y trietanolamina. Preferiblemente, R³ es alquilo C₁₀-C₁₆ y R⁴ es metilo, etilo o isopropilo. Especialmente preferidos son los metiléster sulfonatos, en donde R³ es alquilo C₁₀-C₁₆.

20 Otros tensioactivos aniónicos adecuados incluyen los tensioactivos de sulfato de alquilo que son sales o ácidos hidrosolubles con la fórmula ROSO₃M, en donde R es preferiblemente un hidrocarbilo C₁₀-C₂₄, preferiblemente un alquilo o hidroxialquilo con un componente alquilo C₁₀-C₂₀, más preferiblemente un alquilo o hidroxialquilo C₁₂-C₁₈, y M es H o un catión, por ejemplo un catión de metal alcalino (como, por ejemplo, sodio, potasio, litio), o amonio o amonio sustituido (por ejemplo catión de metilamonio, dimetilamonio y trimetilamonio y catión de amonio cuaternario como, por ejemplo, tetrametilamonio y catión de dimetilpiperidinio y catión de amonio cuaternario derivados de alquilaminas como etilamina, dietilamina, trietilamina y mezclas de los mismos y similares). De forma típica, se prefieren cadenas alquílicas C₁₂-C₁₆ para temperaturas de lavado más bajas (p. ej., inferiores a aproximadamente 50°C) y cadenas alquílicas C₁₆₋₁₈ para temperaturas de lavado más altas (p. ej., superiores a aproximadamente 50°C).

30 En las composiciones detergentes para lavado de ropa de la presente invención también pueden incluirse otros tensioactivos aniónicos útiles para fines deterisivos. Estos pueden incluir sales (por ejemplo, de sodio, potasio, amonio y sales de amonio sustituido tales como sales de monoetanolamina, dietanolamina y trietanolamina) de jabón, alcanosulfonatos C₈-C₂₂ primarios o secundarios, olefinsulfonatos C₈-C₂₄, ácidos policarboxílicos sulfonados preparados por sulfonación del producto pirolizado de citratos de metales alcalinotérreos, p. ej., según la solicitud de patente GB-1.082.179, alquil C₈-C₂₄ poliglicoléter sulfatos (que contienen hasta 10 moles de óxido de etileno); alquil glicerol sulfonatos, acil glicerol sulfonatos grasos, oleil glicerol sulfatos grasos, éter sulfúrico del alquil fenol óxido de etileno, sulfonatos de parafina, alquil fosfatos, isetionatos tales como los acil isetionatos, N-acil tauratos, alquil succinamatos y sulfosuccinatos, monoésteres de sulfosuccinatos (especialmente monoésteres C₁₂-C₁₈ saturados e insaturados) y diésteres de sulfosuccinatos (especialmente diésteres C₆-C₁₂ saturados e insaturados), acil sarcosinatos, sulfatos de alquilpolisacáridos tales como los sulfatos de alquilpoliglucósido (los compuestos no iónicos no sulfatados se describe más adelante), alquilsulfatos primarios ramificados y alquil polietoxi carboxilatos tales como los de la fórmula RO (CH₂CH₂O)_k-CH₂COO-M⁺ en donde R es un alquil C₈-C₂₂, k es un entero de 1 a 10 y M es un catión soluble formador de sales. También resultan adecuados los ácidos resínicos y los ácidos resínicos hidrogenados tales como colofonia, colofonia hidrogenada y ácidos resínicos hidrogenados presente en el aceite de coníferas o derivados de éste.

Se describen más ejemplos en "Surface Active Agents and Detergents" (vol. I y II, de Schwartz, Perry y Berch). Algunos de dichos tensioactivos también están descritos de manera general en la patente US-3.929.678, concedida el 30 de diciembre de 1975 a Laughlin y col., desde la columna 23, línea 58, hasta la columna 29, línea 23.

50 Si se incluyen, las composiciones detergentes de lavado según la presente invención comprenden típicamente de aproximadamente 1% a aproximadamente 40%, preferiblemente de aproximadamente 3% a aproximadamente 20%, en peso de tensioactivos aniónicos de este tipo.

55 Tensioactivos aniónicos especialmente preferidos incluyen tensioactivos de alquil-sulfato alcoxilados en forma de sales o ácidos hidrosolubles de fórmula RO(A)_mSO₃M, en donde R es un grupo alquilo o hidroxialquilo C₁₀-C₂₄ no sustituido con un componente alquilo C₁₀-C₂₄, preferiblemente un alquilo o hidroxialquilo C₁₂-C₂₀, más preferiblemente un alquilo o hidroxialquilo C₁₂-C₁₈, es una unidad etoxi o propoxi, m es mayor que cero, de forma típica de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 6, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 3, y M es H o un catión que puede ser por ejemplo un catión metálico (por ejemplo sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, etc.), amonio o un catión de amonio sustituido. En la presente invención se contemplan tanto alquilsulfatos etoxilados como alquilsulfatos propoxilados. Ejemplos específicos de cationes de amonio sustituido incluyen cationes de metilamonio, dimetilamonio y trimetilamonio y cationes de amonio cuaternario como, por ejemplo, cationes de tetrametilamonio y dimetilpiperidinio así como los derivados de alquilaminas como etilamina, dietilamina, trietilamina, mezclas de los mismos y similares. Ejemplos de tensioactivos son el alquil C₁₂-C₁₈ polietoxilato (1,0) sulfato (C₁₂-C₁₈E(1,0)M), el alquil C₁₂-C₁₈ polietoxilato (2,25) sulfato (C₁₂-C₁₈E(2,25)M), el alquil C₁₂-C₁₈ polietoxilato (3,0) sulfato (C₁₂-C₁₈E(3,0)M) y el alquil C₁₂-C₁₈ polietoxilato (4,0) sulfato (C₁₂-C₁₈E(4,0)M), en donde M se selecciona convenientemente de sodio y potasio.

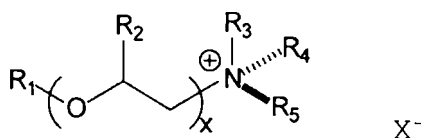
ES 2 268 780 T3

Los tensioactivos deteritivos catiónicos adecuados para usar en las composiciones detergentes de lavado según la presente invención son los que tienen un grupo hidrocarbilo de cadena larga. Ejemplos de tensioactivos catiónicos de este tipo incluyen tensioactivos de amonio como por ejemplo halogenuros de alquiltrimetilamonio y los tensioactivos con la fórmula:



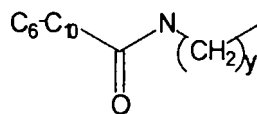
en donde R^2 es un grupo alquilo o alquilbencilo que tiene de aproximadamente 8 a aproximadamente 18 átomos de carbono en la cadena alquílica, cada R^3 se selecciona del grupo que consiste en $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH(CH_3)-$, $-CH_2CH(CH_2OH)-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, y mezclas de los mismos; cada R^4 se selecciona del grupo que consiste en alquil C_1-C_4 , hidroxialquil C_1-C_4 , estructuras de anillo bencílico formadas por la unión de dos grupos R^4 , $-CH_2CHOH-CHOHCO-R^6-CHOHCH_2OH$ en donde R^6 es cualquier hexosa o polímero hexosa con un peso molecular inferior a aproximadamente 1000 e hidrógeno cuando y no es 0; R^5 es igual que R^4 o es un cadena alquílica en donde el número total de átomos de carbono de R^2 más R^5 no es superior a aproximadamente 18; cada y es de 0 a aproximadamente 10 y la suma de los valores y y z es de 0 a aproximadamente 15; y X es cualquier anión compatible.

Un tensioactivo de amonio cuaternario adecuado para la presente invención tiene la fórmula (I):



Fórmula I

en donde R_1 es un alquilo de cadena corta (C_6-C_{10}) o alquilamidoalquilo de fórmula (II):



Fórmula II

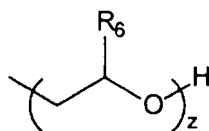
y es 2-4, preferiblemente 3.

en donde R_2 es H o un alquilo C_1-C_3 ,

en donde x es 0-4, preferiblemente 0-2, con máxima preferencia 0,

en donde R_3 , R_4 y R_5 son iguales o diferentes y pueden ser un alquilo de cadena corta (C_1-C_3) o alquil alcoxilado de fórmula III,

en donde X^- es un contraión, preferiblemente un haluro, por ejemplo cloruro, o metilsulfato.



Fórmula III

R_6 es C_1-C_4 y z es 1 ó 2.

Los tensioactivos de tipo amonio cuaternario preferidos son aquellos definidos por la fórmula I en donde

R_1 es C_8 , C_{10} o mezclas de los mismos, $x=0$,

R_3 , $R_4 = CH_3$ y $R_5 = CH_2CH_2OH$.

Los tensioactivos catiónicos altamente preferidos son los compuestos amónicos cuaternarios hidrosolubles útiles en la presente composición que tienen la fórmula:

ES 2 268 780 T3



5 en donde R_1 es alquil C_8-C_{16} , cada R_2 , R_3 y R_4 son, independientemente entre sí, alquil C_1-C_4 , hidroxialquil C_1-C_4 , bencil y $-(C_2H_4)_xH$, en donde x tiene un valor de 2 a 5, y X es unanión. No más de un R_2 , R_3 o R_4 debe ser bencilo.

10 La longitud de cadena alquílica preferida para R_1 es $C_{12}-C_{15}$, particularmente cuando el grupo alquilo es una mezcla de longitudes de cadenas derivadas de aceite de coco o de palmiste o está derivado por síntesis de acumulación de olefinas o síntesis de alcoholes OXO. Los grupos preferidos para R_2 , R_3 y R_4 son los grupos metilo e hidroxietilo y el anión X puede seleccionarse de iones haluro, metosulfato, acetato y fosfato.

Ejemplos de compuestos de amonio cuaternario adecuados con las fórmulas (i) de uso en la presente invención son:

- 15 cloruro o bromuro de trimetilamonio de coco;
cloruro o bromuro de metildihidroxietilamonio de coco;
cloruro de deciltriethylamonio;
20 cloruro o bromuro de decildimetilhidroxietilamonio;
cloruro o bromuro de C_{12-15} dimetil-hidroxietil-amonio;
25 cloruro o bromuro de dimetilhidroxietilamonio de coco;
metilsulfato de miristiltrimetilamonio;
cloruro o bromuro de laurildimetilbencilamonio;
30 cloruro o bromuro de lauril-dimetil(etenoxi)₄-amonio;
ésteres de colina (compuestos de fórmula (i) en donde R_1 es
35 alquil $CH_2 - CH_2 - O - \underset{\text{O}}{\underset{\parallel}{C}} - C_{12-14}$ y $R_2R_3R_4$ son metilo).
dialquil-imidazolin [compuestos de fórmula (i)].
40

Otros tensioactivos catiónicos útiles en la presente invención se describe también en la patente US-4.228.044, concedida el 14 de octubre de 1980 a Cambre, y en la solicitud de patente europea EP 000.224.

45 Los componentes catiónicos suavizantes de tejidos típicos incluyen sustancias activas suavizantes de tejidos a base de amonio cuaternario insolubles en agua o su correspondiente precursor amina, siendo los más generalmente utilizados el cloruro amónico con doble cadena alquílica larga o el metil sulfato.

De estos, los suavizantes catiónicos preferidos incluyen los siguientes:

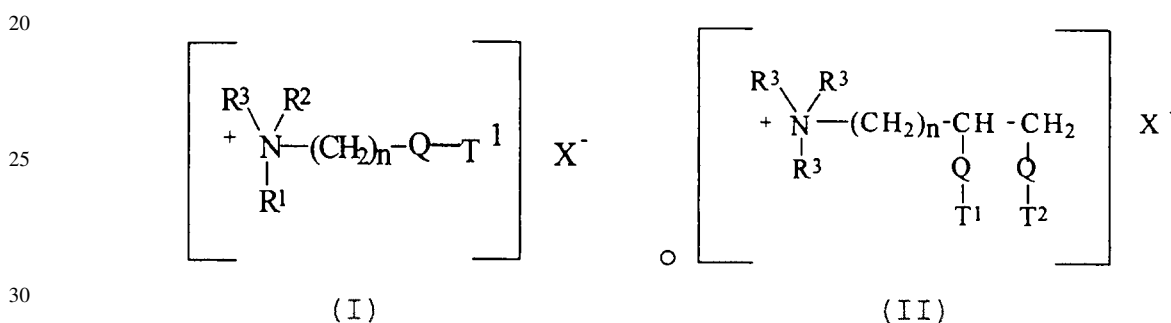
- 50 1) cloruro de sebo-dimetilamonio (DTDMAC);
2) cloruro de dimetilamonio de sebo dihidrogenado;
3) metilsulfato de sebo dimetilamonio dihidrogenado;
55 4) cloruro de diestearil dimetilamonio;
5) cloruro de dioleil dimetilamonio;
60 6) cloruro de dipalmitil hidroxietil metil amonio;
7) cloruro de estearil bencil dimetilamonio;
8) cloruro de trimetilamonio de sebo;
65 9) cloruro de trimetilamonio de sebo hidrogenado;
10) cloruro de alquil C_{12-14} hidroxietil dimetilamonio;

ES 2 268 780 T3

- 11) cloruro de alquil C₁₂₋₁₈ dihidroxietil metil amonio;
- 12) cloruro de di(estearoiloxietil) dimetilamonio (DSOEDMAC);
- 5 13) cloruro de di(sebo-oxi-etil) dimetilamonio;
- 14) metilsulfato de disebo imidazolinio;
- 15) metilsulfato de 1-(2-seboilamidoetil)-2-seboil imidazolinio.

10 Se han presente los compuestos amónicos cuaternarios biodegradables como alternativas a los cloruros amónicos de doble cadena alquílica larga y los metil sulfatos tradicionalmente utilizados. Estos compuestos amónicos cuaternarios contienen grupos alqu(en)ilo de cadena larga interrumpidos por grupos funcionales tales como grupos carboxilo. Los productos y composiciones suavizantes de tejidos que los contienen se describen en numerosas publicaciones como, p. ej., EP-A-0.040.562 y EP-A-0.239.910.

15 Los compuestos de amonio cuaternario y los precursores de amina de la presente invención tienen las fórmulas (I) o (II) siguientes:



en donde Q se selecciona de -O-C(O)-, -C(O)-O-, -O-C(O)-O-, -NR⁴-C(O)-, -C(O)-NR⁴-;

35 R¹ es (CH₂)_n-Q-T³ o T³;

R² es (CH₂)_m-Q-T⁴ o T⁵ o R³;

40 R³ es alquil C₁-C₄ o hidroxialquil C₁-C₄ o H;

R⁴ es H o alquil C₁-C₄ o hidroxialquil C₁-C₄;

T¹, T², T³, T⁴, T⁵ son, independientemente entre sí, alquil o alquenoil C₁₁-C₂₂;

45 n y m son números enteros de 1 a 4; y

X⁻ es un anión compatible con el suavizante. Entre los ejemplos no limitativos de anión compatibles con el suavizante se incluyen el cloruro o el metilsulfato.

50 La cadena de alquilo o alquenoil T¹, T², T³, T⁴, T⁵ debe contener al menos 11 átomos de carbono y preferiblemente al menos 16 átomos de carbono. La cadena puede ser lineal o ramificada. El sebo es una fuente adecuada y económica de compuestos alquilo y alquenoil de cadena larga. Los compuestos en donde T¹, T², T³, T⁴, T⁵ representar la mezcla de compuestos de cadena larga de sebo son los especialmente preferidos.

55 Ejemplos específicos de compuestos de amonio cuaternario adecuados para su uso en las composiciones acuosas suavizantes de tejidos de la presente invención incluyen:

- 1) cloruro de N,N-di(seboil-oxi-etil)-N,N-dimetil amonio;
- 60 2) metilsulfato de N,N-di(seboil-oxi-etil)-N-metil, N-(2-hidroxietil) amonio;
- 3) cloruro de N,N-di(2-seboil-oxi-2-oxo-etil)-N,N-dimetil amonio;
- 4) cloruro de N,N-di(2-seboil-oxi-etilcarbonil-oxi-etil)-N,N-dimetil amonio;
- 65 5) cloruro de N-(2-seboil-oxi-2-etil)-N-(2-seboil-oxi-2-oxo-etil)-N,N-dimetil;
- 6) cloruro de N,N,N-tri(seboil-oxi-etil)-N-metil amonio;

ES 2 268 780 T3

7) cloruro de N-(2-seboil-oxi-2-oxo-etil)-N-(seboil-N,N-dimetil-amonio y

8) cloruro de 1,2-diseboil-oxi-3-trimetilamonio propano;

5 y mezclas de cualquiera de los productos anteriores.

Si se incluyen en la misma, las composiciones detergentes de lavado de ropa según la presente invención contienen típicamente de 0,2% a aproximadamente 25%, preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 8%, en peso de tensioactivos catiónicos de este tipo.

10

Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención también pueden contener tensioactivos anfólicos, de ion híbrido y semipolares así como tensioactivos no iónicos y/o aniónicos diferentes a los ya descritos en la presente memoria.

15

Los tensioactivos anfólicos también son adecuados para su uso en las composiciones detergentes para lavado de ropa de la presente invención. Estos tensioactivos pueden describirse genéricamente como derivados alifáticos de aminas secundarias o terciarias, o derivados alifáticos de aminas secundarias o terciarias heterocíclicas en los que el radical alifático puede ser una cadena lineal o ramificada. Uno de los sustituyentes alifáticos contiene al menos aproximadamente 8 átomos de carbono, típicamente de aproximadamente 8 a aproximadamente 18 átomos de carbono, y al menos uno contiene un grupo aniónico solubilizante en agua, por ejemplo carboxi, sulfonato, sulfato. Véase la patente de US-3.929.678, concedida a Laughlin y col. el 30 de diciembre de 1975, en la columna 19, líneas 18-35, para ejemplos de tensioactivos anfólicos.

20

25

Si están incluidos en la presente invención, las composiciones detergentes de lavado según la misma constan típicamente de 0,2% a aproximadamente 15%, preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 10%, en peso de tensioactivos anfólicos de este tipo.

30

Los tensioactivos de ion híbrido también son adecuados para su uso en composiciones detergentes para lavado de ropa. Estos tensioactivos pueden ser descritos a grandes rasgos como derivados de aminas secundarias y terciarias, derivados de aminas secundarias y terciarias heterocíclicas o derivados de compuestos de amonio cuaternario, fosfonio cuaternario o sulfonio terciario. Véase la patente US-3.929.678, concedida a Laughlin y col. el 30 de diciembre de 1975, en la columna 19, línea 38 hasta la columna 22, línea 48, para ejemplos de tensioactivos de ion híbrido.

35

Si se incluyen, las composiciones detergentes de lavado según la presente invención contienen típicamente de 0,2% a aproximadamente 15%, preferiblemente de aproximadamente de 1% a aproximadamente 10%, en peso de tensioactivos de ión híbrido de este tipo.

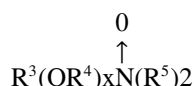
40

Tensioactivos no iónicos semipolares son una categoría especial de tensioactivos no iónicos que incluyen óxidos de aminas solubles en agua que contienen un resto alquilo de aproximadamente 10 a aproximadamente 18 átomos de carbono, y 2 restos seleccionados del grupo que consiste en grupos alquilo y grupos hidroxialquilo que contienen de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 átomos de carbono; óxidos de fosfina solubles en agua que contienen un resto alquilo de aproximadamente 10 a aproximadamente 18 átomos de carbono y 2 restos seleccionados del grupo que consiste en grupos alquilo y grupos hidroxialquilo que contienen de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 átomos de carbono; y sulfóxidos solubles en agua que contienen un resto alquilo de aproximadamente 10 a aproximadamente 18 átomos de carbono y un resto seleccionado del grupo que consiste en restos alquilo e hidroxialquilo de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 átomos de carbono.

45

Los tensioactivos detergentes no iónicos semipolares incluyen los tensioactivos de tipo óxido de amina de fórmula:

50



55

en donde R^3 es un grupo alquilo, hidroxialquilo, o alquilfenilo o mezclas de los mismos que contiene de aproximadamente 8 a aproximadamente 22 átomos de carbono; R^4 es un grupo alquilenilo o hidroxialquilenilo que contiene de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 átomos de carbono o mezclas de los mismos; x es de 0 a aproximadamente 3; y cada R^5 es un grupo alquilo o hidroxialquilo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 átomos de carbono o un grupo poli(óxido de etileno) que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 grupos de óxido de etileno. Los grupos R^5 pueden estar unidos entre sí, por ejemplo mediante un átomo de oxígeno o nitrógeno, para formar una estructura de anillo.

60

Estos tensioactivos de tipo óxido de amina incluyen, en particular, óxidos de alquil C_{10} - C_{18} -dimetil-amina y óxidos de alcoxi C_8 - C_{12} -etil-hidroxi-etil-amina.

65

Cuando se incluyen en la composición, las composiciones limpiadoras de la presente invención de forma típica comprenden de 0,2% a aproximadamente 15%, preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 10%, en peso de estos tensioactivos no iónicos semipolares.

ES 2 268 780 T3

La composición detergente de lavado de ropa de la presente invención también puede comprender un tensioactivo auxiliar seleccionado del grupo de aminas primarias o terciarias.

5 Las aminas primarias adecuadas para su uso en la presente invención incluyen aminas según la fórmula R_1NH_2 en donde R_1 es una cadena alquílica C_6-C_{12} , preferiblemente C_6-C_{10} o $R_4X(CH_2)_n$, X es -O-, -C(O)NH- o -NH-, R_4 es un cadena alquílica C_6-C_{12} , n es de 1 a 5 y preferiblemente 3. Las cadenas alquílicas R_1 pueden ser lineales o ramificadas y pueden estar interrumpidas por hasta 12, preferiblemente menos de 5, restos de óxido de etileno.

10 Las aminas preferidas según la fórmula más arriba en la presente memoria son n-alkilaminas. Las aminas adecuadas para el uso según la presente invención pueden seleccionarse de entre 1-hexilamina, 1-octilamina, 1-decilamina y laurilamina. Otras aminas primarias preferidas incluyen oxipropilamina C8-C10, octil-oxipropilamina, 2-etilhexil-oxipropilamina, lauril-amidopropilamina y amidopropilamina.

15 Las aminas terciarias adecuadas de uso en la presente invención incluyen aminas terciarias que tienen la fórmula $R_1R_2R_3N$ en donde R_1 y R_2 son cadenas alquílicas C_1-C_8 o



25 R_3 es o una cadena alquílica C_6-C_{12} , preferiblemente una cadena alquílica C_6-C_{10} o R_3 es $R_4X(CH_2)_n$, en donde X es -O-, -C(O)NH- o -NH-, R_4 es una cadena alquílica C_4-C_{12} , n está entre 1 y 5, preferiblemente 2-3. R_5 es H o un grupo alquil C_1-C_2 y x está entre 1 y 6.

R_3 y R_4 pueden ser cadenas alquílicas lineales o ramificadas; las cadenas alquílicas R_3 pueden estar interrumpidas por hasta 12, preferiblemente menos de 5, restos de óxido de etileno.

30 Las aminas terciarias preferidas son $R_1R_2R_3N$ en donde R_1 es una cadena alquílica C_6-C_{12} , R_2 y R_3 son alquil C_1-C_3 o



en donde R_5 es H o CH_3 y $x = 1-2$.

40 Asimismo se prefieren las amidoaminas con la fórmula:



en donde R_1 es un alquilo C_6-C_{12} ; n es 2-4,

n es preferiblemente 3; R_2 y R_3 es C_1-C_4

50 Las aminas más preferidas de la presente invención incluyen 1-octilamina, 1-hexilamina, 1-decilamina, 1-dodecilamina, oxi C8-10 propilamina, N coco 1-3-diaminopropano, alquildimetilamina de coco, laurildimetilamina, lauril bis(hidroxietil)mina, bis(hidroxietil)amina de coco, lauril amina propoxilada 2 mol, octilamina propoxilada 2 mol, lauril amidopropil-dimetilamina, amidopropil C8-10 dimetilamina y amidopropil C10 dimetilamina.

55 Las aminas más preferidas para el uso en las composiciones según la presente invención son 1-hexilamina, 1-octilamina, 1-decilamina, 1-dodecilamina. Son especialmente deseables la n-dodecildimetilamina y bis-hidroxietilalquilamina de coco y oleilamina etoxiladas 7 veces, lauril-amidopropilamina y amidopropilamina de coco.

60 *Agente blanqueador*

Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención también pueden comprender un agente blanqueador tal como peróxido de hidrógeno, PB1, PB4 y percarbonato con un tamaño de partículas de 400-800 micrómetros. Estos componentes de agentes blanqueadores pueden contener uno o más agentes blanqueadores liberadores de oxígeno y, según el agente blanqueador elegido, uno o más activadores del blanqueador. Cuando están presentes, los compuestos blanqueadores liberadores de oxígeno de forma típica estarán presentes a niveles de aproximadamente 1% a aproximadamente 25%.

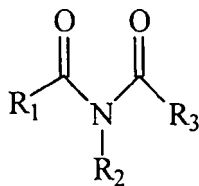
ES 2 268 780 T3

El componente blanqueador de uso en la presente invención puede ser cualquiera de los agentes blanqueadores útiles para composiciones detergentes, incluidos los blanqueadores liberadores de oxígeno así como otros conocidos en la técnica. El agente blanqueador adecuado para la presente invención puede ser un agente blanqueador activado o no activado.

Una clase de agente blanqueador liberador de oxígeno de uso en la presente invención abarca los agentes blanqueadores basados en ácido percarboxílico y las sales de los mismos. Ejemplos adecuados de esta clase de agentes incluyen el monoperoxifitalato de magnesio hexahidratado la sal magnésica del ácido meta-cloro perbenzoico, el ácido 4-nonilamino-4-oxoperoxibutírico y el ácido diperoxidodecanodioico. Agentes blanqueadores de este tipo se describen en la patente US-4.483.781, la solicitud de patente US-740.446, EP- 0.133.354 y la patente US-4.412.934. Los agentes blanqueadores especialmente preferidos incluyen asimismo el ácido 6-nonilamino-6-oxoperoxicaproico según se describe en la patente US-4.634.551.

Otra categoría de agentes blanqueadores que pueden utilizarse engloban los agentes blanqueadores de halógenos. Ejemplos de agentes blanqueadores de hipohalito incluyen por ejemplo el ácido tricloroisocianúrico, los dicloroisocianuratos de sodio y potasio y las N-cloro-alcanosulfonamidas y N-bromo-alcanosulfonamidas. Estos materiales se añaden normalmente en cantidades del 0,5-10% en peso del producto terminado, preferiblemente del 1-5% en peso.

Los agentes liberadores de peróxido de hidrógeno pueden utilizarse junto con activadores del efecto blanqueador tales como la tetraacetiletilendiamina (TAED), el nonanoiloxibenceno-sulfonato (NOBS, descrito en US-4.412.934), el 3, 5,-trimetilhexanoloxibencenosulfonato (ISONOBS, descrito en EP 120.591), la pentaacetilglucosa (PAG) o el éster fenolsulfonato del ácido N-nonanoil-6-aminocaproico (NACA-OBS, descrito en WO94/28106), que son perhidrolizados para formar un perácido que actúa como el blanqueador activo proporcionando un mejor efecto blanqueador. También son activadores adecuados los ésteres de citrato acilados tales como los descritos en la solicitud de patente codependiente EP 624 154 y los activadores del blanqueador de tipo imida acíclica asimétrica de la fórmula siguiente, según se describe en la solicitud de patente codependiente WO 98/04664 de Procter & Gamble:



en donde R_1 es un grupo alquil C_7-C_{13} de cadena lineal o ramificada, saturado o no saturado, R_2 es un grupo alquil C_1-C_8 , de cadena lineal o ramificada, saturado o no saturado y R_3 es un grupo alquil C_1-C_4 de cadena lineal o ramificada, saturado o no saturado.

Agentes blanqueadores útiles, incluidos peroxiácidos y sistemas blanqueadores que comprenden activadores del blanqueador y compuestos blanqueadores peroxigenados para su uso en las composiciones detergentes según la invención se describen en nuestras solicitudes codependientes WO 95/10592, WO 97/00937, WO95/27772, WO95/27773, WO95/27774 y WO95/27775.

El peróxido de hidrógeno también puede estar presente si se añade un sistema enzimático (es decir, una enzima y un sustrato para la misma) capaces de generar peróxido de hidrógeno al comienzo o durante el proceso de lavado y/o aclarado. Estos sistemas enzimáticos se describen en la solicitud de patente EP 537 381, presentada el 9 de octubre de 1991.

Los catalizadores que contienen metal para su uso en composiciones blanqueadoras incluyen catalizadores que contienen cobalto tales como sales acetato de pentaamina y cobalto(III) y catalizadores que contienen manganeso tales como los descritos en EPA 549 271; EPA 549 272; EPA 458 397; US 5.246.621; EPA 458 398; US-5.194.416 y US-5.114.611. Una composición blanqueadora que comprende un compuesto peroxi, un catalizador del blanqueador que contiene manganeso y un agente quelante se describe en la solicitud de patente 94870206.3.

Agentes blanqueadores distintos de los agentes blanqueadores oxigenados también son conocidos por la técnica y pueden ser utilizados en la presente invención. Un tipo de agente blanqueador no liberador de oxígeno de especial interés son los agentes blanqueadores fotoactivados tales como las ftalocianinas de cinc y/o aluminio sulfonadas. Estos materiales pueden depositarse en los sustratos durante el proceso de lavado. La irradiación con luz en presencia de oxígeno, como por ejemplo al colgar la ropa en el exterior a la luz del día, provoca la activación de la ftalocianina de cinc sulfonada y, por consiguiente, el blanqueo del sustrato. Una ftalocianina de cinc preferida y un proceso de blanqueo fotoactivado se describe en la patente US-4.033.718. Típicamente, las composiciones detergentes contendrán aproximadamente de 0,025% a aproximadamente 1,25%, en peso, de ftalocianina de cinc sulfonada.

Sistema reforzante de la detergencia

Preferiblemente, las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención también pueden comprender un aditivo reforzante de la detergencia, más preferiblemente una zeolita, un tripolifosfato sódico y/o un silicato

ES 2 268 780 T3

laminar. Se ha descubierto de forma sorprendente que estas composiciones proporcionan mejor capacidad limpiadora, especialmente en manchas de cosméticos y alimentos, y ventajas de mejor liberación de la suciedad.

Cualquier sistema reforzante de la detergencia convencional es adecuado para el uso en la presente invención, incluidos los productos de aluminosilicato, silicatos, policarboxilatos, ácido alquil succínico o ácido alquenil succínico y ácidos grasos, productos tales como etilendiamino-tetraacetato, dietilentriamino-pentametilenacetato, secuestrantes de iones de metal tales como aminopolifosfonatos, en especial ácido etilendiamino-tetrametilen fosfónico y ácido dietilentriamino-pentametilen fosfónico. En la presente invención también pueden utilizarse agentes reforzantes de la detergencia de tipo fosfato.

Los aditivos reforzantes de la detergencia adecuados pueden ser un producto inorgánico de intercambio iónico, generalmente un producto inorgánico de aluminosilicato hidratado, más en especial una zeolita sintética hidratada como la zeolita hidratada A, X, B, HS o MAP.

Otro material reforzante de la detergencia inorgánico adecuado es el silicato laminar, por ejemplo SKS-6TM (Hoechst). SKS-6 es un silicato laminar cristalino que consiste en silicato sódico ($\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$).

Los policarboxilatos adecuados que contienen un grupo carboxi incluyen ácido láctico, ácido glicólico y derivados éter de los mismos como los descritos en las patentes belgas 831.368, 821.369 y 821.370. Los policarboxilatos que contienen dos grupos carboxi incluyen las sales hidrosolubles de ácido succínico, ácido malónico, ácido (etilendioxi) diacético, ácido maleico, ácido diglicólico, ácido tartárico, ácido tartrónico y ácido fumárico, así como los éter carboxilatos descritos en las patentes alemanas 2.446.686, y 2.446.687 y US-3.935.257 y los sulfinil carboxilatos descritos en la patente belga 840.623. Los policarboxilatos que contienen tres grupos carboxi incluyen, en particular, citratos, aconitratos y citraconatos hidrosolubles así como derivados de succinato tales como los carboximetiloxisuccinatos descritos en GB-1.379.241, los lactoxisuccinatos descritos en la patente holandesa 7205873, y los materiales de oxipolicarboxilato tales como los 2-oxa-1,1,3-propano tricarboxilatos descritos en GB-1.387.447.

Los policarboxilatos que contienen cuatro grupos carboxi incluyen los oxidisuccinatos descritos en BG-1.261.829, los 1,1,2,2-etano-tetracarboxilatos, los 1,1,3,3-propano-tetracarboxilatos y los 1,1,2,3-propano-tetracarboxilatos. Los policarboxilatos que contienen sustituyentes sulfo incluyen los derivados de sulfosuccinato descritos en las patentes GB-1.398.421 y GB-1.398.422 y en la patente US-3.936.448, y los citratos pirolisados sulfonados descritos en la patente GB-1.082.179, en tanto que los policarboxilatos que contienen sustituyentes fosfonio se describe en la patente GB-1.439.000.

Los policarboxilatos alicíclicos y heterocíclicos incluyen ciclopentano-cis,cis,cis-tetracarboxilatos, ciclopentadecano-pentacarboxilatos, 2,3,4,5-tetrahidro-furan - cis, cis, cis-tetracarboxilatos, 2,5-tetrahidro-furan -cis - dicarboxilatos, 2,2,5,5-tetrahidrofuran - tetracarboxilatos, 1,2,3,4,5,6-hexano -hexacarboxilatos y derivados carboximetilo de alcoholes polihídricos tales como sorbitol, manitol y xilitol. Los policarboxilatos aromáticos incluyen ácido melítico, ácido piromelítico y los derivados de ácido ftálico descritos en la patente GB-1.425.343.

De los anteriormente mencionados, los policarboxilatos preferidos son los hidroxicarboxilatos que contienen hasta tres grupos carboxi por molécula y más en particular los citratos.

Los sistemas de aditivo reforzante de la detergencia preferidos para su uso en las presente composiciones incluyen una mezcla de un aditivo reforzante de la detergencia de aluminosilicato insoluble en agua como la zeolita A o de un silicato laminar (SKS-6) y un agente quelante de carboxilato hidrosoluble como el ácido cítrico. Otros sistemas de aditivo reforzante de la detergencia preferidos incluyen una mezcla de un aditivo reforzante de la detergencia de aluminosilicato insoluble en agua como la zeolita A y un agente quelante de carboxilato hidrosoluble como el ácido cítrico. Los sistemas de aditivo reforzante de la detergencia preferidos para su uso en las composiciones líquidas detergentes de la presente invención son los jabones y los policarboxilatos.

Otros materiales reforzantes de la detergencia que pueden formar parte del sistema reforzante de la detergencia de uso en composiciones granulado incluyen materiales inorgánicos como carbonatos de metales alcalinos, bicarbonatos, silicatos y materiales orgánicos como los fosfonatos orgánicos, fosfonatos de aminopolialquilenos y aminopolicarboxilatos.

Otras sales orgánicas hidrosolubles adecuadas son los ácidos homo poliméricos o copoliméricos o sus sales, en los que el ácido policarboxílico comprende al menos dos radicales carboxilo separados entre sí por no más de dos átomos de carbono. En la patente GB-A-1.596.756 se describen polímeros de este tipo. Ejemplos de estas sales son los poliácridatos con peso molecular de 2.000-5.000 y sus copolímeros con anhídrido maleico, teniendo estos copolímeros un peso molecular de 20.000 a 70.000, en especial de aproximadamente 40.000.

Las sales mejoradoras de la detergencia están normalmente incluidas en cantidades de 5% a 80% en peso de la composición, de preferencia de 10% a 70% y por lo general de 30% a 60% en peso.

Enzimas detergentes convencionales

Las composiciones detergentes de lavado de ropa pueden comprender, además de la enzima mananasa, una o más enzimas que proporcionan ventajas de capacidad limpiadora, cuidado de los tejidos y/o desinfección.

Dichas enzimas incluyen enzimas seleccionadas de celulasas, hemicelulasas, peroxidadas, proteasas, gluco-amilasas, amilasas, xilanasas, lipasas, fosfolipasas, esterases, cutinasas, pectinasas, queratanasas, reductasas, oxidasas, fenoloxidasas, lipoxigenasas, ligninasas, pululaninas, tanasas, pentosanasas, malanasas, β -glucanasas, arabinosidasas, hialuronidasas, condroitinasas, lacasas o mezclas de las mismas.

Una combinación preferida es una composición detergente de lavado de ropa que tiene una combinación de enzimas aplicables convencionales como proteasa, amilasa, lipasa, cutinasa y/o celulasa con una o más enzimas de degradación de la pared celular vegetal.

Proteasas adecuadas son las subtilisinas que se obtienen de cepas específicas de *B. subtilis* y *B. licheniformis* (subtilisina BPN y BPN'). Una proteasa adecuada se obtiene de una cepa de *Bacillus* que presenta una actividad máxima en el intervalo de pH de 8-12, y es desarrollada y comercializada como ESPERASE® por Novo Industries A/S de Dinamarca, en adelante "Novo". La preparación de esta enzima y de enzimas análogas se describe en la patente GB-1.243.784 de Novo. Otras proteasas adecuadas incluyen ALCALASE®, DURAZYM® y SAVINASE® de Novo y MAXATASE®, MAXACAL®, PROPERASE® y MAXAPEM® (proteína obtenida por ingeniería genética de Maxacal) de Gist-Brocades. Las enzimas proteolíticas también abarcan serina proteasas bacterianas modificadas, tales como las descritas en la solicitud EP 251 446, presentada el 28 de abril de 1987 (especialmente páginas 17, 24 y 98), y la cual se denomina en la presente memoria "Proteasa B" y en la solicitud EP-199.404, Venegas, presentada el 29 de octubre de 1986, la cual se refiere a una enzima proteolítica serina bacteriana modificada la cual se denomina "Proteasa A" en la presente memoria. Resulta adecuada la proteasa denominada en la presente memoria "proteasa C", que es una variante de una serinproteasa alcalina de *Bacillus* en la que la lisina sustituye a la arginina en la posición 27, la tirosina sustituye a la valina en la posición 104, la serina sustituye a la asparagina en la posición 123 y la alanina sustituye a la treonina en la posición 274. La proteasa C se describe en EP 451 244 correspondiente a WO 91/06637, publicada el 16 de mayo de 1991. Las variantes modificadas genéticamente, en especial de proteasa C, también se incluyen en la presente memoria.

Una proteasa preferida, en adelante "proteasa D" es una variante de la carbonil hidrolasa que tiene una secuencia de aminoácidos que no se encuentra en la naturaleza y que se deriva de un precursor carbonil hidrolasa por sustitución de un aminoácido diferente por una pluralidad de restos aminoácido en una posición en dicha carbonil hidrolasa equivalente a la posición +76, preferiblemente también junto con una o más posiciones de residuos aminoácido equivalente a las seleccionadas del grupo que consiste en +99, +101, +103, +104, +107, +123, +27, +105, +109, +126, +128, +135, +156, +166, +195, +197, +204, +206, +210, +216, +217, +218, +222, +260, +265 y/o +274 según la numeración de *Bacillus amiloliquefaciens* subtilisina, según WO95/10591 y en la solicitud de patente de C. Ghosh y col., "Bleaching Compositions Comprising Protease Enzymes" WO 95/10592, presentada el 13 de octubre de 1994. También resulta adecuada una variante carbonil hidrolasa de la proteasa descrita en WO95/10591 que tiene una secuencia de aminoácidos derivada por sustitución de una pluralidad de residuos aminoácido sustituidos en la enzima precursora en la posición +210 junto con uno o más de los siguientes residuos: +33, +62, +67, +76, +100, +101, +103, +104, +107, +128, +129, +130, +132, +135, +156, +158, +164, +166, +167, +170, +209, +215, +217, +218 y +222, en donde la posición numerada corresponde a la subtilisina natural de *Bacillus amiloliquefaciens* o a residuos aminoácido equivalente en otras carbonil hidrolasas o subtilisinas tales como la subtilisina *Bacillus lentus* (solicitud de patente codependiente WO 98/55634, presentada el 4 de junio de 1997).

También son adecuadas para la presente invención las proteasas descritas en las solicitudes EP-251 446 y WO-91/06637, la proteasa BLAP® descrita en WO91/02792 y sus variantes descritas en WO 95/23221.

Véase asimismo una proteasa de pH alto de *Bacillus sp.* NCIMB 40338 descrita en WO 93/18140 A concedida a Novo. En WO 92/03529 A, concedida a Novo, se describen detergentes enzimáticos que comprenden proteasa, una o más enzimas adicionales y un inhibidor de proteasa reversible. Si se desea, existe una proteasa con adsorción reducida e hidrólisis aumentada según se describe en WO 95/07791 concedida a Procter & Gamble. En WO 94/25583 concedida a Novo se describe una proteasa recombinante similar a la tripsina para detergentes adecuados según la presente invención. Otras proteasas adecuadas se describen en EP 516 200 concedida a Unilever.

Las enzimas proteolíticas se incorporan en las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención a un nivel de 0,0001% a 2%, preferiblemente de 0,001% a 0,2%, más preferiblemente de 0,005% a 0,1%, de enzima pura en peso de la composición.

Las celulasas útiles en la presente invención incluyen celulasas bacterianas y fúngicas. Preferiblemente, tendrán un pH óptimo de 5 a 12 y una actividad específica superior a 50 CEVU/mg (unidad de viscosidad de celulosa). Las celulasas adecuadas se describen en la patente US-4.435.307, Barbesgaard y col., J61078384 y WO96/02653, las cuales describen una celulasa fúngica producida, respectivamente a partir de *Humicola insolens*, *Trichoderma*, *Thielavia* y *Sporotrichum*. En EP 739 982 se describen celulasas aisladas de una nueva especie de *Bacillus*. Celulasas adecuadas también se describen en GB-A-2.075.028; GB-A-2.095.275; DE-OS-2.247.832 y WO95/26398.

ES 2 268 780 T3

Ejemplos de estas celulasas son las celulasas obtenidas de una cepa de *Humicola insolens* (*Humicola grisea* var. *thermoidea*), en particular la cepa de *Humicola* DSM 1800.

5 Otras celulasas adecuadas son celulasas derivadas de *Humicola insolens* que tienen un peso molecular de aproximadamente 50 KDa, un punto isoeléctrico de 5,5 y que contienen 415 aminoácidos y una endoglucanasa de ~43 kD derivada de *Humicola insolens*, DSM 1800, que presenta actividad celulasa; un componente endoglucanasa preferido tiene la secuencia de aminoácidos descrita en la solicitud PCT WO 91/17243. También son celulasas adecuadas las celulasas EGIH de *Trichoderma longibrachiatum* descritas en WO94/21801, Genencor, publicada el 29 de septiembre de 1994. Celulasas especialmente adecuadas son las celulasas que presentan ventajas para el cuidado del color. 10 Ejemplos de estas celulasas son las celulasas descritas en la solicitud de patente europea EP 495 257, publicada el 6 de noviembre de 1991 (Novo). Carezyme y Celluzyme (Novo Nordisk A/S) son especialmente útiles. Véase también WO91/17244 y WO91/21801. Otras celulasas adecuadas con propiedades de cuidado de los tejidos y/o limpieza se encuentran descritas en WO96/34092, WO96/17994 y WO95/24471.

15 Dichas celulasas son normalmente incorporadas en la composición detergente de lavado de ropa a niveles de 0,0001% a 2% de enzima pura en peso de la composición detergente de lavado de ropa.

Las enzimas peroxidasa se utilizan junto con fuentes de oxígeno, p. ej., percarbonato, perborato, persulfato, peróxido de hidrógeno, etc. y con un sustrato fenólico como molécula mejoradora del blanqueador. Se utilizan para 20 “blanquear la solución”, es decir, para evitar la transferencia de tintes o pigmentos eliminados de los sustratos durante las operaciones de lavado a otros sustratos en la solución de lavado. Las enzimas peroxidasa son conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, peroxidasa de rábano, ligninasa y haloperoxidasa como la cloro-peroxidasa y la bromo-peroxidasa. Las composiciones detergentes que contienen peroxidasa se describen, por ejemplo, en la solicitud internacional PCT WO 89/099813, WO89/09813 y en la solicitud de patente europea EP 540 784, publicada el 6 de 25 noviembre de 1991. También resulta adecuada la enzima lacasa.

Los mejoradores están generalmente comprendidos a un nivel de 0,1% a 5% en peso de la composición total. Los mejoradores preferidos son la fentiazina y la fenoxasina sustituidas, el ácido 10-fenotiazinpropiónico (PPT), el ácido 10-etilfenotiazin-4-carboxílico (EPC), el ácido 10-fenoxazinpropiónico (POP) y la 10-metilfenoxazina (descritos en 30 WO 94/12621), los siringatos (alquil C3-C5 siringatos sustituidos) y los fenoles sustituidos. El percarbonato sódico o el perborato son fuentes de peróxido de hidrógeno preferidas.

Dichas peroxidases son normalmente incorporadas en la composición detergente de lavado de ropa a niveles de 0,0001% a 2% de enzima pura en peso de la composición detergente de lavado de ropa. 35

Otras enzimas preferidas que pueden incluirse en las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención incluyen lipasas. Enzimas lipasa adecuadas para el uso en detergente incluyen las producidas por microorganismo del grupo de las *Pseudomonas*, como por ejemplo *Pseudomonas stutzeri* ATCC 19.154, según se describe en la patente GB-1.372.034. Las lipasas adecuadas incluyen las que exhiben una reacción cruzada inmunológica positiva con el anticuerpo de la lipasa, producidas por el microorganismo *Pseudomonas fluorescens* IAM 1057. Esta lipasa es comercializada por Amano Pharmaceutical Co. Ltd., Nagoya, Japón, con el nombre comercial lipasa P “Amano”, en lo sucesivo denominada “Amano-P”. Otras lipasas comerciales adecuadas incluyen Amano-CES, lipasas ex *Chromobacter viscosum*, por ejemplo *Chromobacter viscosum* var. *lipolyticum* NRRLB 3673 de Toyo Jozo Co., Tagata, Japón; lipasas de *Chromobacter viscosum* de US-Biochemical Corp., EE.UU. y Disoynt Co., Holanda, y lipasas de 45 *Pseudomonas gladioli*. Lipasas especialmente adecuadas son las lipasas como M1 Lipase® y Lipomax® (Gist-Brocades) y Lipolase® y Lipolase Ultra® (Novo) las cuales se ha observado que son muy eficaces cuando se usan en combinación con las composiciones de la presente invención. También son adecuadas las enzimas lipolíticas descritas en EP 258 068, WO 92/05249 y WO 95/22615 por Novo Nordisk y en WO 94/03578, WO 95/35381 y WO 96/00292 por Unilever. 50

También son adecuadas las cutinasas [EC 3.1.1.50] que pueden considerarse como un tipo especial de lipasa, a saber lipasas que no requieren una activación de interfase. La adición de cutinasas a composiciones detergentes se ha descrito por ejemplo en WO-A-88/09367 (Genencor); WO 90/09446 (Plant Genetic System) y WO 94/14963 y WO 94/14964 (Unilever). 55

Las lipasas y/o cutinasas se incorporan normalmente en la composición detergente de lavado de ropa a niveles de 0,0001% a 2% de enzima pura en peso de la composición detergente de lavado de ropa.

Pueden incluirse amilasas (α y/o β) para eliminar las manchas de carbohidratos. En WO94/02597, concedido a 60 Novo Nordisk A/S el 3 de febrero de 1994, se describen composiciones detergentes que incorporan amilasas mutantes. Ver también WO95/10603, concedido a Novo Nordisk A/S el 20 de abril de 1995. Otras amilasas conocidas por su uso en composiciones detergentes incluyen las α -amilasas y las β -amilasas. Las α -amilasas son conocidas en la técnica e incluyen las descritas en las patentes US-5.003.257; EP 252.666; WO/91/00353; FR 2.676.456; EP 285.123; EP 525.610; EP 368.341; y GB-1.296.839 (Novo). Otras amilasas adecuadas son las amilasas con estabilidad mejorada 65 descritas en WO94/18314, publicado el 18 de agosto de 1994, y WO96/05295, concedido el 22 de febrero de 1996 a Genencor, y variantes de amilasa que tiene una modificación adicional en el precursor inmediato comercializadas por Novo Nordisk A/S, descritas en WO 95/10603, publicado en abril de 1995. También son adecuadas las amilasas descritas en EP 277 216, WO95/26397 y WO96/23873 (todas de Novo Nordisk).

ES 2 268 780 T3

Ejemplos de productos α -amilasas comerciales de Purafect Ox Am[®] de Genencor y Termamyl[®], Ban[®], Fungamyl[®] y Duramyl[®], todos ellos comercializados por Novo Nordisk A/S Dinamarca. WO95/26397 describe otras amilasas adecuadas: α -amilasas caracterizadas por tener una actividad específica de al menos 25% superior a la actividad específica de Termamyl[®] a un intervalo de temperatura de 25°C a 55°C y con un valor de pH en el intervalo de 8 a 10, medido mediante el ensayo de actividad de α -amilasa de Phadebas[®]. Resultan adecuadas las variantes de las enzimas anteriores, descritas en WO96/23873 (Novo Nordisk). Otras enzimas amilolíticas con mejores propiedades de nivel de actividad y con una combinación de termoestabilidad y un mayor nivel de actividad se encuentran descritas en WO95/35382.

Las enzimas amilolíticas se incorporan en las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención a un nivel de 0,0001% a 2%, preferiblemente de 0,00018% a 0,06%, más preferiblemente de 0,00024% a 0,048%, de enzima pura en peso de la composición.

Las enzimas anteriormente mencionadas pueden ser de cualquier origen adecuado, tales como vegetal, animal, bacteriano, fúngico o de levadura. El origen también puede ser mesófilo o extremófilo (psicrófilo, psicotrópico, termófilo, barófilo, alcalófilo, acidófilo, halófilo, etc.). Pueden utilizarse formas purificadas o no purificadas de estas enzimas. Actualmente es una práctica común modificar enzimas de tipo salvaje mediante técnicas de ingeniería de proteínas/genética para optimizar su rendimiento en las composiciones detergentes de lavado de ropa de la invención. Por ejemplo, las variante pueden diseñarse para aumentar la compatibilidad de la enzima con respecto a los ingredientes de uso común en estas composiciones. De forma alternativa, la variante se puede diseñar de tal modo que el pH óptimo, estabilidad del blanqueador o del quelante, actividad catalítica y similares de la enzima sea la adecuada para la aplicación limpiadora particular.

En particular, debe dedicarse especial atención a los aminoácidos sensibles a la oxidación para la estabilidad del blanqueador y en el caso de cargas superficiales para la compatibilidad del tensioactivo. Puede modificarse el punto isoeléctrico de estas enzimas sustituyendo algunos aminoácidos cargados de forma que, p. ej., un aumento del punto isoeléctrico puede ayudar a mejorar la compatibilidad con los tensioactivos aniónicos. También puede mejorarse la estabilidad de las enzimas creando, p. ej., puentes de sal adicionales y haciendo que los sitios de unión del calcio aumenten la estabilidad del quelante. Deberá dedicarse especial atención a las celulasas ya que la mayoría de las celulasas tienen dominios de unión separados (CBD). Pueden alterarse las propiedades de estas enzimas modificando estos dominios.

Dichas enzimas se incorporan normalmente a la composición detergente de lavado de ropa a niveles de 0,0001% a 2% de enzima pura en peso de la composición detergente de lavado de ropa. Las enzimas se pueden añadir como ingredientes independientes por separado (pellets, granulados, líquidos estabilizados, etc. que contienen una enzima) o como mezclas de dos o más enzimas (p. ej. cogranulados).

Otros ingredientes detergentes adecuados que pueden añadirse son los eliminadores de la oxidación de enzimas que se describen en la solicitud de patente codependiente EP-92870018.6, presentada el 31 de enero de 1992. Ejemplos de estos eliminadores de la oxidación de enzimas son las tetraetilen poliaminas etoxiladas.

En WO 9307263 A y WO 9307260 A, de Genencor International, WO 8908694 A, de Novo, y la patente US-3.553.139, concedida a McCarty y col. el 5 de enero de 1971, también se describen diferentes materiales enzimáticos y medios para su incorporación en las composiciones detergentes sintéticas. También se describen enzimas en la patente US-4.101.457, concedida a Place y col. el 18 de julio de 1978 y la patente US-4.507.219, concedida a Hughes el 26 de marzo de 1985. Materiales enzimáticos útiles para formulaciones de detergente líquidas y para la incorporación de los mismos en dichas formulaciones se describen en la patente US-4.261.868, concedida a Hora y col. el 14 de abril de 1981. Las enzimas para su uso en detergente pueden estabilizarse mediante diferentes técnicas. En la patente US-3.600.319, concedida a Gedge y col. el 17 de agosto de 1971 y EP-199.405 y EP-200.586, concedidas a Venegas el 29 de octubre de 1986, se describen e ilustran técnicas para la estabilización de enzimas. Los sistemas de estabilización de enzimas se describe también, por ejemplo, en la patente US-3.519.570. Una especie de Bacillus, AC13, útil que produce proteasas, xilanasas y celulasas se describe en WO 9401532 A de Novo.

Ventajas para el cuidado de los colores y los tejidos

También pueden incluirse tecnologías que proporcionan un tipo de ventaja de protección del color. Ejemplos de estas tecnologías son catalizadores metálicos para la conservación de colores. Estos catalizadores metálicos se describen en la solicitud de patente codependiente EP-92870181.2. Los fijadores de colorantes, la dispersión de poliolefina para evitar las arrugas y mejorar la absorbancia de agua, los perfumes y los polímeros con funcionalidad amina (PCT/US97/16546) para el tratamiento del cuidado de los colores y la permanencia del perfume son otros ejemplos de tecnologías para el cuidado de los colores y de los tejidos.

En las composiciones detergentes para lavado de ropa según la presente invención pueden incorporarse asimismo agentes suavizantes de tejidos. Estos agentes pueden ser de tipo inorgánico u orgánico. Ejemplos de suavizantes inorgánicos son las arcillas de esmectita descritas en GB-A-1.400.898 y en la USP 5.019.292. Los suavizantes de tejido orgánicos incluyen las aminas terciarias insolubles en agua según se describe en GB-A1.514.276 y EP-B0.011.340 y su combinación con sales de amonio cuaternario mono C12-C14 descritas en EP-B-0.026.527 y EP-B-0.026.528 y diamidas de cadena larga según se describe en EP-B-0.242.919. Otros ingredientes útiles de sistemas suavizantes de

ES 2 268 780 T3

tejidos incluyen materiales de poli(óxido de etileno) de alto peso molecular según se describe en EP-A-0.299.575 y 0.313.146.

5 Los niveles de arcilla tipo esmectita son normalmente del 2% al 20%, más preferiblemente del 5% al 15% en peso, añadiéndose el producto como un componente mezclado en seco al resto de la formulación. Los suavizantes de tejidos orgánicos como los materiales a base de aminas terciarias no hidrosolubles o amidas de doble cadena larga se incorporan en niveles del 0,5% al 5% en peso, normalmente del 1% al 3% en peso, en tanto que los materiales de poli(óxido de etileno) de alto peso molecular y los materiales catiónicos hidrosolubles se añaden en cantidades del 0,1% al 2%, normalmente del 0,15% al 1,5% en peso. Estos materiales se añaden normalmente a la porción
10 secada por pulverización de la composición, aunque en algunos casos puede ser más adecuado añadirlos como mezcla de partículas mezcladas en seco o pulverizarlas en forma de líquido fundido sobre los componentes sólidos de la composición.

Agentes quelantes

15 Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención también pueden contener opcionalmente uno o más agentes quelantes de hierro y/o manganeso. Agentes quelantes de este tipo se pueden seleccionar del grupo que consiste en aminocarboxilatos, aminofosfonatos, agentes quelantes aromáticos polifuncionalmente sustituidos y sus mezclas, todos ellos tal como se definen a continuación. Sin pretender imponer ninguna teoría, se piensa que la
20 ventaja de estos materiales se debe, en parte, a su excepcional capacidad de separar iones hierro y manganeso de soluciones de lavado mediante la formación de quelatos solubles.

25 Los aminocarboxilatos útiles como agentes quelantes opcionales incluyen etilendiaminotetracetatos, N-hidroxi-etil-etilén-diamino-triacetatos, nitrilotriacetatos, etilendiamino tetrapropionatos, trietiléntetraamino-hexacetatos, dietilén-triamino-pentaacetatos, y etanoldiglicinas, sales de metal alcalino, amonio, y amonio sustituido de los mismos y mezclas de los mismos

30 Los amino fosfonatos son también adecuados para su uso como agentes quelantes en las composiciones de la invención cuando se permiten al menos bajos niveles de fósforo total en las composiciones detergentes de lavado de ropa e incluyen etilendiamino tetraquis (metilénfosfonatos) como DEQUEST™. Preferiblemente, estos amino fosfonatos no contienen grupos alquilo o alquenilo con más de aproximadamente 6 átomos de carbono.

35 Los agentes quelantes aromáticos polifuncionalmente sustituidos son también útiles en las composiciones de esta invención. Véase la patente US-3.812.044, concedida el 21 de mayo de 1974 a Connor y col. Los compuestos preferidos de este tipo en forma ácida son los dihidroxisulfobencenos, tales como el 1,2-dihidroxi-3,5-disulfobenceno.

40 Un quelante biodegradable preferido de uso en la presente invención es el disuccinato de etilendiamina ("EDDS"), especialmente el isómero [S,S] según se describe en la patente US-4.704.233, concedida el 3 de noviembre de 1987 a Hartman y Perkins.

Las composiciones de la presente invención también pueden contener sales (o la forma ácida) hidrosolubles del ácido metil glicin di-acético (MGDA) como quelante o co-aditivo reforzante de la detergencia útil con, por ejemplo, aditivos reforzantes de la detergencia insolubles como las zeolitas, los silicatos laminares y similares.

45 Si se utilizan, estos agentes quelantes generalmente comprenderán de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 15% en peso de las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención. Más preferiblemente, si se utilizan, los agentes quelantes comprenderán de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 3,0% en peso de tales composiciones.

Supresor de las jabonaduras

50 Otro ingrediente opcional es un antiespumante, ilustrado por siliconas y mezclas de sílice-silicona. Por lo general, las siliconas están representadas por materiales de polisiloxano alquilados mientras que la sílice se utiliza normalmente en formas finamente divididas como, p. ej., aerogeles y xerogeles de sílice y sílices hidrófobas de diferentes tipos. Estos
55 materiales pueden incorporarse en forma de partículas en las que el supresor de las jabonaduras está incorporado ventajosamente de forma liberable en un vehiculante impermeable detergente, hidrosoluble o dispersable en agua, básicamente no tensioactivo. De forma alternativa, el supresor de las jabonaduras puede disolverse o dispersarse en un vehículo líquido y aplicarse mediante pulverización en uno o más de componentes adicionales.

60 Un regulador de las jabonaduras de silicona preferido se describe en la patente, concedida a Bartollota y col., US-3 933 672. Otros supresores de las jabonaduras particularmente útiles son los supresores de las jabonaduras de silicona autoemulsionantes, descritos en la solicitud de patente alemana DTOS 2 646 126, publicada el 28 de abril de 1977. Un ejemplo de compuesto de este tipo es DC-544, comercializado por Dow Corning, que es un copolímero de siloxano-glicol. Un regulador de las jabonaduras especialmente preferido es el sistema de supresor de las jabonaduras
65 que comprende una mezcla de aceites de silicona y 2-alkuilalcanoles. Los 2-alkuilalcanoles adecuados son el 2-butil-octanol comercializado bajo la marca registrada Isofol 12 R.

ES 2 268 780 T3

Este sistema supresor de las jabonaduras se describe en la solicitud de patente codependiente EP 593 841, presentada el 10 noviembre de 1992.

Reguladores de las jabonaduras de tipo silicona especialmente preferidos se describen en la solicitud de patente codependiente EP 573 699. Dichas composiciones pueden comprender una mezcla de silicona/sílice junto con sílice de humo no porosa tal como Aerosil®.

Los antiespumantes anteriormente descritos se utilizan normalmente a niveles de 0,001% a 2% en peso, preferiblemente de 0,01% a 1% en peso, de la composición.

Otros

Pueden utilizarse otros componentes en las composiciones detergentes de lavado de ropa tales como suspensores de la suciedad, agentes para liberar la suciedad, abrillantadores ópticos, abrasivos, bactericidas, inhibidores del empañado, colorantes y/o perfumes encapsulados o no encapsulados.

Productos encapsulantes especialmente adecuados son cápsulas hidrosolubles que constan de una placa de polisacárido y polihidroxi compuestos tales como los descritos en GB 1.464.616. Otros productos hidrosolubles encapsulantes adecuados comprenden dextrina derivadas de ésteres del almidón sin gelatinizar de ácidos dicarboxílicos sustituidos tales como los descritos en US-3.455.838. Estas dextrinas derivadas de ésteres se preparan, preferiblemente, a partir de estos almidones como maíz céreo, sorgo céreo, sagú, tapioca y patata. Ejemplos adecuados de dichos materiales encapsulantes incluyen N-Lok, fabricado por National Starch. El material encapsulante de N-Lok consiste en un almidón de maíz modificado y glucosa. El almidón se ha modificado mediante la adición de grupos sustituidos monofuncionales como, por ejemplo, anhídrido del ácido octenilsuccínico.

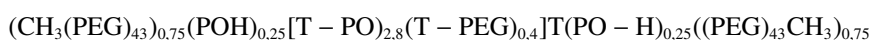
Los agentes antirredeposición y suspensores de la suciedad adecuados de la presente invención incluyen derivados de la celulosa tales como metilcelulosa, carboximetilcelulosa e hidroxietilcelulosa y ácidos policarboxílicos homo poliméricos o copoliméricos o sus sales. Los polímeros de este tipo incluyen los poliácridatos y los copolímeros de anhídrido maleico-ácido acrílico señalados más arriba como aditivos reforzantes de la detergencia, así como copolímeros de anhídrido maleico con etileno, éter de metilvinilo o ácido metacrílico, constituyendo el anhídrido maleico por lo menos 20 moles por ciento del copolímero. Estos materiales se utilizan normalmente en cantidades del 0,5% al 10% en peso, más preferiblemente del 0,75% al 8%, con máxima preferencia del 1% al 6%, en peso de la composición.

Los abrillantadores ópticos preferidos son de tipo aniónico como, por, ejemplo, 4,4'-bis-(2-dietanolamino-4-anilino-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato disódico, 4,4'-bis-(2-morfolino-4-anilino-s-triazin-6-ilamino-estilbeno-2,2'-disulfonato disódico, 4,4'-bis-(2,4-dianilino-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato disódico, 4',4''-bis-(2,4-dianilino-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2-sulfonato monosódico, 4,4'-bis-(2-anilino-4-(N-metil-N-2-hidroxi-etilamino)-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato disódico, 4,4'-bis-(4-fenil-2,1,3-triazol-2-il)-estilbeno-2,2'-disulfonato disódico, 4,4'bis(2-anilino-4-(1-metil-2-hidroxi-etilamino)-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato disódico, 2(estilbil-4''-(nafto-1',2',4,5)-1,2,3-triazol-2''-sulfonato sódico y 4,4'-bis(2-sulfoestiril)bifenilo. Los abrillantadores altamente preferidos son los abrillantadores específicos descritos en EP 753 567.

Otros productos poliméricos útiles son los polietilenglicoles, en especial los de peso molecular de 1.000 a 10.000, más preferibles los de 2.000 a 8.000 y con máxima preferencia los de aproximadamente 4.000. Estos son utilizados a niveles del 0,20% al 5%, y más preferiblemente del 0,25% al 2,5%, en peso. Estos polímeros y las sales de policarboxilato homopoliméricas y copoliméricas arriba señaladas son eficaces a la hora de mejorar la conservación de la blancura, la deposición de cenizas del tejido y la capacidad de limpieza de manchas de arcilla, de naturaleza proteica y oxidables en presencia de impurezas de metales de transición.

Polímeros para la liberación de la suciedad convencionales

Preferiblemente, las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención comprenderán otro polímero para la liberación de la suciedad convencional. Esta composición proporciona mejor capacidad de limpieza y de liberación de la suciedad. El polímero para la liberación de la suciedad adecuado es el poliéster con extremos protegidos con anión y de forma convencional copolímeros o terpolímeros de ácido tereftálico con unidades etilenglicol y/o propilenglicol en diferentes disposiciones tales como el polipropileno tereftalato dietoxilado. Ejemplos de estos polímeros se describen en las patentes de asignación común US-4116885 y US-4711730 y la EP-0 272 033. Un polímero preferido en particular según EP-A-0 272 033 tiene la fórmula



en donde PEG es $-(\text{OC}_2\text{H}_4)_n\text{O}-$, PO es $(\text{OC}_3\text{H}_6\text{O})$ y T es $(\text{pCOC}_6\text{H}_4\text{CO})$.

También son muy útiles los poliésteres modificados como los copolímeros aleatorios del dimetil tereftalato, sulfoisofталato de dimetilo, etilenglicol y 1-2 propanodiol, los grupos terminales que constan en primer lugar de sulfobenzoato y en segundo lugar de monoésteres de etilenglicol y/o propanodiol. El objetivo es conseguir un polímero terminalmente protegido en ambos extremos por grupos sulfobenzoato; "primariamente", en el presente contexto, la

ES 2 268 780 T3

mayoría de dichos copolímeros según la presente invención tendrán extremos protegidos por grupos sulfobenzoato. Sin embargo, algunos copolímeros no tienen los terminales totalmente protegidos, de forma que sus grupos terminales pueden consistir en monoéster de etilenglicol y/o propano-1-2-diol, comprendiendo "secundariamente" estas variantes.

5 Los poliésteres seleccionados según la presente invención contienen aproximadamente un 46% en peso de ácido dimetiltereftálico, aproximadamente un 16% en peso de propano-1,2 diol, aproximadamente 10% en peso de etilenglicol, aproximadamente un 13% en peso de ácido dimetilsulfobenzoico y aproximadamente 15% en peso de ácido sulfisoftálico, y tienen un peso molecular de aproximadamente 3.000. Los poliésteres y su método de preparación se describen en detalle en EPA 311 342.

Es bien conocido en la técnica que el cloro libre en el agua del grifo desactiva rápidamente las enzimas comprendidas en las composiciones detergentes. Por tanto, el uso de eliminadores de cloro tales como perborato, sulfato amónico, sulfito sódico o polietilenimina a un nivel superior al 0,1%, en peso de la composición total en las fórmulas proporcionará una mejor estabilidad durante el lavado de las enzimas detergente. Composiciones que comprenden un eliminador de cloro se encuentran descritas en la solicitud de patente europea EP 553 607 publicada el 31 de enero de 1992.

Los policarboxilatos alcoxilados, tales como los preparados a partir de poliácridatos, son útiles en esta invención para proporcionar una capacidad de eliminación de la grasa adicional. Este tipo de materiales se describe en WO-91/08281 y en el documento PCT-90/01815 en la p. 4 y sig. Químicamente, estos materiales comprenden poliácridatos con una cadena lateral etoxi por cada 7-8 unidades acrilato. Las cadenas laterales son de la fórmula $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, en donde m es 2-3 y n es 6-12. Las cadenas laterales están unidas con éster a la "cadena principal" de poliácridato proporcionando una estructura de tipo polímero "combinado". El peso molecular puede variar, pero típicamente se encuentra en el intervalo de aproximadamente 2.000 a aproximadamente 50.000. Policarboxilatos alcoxilados de este tipo pueden comprender de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 10% en peso, de las composiciones de esta invención.

Dispersantes

Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención también pueden contener dispersantes. Sales orgánicas hidrosolubles adecuadas son los ácidos homopoliméricos o copoliméricos o sus sales en los que el ácido policarboxílico comprende al menos dos radicales carboxilo separados entre sí por no más de dos átomos de carbono. En la patente GB-A-1.596.756 se describen polímeros de este tipo. Ejemplos de estas sales son los poliácridatos con peso molecular de 2.000-5.000 y sus copolímeros con anhídrido maleico, teniendo estos copolímeros un peso molecular de 1.000 a 100.000.

Especialmente, pueden añadirse copolímeros de acrilato y metilacrilato tales como los 480N que tienen un peso molecular de 4000, a un nivel de 0,5-20% en peso de la composición en las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención.

Las composiciones de la invención pueden contener un compuesto peptizador de jabón de cal, que tiene preferiblemente una capacidad dispersante de jabón de cal (LSDP) como se define más adelante, de no más de 8, preferiblemente de no más de 7 y con máxima preferencia de no más de 6. El compuesto peptizador de jabón de cal está preferiblemente presente a un nivel del 0% al 20% en peso.

Una cuantificación de la eficacia de un peptizador de jabón calcáreo se obtiene mediante la capacidad dispersante del jabón calcáreo (LSDP) que se determina mediante en ensayo de dispersante de jabón calcáreo según un artículo de H.C. Borghetty y C.A. Bergman, J. Am. Oil. Chem. Soc., vol. 27, págs. 88-90, (1950). Este método de ensayo de dispersión del jabón calcáreo es ampliamente utilizado por técnicos en este campo de la técnica y se referencia, por ejemplo, en los siguientes artículos; W.N. Linfield, Surfactant science Series, vol. 7, p. 3; W.N. Linfield, Tenside surf. det., vol. 27, págs. 159-163, (1990); y M.K. Nagarajan, W.F. Masler, Cosmetics and Toiletries, vol. 104, págs. 71-73, (1989). La LSDP es la relación de peso (en %) entre el agente dispersante y el oleato sódico requerida para dispersar los depósitos de jabón calcáreo formados por 0,025 g de oleato sódico en 30 ml de agua de 333 ppm de CaCO_3 (Ca:Mg=3:2) equivalentes de dureza.

Los tensioactivos con una buena acción peptizadora de jabón de cal incluirán ciertos óxidos de amina, betaínas, sulfobetaínas, alquil etoxisulfatos y alcoholes etoxilados.

Entre los tensioactivos ilustrativos que tienen una LSDP de no más de 8 para su uso en la presente invención se incluyen el dimetil óxido de amina $\text{C}_{16}\text{-C}_{18}$, los alquil $\text{C}_{12}\text{-C}_{18}$ etoxisulfatos con un grado medio de etoxilación de 1-5, en especial el tensioactivo alquil $\text{C}_{12}\text{-C}_{15}$ etoxisulfato con un grado de etoxilación de 3 (LSDP=4) y los alcoholes etoxilados $\text{C}_{14}\text{-C}_{15}$ con un grado medio de etoxilación de 12 (LSDP=6) o de 30, comercializados con las marcas registradas Lutensol A012 y Lutensol A030, respectivamente, por BASF GmbH.

Los peptizadores de jabón calcáreo poliméricos adecuados de uso en la presente invención se encuentran descritos en el artículo de M.K. Nagarajan, W.F. Masler, que se encuentra en Cosmetics and Toiletries, vol. 104, págs. 71-73, (1989).

ES 2 268 780 T3

También pueden utilizarse como peptizadores de jabón calcáreo los blanqueadores hidrófobos tales como 4-[N-octanoil-6-aminohexanoil]benceno sulfonato, 4-[N-nonanoil-6-aminohexanoil]benceno sulfonato, 4-[N-decanoil-6-aminohexanoil]benceno sulfonato y mezclas de los mismos; y el nonanoiloxi benceno sulfonato junto con formulaciones blanqueadoras hidrófilas/hidrófobas.

5

Inhibición de transferencia de colorantes

Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención también pueden incluir compuestos para inhibir la transferencia de un tejido a otro de los colorantes disueltos y suspendidos presentes durante las operaciones de lavado de tejidos coloreados.

10

Agentes poliméricos inhibidores de la transferencia de colorantes

Las composiciones detergentes de lavado de ropa según la presente invención también comprenden de 0,001% a 10%, preferiblemente de 0,01% a 2%, más preferiblemente de 0,05% a 1%, en peso de agentes inhibidores de la transferencia de colorantes poliméricos. Dichos agentes inhibidores de la transferencia de colorantes poliméricos se incorporan normalmente a las composiciones detergentes de lavado de ropa para inhibir la transferencia de colorantes desde los tejidos coloreados a los tejidos lavados con los mismos. Estos polímeros tienen la propiedad de adsorber o de formar complejos con los colorantes fugitivos procedentes de los tejidos de color antes de que estos puedan fijarse en otros productos lavados.

15

20

Inhibidores poliméricos de transferencia de colorantes especialmente adecuados son polímeros de N-óxido de poliamina, copolímeros de N-vinilpirrolidona y N-vinilimidazol, polímeros de polivinilpirrolidona, poliviniloxazolidonas y polivinilimidazoles o mezclas de los mismos.

25

La adición de estos polímeros mejora también el rendimiento de las enzimas según la invención.

a) Polímeros de N-óxido de poliamina

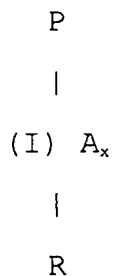
Los polímeros de N-óxido de poliamina adecuados para su uso en la invención contienen unidades con la siguiente fórmula estructural:

30

35

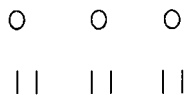
40

45



en donde P es una unidad polimerizable, el grupo R-N-O puede estar unido a o formar parte de la unidad polimerizable, o una combinación de ambos.

50



55

A es NC, CO, C, -O-, -S-, -N-; x es 0 ó 1;

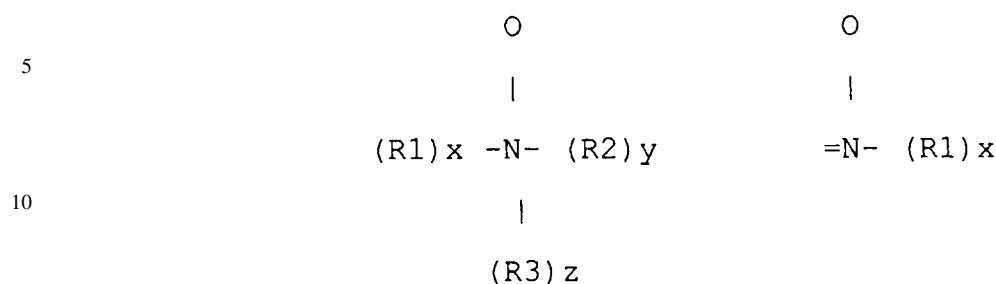
60

R son grupos alifáticos, alifáticos etoxilados, aromáticos heterocíclicos o alicíclicos o cualquier combinación de los mismos a los que puede fijarse el nitrógeno del grupo N-O o en donde el nitrógeno del grupo N-O es parte de estos grupos.

65

ES 2 268 780 T3

El grupo N-O puede estar representado por las estructuras generales siguientes:



15 en donde R1, R2 y R3 son grupos alifáticos, aromáticos, heterocíclicos o alicíclicos o combinaciones de los mismos, x o/y y o/y z es 0 ó 1 y en donde el nitrógeno del grupo N-O puede estar unido a o formar parte de estos grupos.

20 El grupo N-O puede formar parte de la unidad polimerizable (P) o puede estar unido a la cadena principal polimérica, o una combinación de ambos.

Los N-óxidos de poliamina adecuados en los que el grupo N-O forma parte de la unidad polimerizable comprenden los N-óxidos de poliamina en los que R se selecciona de grupos alifáticos, aromáticos, alicíclicos o heterocíclicos.

25 Una clase de dichos N-óxidos de poliamina comprende el grupo de los N-óxidos de poliamina en los que el nitrógeno del grupo N-O forma parte del grupo R. Los N-óxidos de poliamina preferidos son aquellos en los que R es un grupo heterocíclico como, por ejemplo, piridina, pirrol, imidazol, piperidina, quinolina, acridina y derivados de los mismos.

30 Otra clase de dichos N-óxidos de poliamina comprende el grupo de N-óxidos de poliamina en los que el nitrógeno del grupo N-O está unido al grupo R.

Otros N-óxidos de poliamina adecuados son los óxidos de poliamina en los que el grupo N-O está unido a la unidad polimerizable.

35 La clase preferida de estos N-óxidos de poliamina son los N-óxidos de poliamina con la fórmula general (I) en donde R es un grupo aromático, heterocíclico o alicíclico en el que el nitrógeno del grupo funcional N-O forma parte de dicho grupo R.

40 Ejemplos de estas clases son los óxidos de poliamina en los que R es un compuesto heterocíclico como, por ejemplo, piridina, pirrol, imidazol y derivados de los mismos.

Otra clase preferida de estos N-óxidos de poliamina son los óxidos de poliamina con la fórmula general (I) en donde R son grupos aromáticos, heterocíclicos o alicíclicos en los que el nitrógeno del grupo funcional N-O está unido a dichos grupos R.

45 Ejemplos de estas clases son los óxidos de poliamina en donde los grupos R pueden ser aromáticos como fenilo.

50 Puede utilizarse cualquier cadena principal polimérica con tal de que el polímero de óxido de amina formado sea hidrosoluble y tenga propiedades inhibitoras de la transferencia de colorantes. Son ejemplos de cadenas principales poliméricas adecuadas: polivinilos, polialquilenos, poliésteres, poliéteres, poliamidas, poliimidas, poliacrilatos y mezclas de los mismos.

55 Los polímeros de N-óxido de amina de la presente invención de forma típica tienen una relación amina:N-óxido de amina de 10:1 a 1:1.000.000. Sin embargo, puede modificarse la cantidad de grupos óxido de amina presente en el polímero de polióxido de amina mediante una adecuada copolimerización o mediante un adecuado grado de N-oxidación. Preferiblemente, la relación amina:N-óxido de amina es de 2:3 a 1:1.000.000, más preferiblemente de 1:4 a 1:1.000.000 y con máxima preferencia de 1:7 a 1:1.000.000. Los polímeros de la presente invención engloban realmente copolímeros aleatorios o de bloque en los que un tipo de monómero es un N-óxido de amina y el otro tipo de monómero puede ser o no un N-óxido de amina. La unidad de óxido de amina de los N-óxidos de poliamina tiene un PKa < 10, preferiblemente un PKa < 7 y más preferiblemente un PKa < 6.

60 Los óxidos de poliamina pueden obtenerse con casi cualquier grado de polimerización. El grado de polimerización no es crítico si el material tiene las propiedades deseadas en cuanto a solubilidad en agua y poder de suspensión de colorantes.

65 De forma típica, el peso molecular promedio está en el intervalo de 500 a 1.000.000; preferiblemente de 1.000 a 50.000, más preferiblemente de 2.000 a 30.000 y con máxima preferencia de 3.000 a 20.000.

ES 2 268 780 T3

b) Copolímeros de N-vinilpirrolidona y N-vinilimidazol

Los polímeros de N-vinilimidazol y N-vinilpirrolidona utilizados en la presente invención tienen un peso molecular medio de 5.000-1.000.000 y preferiblemente de 5.000 a 200.000.

Los polímeros muy preferidos para usar en las composiciones detergentes de lavado de ropa según la presente invención comprenden un polímero seleccionado de copolímeros de N-vinilimidazol N-vinilpirrolidona en donde dicho polímero tiene un peso molecular promedio en el intervalo de 5.000 a 50.000, más preferiblemente de 8.000 a 30.000 y con máxima preferencia de 10.000 a 20.000.

El intervalo de peso molecular promedio se determinó mediante difusión de luz según se describe en Barth H.G. y Mays J.W. Chemical Analysis vol. 113, "Modern Methods of Polymer Characterization".

Los copolímeros de N-vinilimidazol N-vinilpirrolidona especialmente preferidos tienen un intervalo de peso molecular promedio de 5.000 a 50.000; más preferiblemente de 8.000 a 30.000; con máxima preferencia de 10.000 a 20.000.

Los copolímeros de N-vinilimidazol y N-vinilpirrolidona caracterizados por tener dicho intervalo de peso molecular medio proporcionan una excelente capacidad de inhibición de la transferencia de colorantes y no afectan negativamente al rendimiento de limpieza de las composiciones detergentes formuladas con ellos.

Los copolímeros de N-vinilimidazol N-vinilpirrolidona según la presente invención tienen una proporción molar de N-vinilimidazol respecto a N-vinilpirrolidona de 1 a 0,2, más preferiblemente de 0,8 a 0,3, con máxima preferencia de 0,6 a 0,4.

c) Polivinilpirrolidona

Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención también pueden utilizar polivinilpirrolidona ("PVP") con un peso molecular promedio de aproximadamente 2.500 a aproximadamente 400.000, preferiblemente de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 200.000, más preferiblemente de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 50.000, y con máxima preferencia de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 15.000. Las polivinilpirrolidonas adecuadas son comercializadas por ISP Corporation, New York, NY y Montreal, Canadá, con los nombres de producto PVP K-15 (peso molecular en viscosidad de 10.000), PVP K-30 (peso molecular promedio de 40.000), PVP K-60 (peso molecular promedio de 160.000), y PVP K-90 (peso molecular promedio de 360.000). Otras polivinilpirrolidonas adecuadas son las comercializadas por BASF Cooperation que incluyen Sokalan™ HP 165 y Sokalan™ HP 12; y las polivinilpirrolidonas conocidas por el experto en el campo de los detergentes (véase, por ejemplo, EP-A-262.897 y EP-A-256.696).

d) Poliviniloxazolidona

Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención también pueden utilizar poliviniloxazolidona como un agente inhibidor de la transferencia de colorantes polimérico. Dichas poliviniloxazolidonas tienen un peso molecular medio de aproximadamente 2.500 a aproximadamente 400.000, preferiblemente de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 200.000, más preferiblemente de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 50.000, y con máxima preferencia de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 15.000.

e) Polivinilimidazol

Las composiciones detergentes de lavado de ropa de la presente invención también pueden utilizar polivinilimidazol como agente inhibidor de la transferencia de colorantes polimérico. Dichos polivinilimidazoles tienen una media de aproximadamente 2.500 a aproximadamente 400.000, preferiblemente de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 200.000, más preferiblemente de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 50.000, y con máxima preferencia de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 15.000.

f) Polímeros reticulados

Los polímeros reticulados son polímeros cuyas cadenas principales están interconectadas hasta un cierto grado. Estos enlaces pueden ser de naturaleza química o física, posiblemente con grupos activos en la cadena principal o en las ramificaciones. Los polímeros reticulados han sido descritos en Journal of Polymer Science, volumen 22, págs. 1035-1039.

En una realización, los polímeros reticulados se preparan de manera que formen una estructura rígida tridimensional que pueda atrapar a los colorantes en los poros formados por la estructura tridimensional. En otra realización, los polímeros reticulados atrapan los colorantes por efecto de un hinchamiento. Estos polímeros reticulados se describen en la solicitud de patente codependiente EP 719 856.

ES 2 268 780 T3

Método de lavado

Las composiciones de la invención pueden ser utilizadas en prácticamente cualquier método de lavado o limpieza, incluidos los métodos de remojo, los métodos de pretratamiento y los métodos con etapas de aclarado en los que puede 5 añadirse una composición separada mejoradora del aclarado.

El proceso descrito en la presente invención comprende poner en contacto tejidos con una solución de lavado de la forma usual y ejemplificada a continuación. El proceso de la invención se realiza adecuadamente durante el proceso de limpieza. El método de limpieza se ejecuta preferentemente entre 5°C y 95°C, especialmente entre 10°C y 60°C. El 10 pH de la solución de tratamiento es preferiblemente de 7 a 12.

Los siguientes ejemplos se incluyen para ilustrar las composiciones de la presente invención aunque sin necesariamente limitar o definir de otro modo el ámbito de la invención. En las composiciones detergentes de lavado de ropa los niveles de enzima se expresan en enzima pura en peso de la composición total y, salvo que se indique lo contrario, 15 los ingredientes detergentes se expresan en peso de la composición total. Las abreviaturas de los componentes en la presente memoria tienen el siguiente significado:

20	LAS	: Sulfonato sódico de alquil C ₁₁₋₁₃ benceno lineal.
	TAS	: Sebo alquilsulfato sódico.
	CxyAS	: Alquilsulfato sódico C _{1x} -C _{1y} .
25	CxySAS	: (2,3) alquil C _{1x} -C _{1y} sulfato sódico secundario.
	CxyEz	: Alcohol primario condensado C _{1x} -C _{1y} predominantemente lineal con una media de z moles de óxido de etileno.
30	CxyEzS	: Alquilsulfato sódico condensado C _{1x} -C _{1y} con una media de z moles de óxido de etileno.
	QAS	: R ₂ .N+(CH ₃) ₂ (C ₂ H ₄ OH) con R ₂ = C ₁₂ -C ₁₄ .
	QAS 1	: R ₂ .N+(CH ₃) ₂ (C ₂ H ₄ OH) con R ₂ = C ₈ -C ₁₁ .
35	APA	: Amido propil dimetil amina C ₈₋₁₀ .
	Jabón	: Alquil carboxilato sódico lineal derivado de una mezcla 80/20 de ácidos grasos de sebo y coco.
40	No iónico	: Alcohol graso C ₁₃ -C ₁₅ etoxilado/proxilado mixto con un grado medio de etoxilación de 3,8 y un grado medio de proxilación de 4,5.
	Neodol 45-13	: Alcohol C ₁₄ -C ₁₅ primario etoxilado lineal, comercializado por Shell Chemical CO.
45	STS	: Toluensulfonato sódico.
	CFAA	: Alquil C ₁₂ -C ₁₄ N-metil glucamida.
	TFAA	: Alquil C ₁₆ -C ₁₈ N-metil glucamida.
50	TPKFA	: Ácidos grasos C ₁₂ -C ₁₄ derivados de la destilación primaria de crudo.
	Silicato	: Silicato sódico amorfo (relación SiO ₂ :Na ₂ O = 1,6-3,2).
55	Metasilicato	: Metasilicato sódico (relación SiO ₂ :Na ₂ O = 1,0).
	Zeolita A	: Aluminosilicato sódico hidratado de fórmula Na ₁₂ (AlO ₂ SiO ₂) ₁₂ . 27H ₂ O que tiene un tamaño de partículas primario en el intervalo de 0,1 a 10 micrómetros (peso expresado como sustancia anhidra).
60	Na-SKS-6	: Silicato laminar cristalino de fórmula δ-Na ₂ Si ₂ O ₅
	Citrato	: Citrato trisódico dihidratado con una actividad del 86,4% y una distribución de tamaño de partícula de 425 a 850 micrómetros.
65	Cítrico	: Ácido cítrico anhidro.

ES 2 268 780 T3

	Borato	: Borato de sodio
	Carbonato	: Carbonato sódico anhidro con un tamaño de partículas entre 200 y 900 micrómetros.
5	Bicarbonato	: Carbonato ácido de sodio anhidro con una distribución de tamaño de partícula entre 400 y 1200 micrómetros.
	Sulfato	: Sulfato sódico anhidro.
10	Sulfato de magnesio	: Sulfato de magnesio anhidro.
	STPP	: Tripolifosfato sódico.
15	TSPP	: Pirofosfato tetrasódico.
	MA/AA	: Copolímero aleatorio con una relación 4:1 de acrilato:maleato y un peso molecular promedio de aproximadamente 70.000 a 80.000.
20	MA/AA 1	: Copolímero aleatorio con una relación 6:4 de acrilato:maleato y un peso molecular medio de aproximadamente 10.000.
	AA	: Polímero de poliacrilato sódico con un peso molecular medio de 4.500.
25	PA30	: Ácido poliacrílico con un peso molecular promedio de aproximadamente 4.500 a 8.000.
	480N	: Copolímero aleatorio con una relación 7:3 de acrilato:metacrilato y un peso molecular promedio de aproximadamente 3.500.
30	Poligel/carbopol	: Poliacrilatos reticulados de elevado peso molecular.
	PB1	: Perborato sódico anhidro monohidrato de fórmula nominal $\text{NaBO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$.
35	PB4	: Perborato sódico tetrahidratado de fórmula nominal $\text{NaBO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}_2$.
	Percarbonato	: Percarbonato sódico anhidro de fórmula nominal $2\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}_2$.
	NaDCC	: Dicloroisocianurato sódico.
40	TAED	: Tetraacetiletilendiamina.
	NOBS	: Sulfonato de nonanoiloxibenceno en forma de sal sódica.
45	NACA-OBS	: Sulfonato de (6-nonamidocaproil) oxibenceno.
	DTPA	: Ácido dietilentriamino pentaacético.
	HEDP	: Ácido 1,1-hidroxietano difosfónico.
50	DETPMP	: Dietiltri amino penta(metilen) fosfonato, comercializado por Monsanto con el nombre comercial Dequest 2060.
	EDDS	: Ácido etilendiamino-N,N'-disuccínico, isómero (S,S) en la forma de su sal sódica
55	MnTACN	: 1,4,7-trimetil-1,4,7-triazaciclono nonano de manganeso.
	Blanqueador fotoactivado	: Ftalocianuro de cinc sulfonado encapsulado en polímero soluble en dextrina.
60	Blanqueador fotoactivado 1	: Ftalocianuro de aluminio sulfonado encapsulado en polímero soluble en dextrina.
	PAAC	: Sal de pentaamino acetato de cobalto(III).
65	Parafina	: Aceite de parafina comercializado con el nombre Winog 70 por Wintershall.

ES 2 268 780 T3

	NaBz	: Benzoato sódico.
	BzP	: Peróxido de benzoilo.
5	Mananasa	: Mananasa de <i>Bacillus agaradherens</i> , MCIMB 40482.
	Proteasa	: Enzima proteolítica distribuida con el nombre comercial de Savinase, Alcalase, Durazym por Novo Nordisk A/S, Maxacal, Maxapem comercializada por Gist-Brocades y proteasas descritas en las patentes WO91/06637 y/o WO95/10591 y/o EP 251 446.
10	Amilasa	: Enzima amilolítica comercializada con el nombre Purafact Ox Am [®] descrita en WO 94/18314, WO96/05295 comercializada por Genencor; Termamyl [®] , Fungamyl [®] y Duramyl [®] , todas ellas comercializadas por Novo Nordisk A/S y las descritas en WO95/26397.
15	Lipasa	: Enzima lipolítica comercializada con el nombre comercial Lipolase, Lipolase Ultra por Novo Nordisk A/S y Lipomax por Gist-Brocades.
	Celulasa	: Enzima celulítica comercializada con los nombres comerciales Carezyme, Celluzyme y/o Endolase por Novo Nordisk A/S.
20	CMC	: Carboximetilcelulosa sódica.
	PVP	: Polímero de polivinilo, con un peso molecular promedio de 60.000.
25	PVNO	: N-óxido de polivinilpiridina, con un peso molecular promedio de 50.000.
	PVPVI	: Copolímero de vinilimidazol y vinilpirrolidona, con un peso molecular promedio de 20.000.
	Abrillantador 1	: 4,4'-bis(2-sulfoestiril)bifenil disódico.
30	Abrillantador 2	: 4,4'-bis(4-anilino-6-morfolino-1,3,5-triazin-2-il) estilbeno-2,2'-disulfonato disódico.
	Antiespumante de tipo silicona	: Controlador de espuma de polidimetilsiloxano con copolímero de siloxano-oxialquileo como agente dispersante con una relación entre dicho controlador de espuma y dicho agente dispersante de 10:1 a 100:1.
35	Supresor de las jabonaduras	: 12% de silicona/sílice, 18% de alcohol estearílico, 70% de almidón en forma granulada.
40	Opacificante	: Mezcla acuosa de látex de monoestireno, comercializada por BASF AG bajo la marca registrada Lytron 621.
	SRP 1	: Poliésteres con extremos protegidos con anión.
45	SRP 2	: Polímero de poli (1,2 propilen tereftalato) dietoxilado de bloque corto.
	QEA	: bis((C ₂ H ₅ O)(C ₂ H ₄ O) _n)(CH ₃) ⁻ N ⁺ -C ₆ H ₁₂ -N ⁺ -(CH ₃) bis((C ₂ H ₅ O)-(C ₂ H ₄ O)) _n , donde n= de 20 a 30.
50	PEI	: Polietilenimina tal como PEI 1800 E ₇ , PEI 1200 E ₇ , PEI 1200 E ₇ cuaternizado, PEI 600 E ₂₀ como se describe en WO97/42288.
	SCS	: Cumensulfonato sódico.
55	HMWPEO	: poli(óxido de etileno) de elevado peso molecular.
	PEG	: Polietilenglicol, con un peso molecular de x.
	PEO	: poli(óxido de etileno), con un peso molecular promedio de 5.000.

60

65

ES 2 268 780 T3

Ejemplo 1

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes de alta densidad para lavado:

	I	II	III	IV	V	VI	
5							
	LAS	8,0	8,0	8,0	2,0	6,0	6,0
10	TAS	-	0,5	-	0,5	1,0	0,1
	C46(S)AS	2,0	2,5	-	-	-	-
	C25AS	-	-	-	7,0	4,5	5,5
15	C68AS	2,0	5,0	7,0	-	-	-
	C25E5	-	-	3,4	10,0	4,6	4,6
	C25E7	3,4	3,4	1,0	-	-	-
20	C25E3S	-	-	-	2,0	5,0	4,5
	QAS	-	0,8	-	-	-	-
	QAS 1	-	-	-	0,8	0,5	1,0
25	Zeolita A	18,1	17,5	14,1	17,1	19,5	17,1
	Cítrico	-	-	-	2,5	-	2,5
	Carbonato	13,0	13,0	27,0	10,0	10,0	13,0
30	Na-SKS-6	-	-	-	10,0	-	10,0
	Silicato	1,4	1,4	3,0	0,3	0,5	0,3
	Citrato	-	1,0	-	3,0	-	-
35	Sulfato	26,1	26,1	26,1	6,0	-	-
	Sulfato de magnesio	0,3	-	-	0,2	-	0,2
	MA/AA	0,3	0,3	0,3	4,0	1,0	1,0
40							
45							
50							
55							
60							
65							

ES 2 268 780 T3

	I	II	III	IV	V	VI
CMC	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4
5 PB4	9,0	9,0	5,0	-	-	-
Percarbonato	-	-	-	-	18,0	18,0
TAED	1,5	0,4	1,5	-	3,9	4,2
10 NACA-OBS	-	2,0	1,0	-	-	-
DETPMP	0,25	0,25	0,25	0,25	-	-
SRP 1	-	-	-	0,2	-	0,2
15 EDDS	-	0,25	0,4	-	0,5	0,5
CFAA	-	1,0	-	2,0	-	-
HEDP	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4
20 QEA	-	-	-	0,2	-	0,5
Mananasa	0,001	0,02	0,001	0,02	0,0015	0,001
Proteasa	0,009	0,009	0,01	0,04	0,05	0,03
25 Amilasa	0,002	0,002	0,002	0,006	0,008	0,008
Celulasa	0,0007	-	-	0,0007	0,0007	0,0007
Lipasa	0,006	-	-	0,01	0,01	0,01
30 Blanqueador fotoactivado (ppm)	15	15	15	-	20	20
PEI	0,2	0,5	0,2	1,0	0,5	1,0
PVNO/PVPVI	-	-	-	0,1	-	-
35 Abrillantador 1	0,09	0,09	0,09	-	0,09	0,09
Perfume	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4
40 Antiespumante de tipo silicona	0,5	0,5	0,5	-	0,3	0,3
Densidad en g/litro	850	850	850	850	850	850
Varios y componentes minoritarios				hasta el 100%		
45						

Ejemplo 2

50 Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes granuladas para lavado de particular utilidad en las condiciones de lavado a máquina en Europa:

	I	II	III	IV	V	VI
55 LAS	5,5	7,5	5,0	5,0	6,0	7,0
TAS	1,25	1,9	-	0,8	0,4	0,3
60 C24AS/C25AS	-	2,2	5,0	5,0	5,0	2,2
C25E3S	-	0,8	1,0	1,5	3,0	1,0

65

ES 2 268 780 T3

	I	II	III	IV	V	VI
C45E7	3,25	-	-	-	-	3,0
5 TFAA	-	-	2,0	-	-	-
C25E5	-	5,5	-	-	-	-
QAS	0,8	-	-	-	-	-
10 QAS 1	-	0,7	1,0	0,5	1,0	0,7
STPP	19,7	-	-	-	-	-
Zeolita A	-	16,75	24,0	19,5	20,0	17,0
15 NaSKS-6/Ácido cítrico (79:21)	-	10,6	-	10,6	-	-
Na-SKS-6	-	-	9,0	-	10,0	10,0
20 Carbonato	6,1	21,4	9,0	10,0	10,0	18,0
Bicarbonato	-	2,0	7,0	5,0	-	2,0
Silicato	6,8	-	-	0,3	0,5	-
25 Citrato	-	-	4,0	4,0	-	-
Sulfato	36,8	-	-	5,0	-	12,0
Sulfato de magnesio	-	-	0,1	0,2	0,2	-
30 MA/AA	0,5	1,6	3,0	3,5	1,0	1,0
CMC	0,2	0,4	1,0	1,0	0,4	0,4
PB4	5,0	12,7	-	-	-	-
35 Percarbonato	-	-	-	-	18,0	15,0
TAED	0,5	3,1	-	-	5,0	-
NACA-OBS	1,0	3,5	-	-	-	2,5
40 DETPMP	0,25	0,2	0,3	0,4	-	0,2
HEDP	-	0,3	-	0,3	0,3	0,3
QEA	-	-	1,0	1,0	1,0	-
45 Mananasa	0,001	0,02	0,001	0,015	0,02	0,001
Proteasa	0,009	0,03	0,03	0,05	0,05	0,02
Lipasa	0,003	0,003	0,006	0,006	0,006	0,004
50 Celulasa	0,0006	0,0006	0,0005	0,0005	0,0007	0,0007
Amilasa	0,002	0,002	0,006	0,006	0,01	0,003
PEI	3,0	1,75	1,0	0,5	0,25	0,25
55 PVNO/PVPVI	-	-	0,2	0,2	-	-
PVP	0,9	1,3	-	-	-	0,9
SRP 1	-	-	0,2	0,2	0,2	-
60 Blanqueador fotoactivado (ppm)	15	27	-	-	20	20
Blanqueador fotoactivado 1 (ppm)	15	-	-	-	-	-
65 Abrillantador 1	0,08	0,2	-	-	0,09	0,15
Abrillantador 2	-	0,04	-	-	-	-

ES 2 268 780 T3

	I	II	III	IV	V	VI
5 Perfume	0,3	0,5	0,4	0,3	0,4	0,3
Antiespumante de tipo silicona	0,5	2,4	0,3	0,5	0,3	2,0
Densidad en g/litro	750	750	750	750	750	750
10 Varios y componentes minoritarios			hasta el 100%			

15 Ejemplo 3

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes de particular utilidad en las condiciones de lavado a máquina en Europa:

	I	II	III	IV
20 Polvo soplado				
25 LAS	6,0	5,0	11,0	6,0
TAS	2,0	-	-	2,0
Zeolita A	23,5	-	-	19,5
30 STPP	-	26,0	21,0	-
Sulfato	4,0	6,0	13,0	-
MA/AA	1,0	4,0	6,0	2,0
35 Silicato	1,0	7,0	3,0	3,0
CMC	1,0	1,0	0,5	0,6
Abrillantador 1	0,2	0,2	0,2	0,2
40 Antiespumante de tipo silicona	1,0	1,0	1,0	0,3
DETPMP	0,4	0,4	0,2	0,4
45 Pulverizado				
Abrillantador	0,02	-	-	0,02
C45E7	-	-	-	5,0
50 C45E2	2,5	2,5	2,0	-
C45E3	2,6	2,5	2,0	-
Perfume	0,5	0,3	0,5	0,2
55 Antiespumante de tipo silicona	0,3	0,3	0,3	-
Aditivos secos				
60 QEA	-	-	-	1,0
EDDS	0,3	-	-	-
Sulfato	2,0	3,0	5,0	10,0

65

ES 2 268 780 T3

	I	II	III	IV	
5	Carbonato	6,0	13,0	15,0	14,0
	Cítrico	2,5	-	-	2,0
	QAS 1	0,5	-	-	0,5
	Na-SKS-6	10,0	-	-	-
10	PEI	0,5	1,0	3,0	0,5
	Percarbonato	18,5	-	-	-
	PB4	-	18,0	10,0	21,5
15	TAED	2,0	2,0	-	2,0
	NACA-OBS	3,0	2,0	4,0	-
	Mananasa	0,001	0,02	0,01	0,0015
20	Proteasa	0,03	0,03	0,03	0,03
	Lipasa	0,008	0,008	0,008	0,004
	Amilasa	0,003	0,003	0,003	0,006
25	Abrillantador 1	0,05	-	-	0,05
	Varios y componentes minoritarios		hasta el 100%		

30 Ejemplo 4

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes granuladas:

	I	II	III	IV	V	VI	
35	Polvo soplado						
	LAS	23,0	8,0	7,0	9,0	7,0	7,0
40	TAS	-	-	-	-	1,0	-
	C45AS	6,0	6,0	5,0	8,0	-	-
	C45AES	-	1,0	1,0	1,0	-	-
45	C45E35	-	-	-	-	2,0	4,0
	Zeolita A	10,0	18,0	14,0	10,25	10,0	10,0
	MA/AA	-	0,5	-	-	-	2,0
50	MA/AA 1	7,0	-	-	-	-	-
	AA	-	3,0	3,0	2,0	3,0	3,0
	Sulfato	5,0	6,3	12,3	11,0	13,0	18,3
55	Silicato	10,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	Carbonato	14,5	19,0	10,0	20,7	8,0	6,0
	PEG 4000	0,4	1,5	1,5	1,0	1,0	1,0
60	DTPA	-	0,9	0,5	-	-	0,5
	Abrillantador 2	0,3	0,2	0,3	-	0,1	0,3

65

ES 2 268 780 T3

		I	II	III	IV	V	VI
	Pulverizado						
	C45E7	-	2,0	-	-	2,0	2,0
5	C25E9	3,0	-	-	-	-	-
	C23E9	-	-	1,5	2,0	-	2,0
	Perfume	0,3	0,3	0,3	2,0	0,3	0,3
10	Aglomerados						
	C45AS	-	5,0	5,0	2,0	-	5,0
	LAS	-	2,0	2,0	-	-	2,0
15	Zeolita A	-	7,5	7,5	8,0	-	7,5
	Carbonato	-	4,0	4,0	5,0	-	4,0
	PEG 4000	-	0,5	0,5	-	-	0,5
20	Varios (agua, etc.)	-	2,0	2,0	2,0	-	2,0
	Aditivos secos						
	QAS	-	-	-	-	1,0	-
25	Cítrico	-	-	-	-	2,0	-
	PB4	-	-	-	-	12,0	1,0
	PB1	4,0	1,0	3,0	2,0	-	-
30	Percarbonato	-	-	-	-	2,0	10,0
	Carbonato	-	5,3	1,8	-	4,0	4,0
	NOBS	4,0	-	6,0	-	-	0,6
35	Metilcelulosa	0,2	-	-	-	-	-
	Na-SKS-6	8,0	-	-	-	-	-
	STS	-	-	2,0	-	1,0	-
40	Ácido cumensulfónico	-	1,0	-	-	-	2,0
	Mananasa	0,001	0,02	0,001	0,015	0,02	0,02
	Proteasa	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02
45	Lipasa	0,004	-	0,004	-	0,004	0,008
	Amilasa	0,003	-	0,002	-	0,003	-
	Celulasa	0,0005	0,0005	0,0005	0,0007	0,0005	0,0005
50	PVPVI	-	-	-	-	0,5	0,1
	PVP	-	-	-	-	0,5	-
	PVNO	-	-	0,5	0,3	-	-
55	PEI	0,5	1,0	2,0	1,75	2,0	1,0
	QEA	-	-	-	-	1,0	-
	SRP 1	0,2	0,5	0,3	-	0,2	-
60	Antiespumante de tipo silicona	0,2	0,4	0,2	0,4	0,1	-
	Sulfato de magnesio	-	-	0,2	-	0,2	-
65	Varios y componentes minoritarios				hasta el 100%		

ES 2 268 780 T3

Ejemplo 5

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes que no contienen blanqueadores de especial utilidad para el lavado de ropa de color:

5

		I	II	III
10	Polvo soplado			
	Zeolita A	14,5	14,0	-
	Sulfato	-	5,0	-
15	LAS	3,0	3,0	-
	DETPMP	0,4	0,5	-
	CMC	0,4	0,4	-
20	MA/AA	4,0	4,0	-
	Aglomerados			
	C45AS	-	-	11,0
25	LAS	6,0	5,0	-
	TAS	3,0	2,0	-
	PEI	0,5	1,0	3,0
	Silicato	4,0	4,0	-
30	Zeolita A	10,0	15,0	13,0
	CMC	-	-	0,5
	MA/AA	-	-	2,0
35	Carbonato	9,0	7,0	7,0
	Pulverizado			
40	Perfume	0,3	0,3	0,5
	C45E7	4,0	4,0	4,0
	C25E3	2,0	2,0	2,0
45	Aditivos secos			
	MA/AA	-	-	1,0
	Na-SKS-6	-	-	11,0
	Citrato	10,0	-	8,0
50	Bicarbonato	7,0	3,0	5,0
	Carbonato	8,0	5,0	7,0
55	PVPVI/PVNO	0,5	0,5	0,5

60

65

ES 2 268 780 T3

		I	II	III
	Mananasa	0,001	0,02	0,015
5	Proteasa	0,03	0,02	0,05
	Lipasa	0,008	0,008	0,008
	Amilasa	0,01	0,01	0,01
10	Celulasa	0,001	0,001	0,001
	Antiespumante de tipo silicona	5,0	5,0	5,0
15	Sulfato	-	9,0	-
	Densidad (g/litro)	700	700	700
	Varios y componentes minoritarios		hasta el 100%	

20

Ejemplo 6

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes:

25

		I	II	III	IV
	Gránulo base				
30	Zeolita A	29,5	21,0	22,0	10,0
	Sulfato	10,0	5,0	10,0	7,0
	MA/AA	3,0	-	-	-
35	AA	-	1,6	2,0	-
	PEI	0,5	1,0	2,0	3,0
	MA/AA 1	-	12,0	-	6,0
40	LAS	14,0	10,0	9,0	18,0
	C45AS	8,0	7,0	9,0	7,0
	C45AES	-	1,0	1,0	-
45	Silicato	-	1,0	0,5	9,0
	Jabón	-	2,0	-	-
	Abrillantador 1	0,2	0,2	0,2	0,2
50	Carbonato	6,0	9,0	10,0	10,0
	PEG 4000	-	1,0	1,5	-
	DTPA	-	0,4	-	-
55	Pulverizado				
	C25E9	-	-	-	5,0
	C45E7	1,0	1,0	-	-
60	C23E9	-	1,0	2,5	-
	Perfume	0,2	0,3	0,3	-

65

ES 2 268 780 T3

		I	II	III	IV
	Aditivos secos				
5	Carbonato	5,0	10,0	18,0	8,0
	PVPVI/PVNO	0,5	-	0,3	-
	Mananasa	0,001	0,02	0,001	0,0015
10	Proteasa	0,03	0,03	0,03	0,02
	Lipasa	0,008	-	-	0,008
	Amilasa	0,002	-	-	0,002
15	Celulasa	0,0002	0,0005	0,0005	0,0002
	NOBS	-	4,0	-	4,5
	PB1	1,0	5,0	1,5	6,0
20	Sulfato	4,0	5,0	-	5,0
	SRP 1	-	0,4	-	-
	Supresor de las jabonaduras	-	0,5	0,5	-
25	Varios y componentes minoritarios		hasta el 100%		

30 Ejemplo 7

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes granuladas:

		I	II	III
35	Polvo soplado			
	Zeolita A	20,0	-	15,0
40	STPP	-	20,0	-
	Sulfato	-	-	5,0
	Carbonato	-	-	5,0
45	TAS	-	-	1,0
	LAS	6,0	6,0	6,0
	C68AS	2,0	2,0	-
50	Silicato	3,0	8,0	-
	MA/AA	4,0	2,0	2,0
	CMC	0,6	0,6	0,2
55	Abrillantador 1	0,2	0,2	0,1
	DETPMP	0,4	0,4	0,1
	STS	-	-	1,0
60	Pulverizado			
	C45E7	5,0	5,0	4,0

65

ES 2 268 780 T3

		I	II	III
5	Antiespumante de tipo silicona	0,3	0,3	0,1
	Perfume	0,2	0,2	0,3
	Aditivos secos			
10	QEA	-	-	1,0
	Carbonato	14,0	9,0	10,0
	PB1	1,5	2,0	-
15	PB4	18,5	13,0	13,0
	TAED	2,0	2,0	2,0
	QAS	-	-	1,0
20	Blanqueador fotoactivado	15 ppm	15 ppm	15 ppm
	Na-SKS-6	-	-	3,0
	Mananasa	0,001	0,02	0,01
25	Proteasa	0,03	0,03	0,007
	Lipasa	0,004	0,004	0,004
	Amilasa	0,006	0,006	0,003
30	Celulasa	0,0002	0,0002	0,0005
	PEI	1,0	3,0	0,5
	Sulfato	9,0	17,0	4,5
35	Densidad (g/litro)	700	700	700
	Varios y componentes minoritarios	hasta el 100%		

40 Ejemplo 8

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes:

		I	II	III
	Polvo soplado			
50	Zeolita A	15,0	15,0	15,0
	Sulfato	-	5,0	-
	LAS	3,0	3,0	3,0
55	QAS	-	1,5	1,5
	DETPMP	0,4	0,2	0,4
	EDDS	-	0,4	0,2
60	CMC	0,4	0,4	0,4
	MA/AA	4,0	2,0	2,0
	Aglomerado			

65

ES 2 268 780 T3

		I	II	III
5	LAS	5,0	5,0	5,0
	TAS	2,0	2,0	1,0
	Silicato	3,0	3,0	4,0
10	Zeolita A	8,0	8,0	8,0
	Carbonato	8,0	8,0	4,0
	Pulverizado			
15	Perfume	0,3	0,3	0,3
	C45E7	2,0	2,0	2,0
	C25E3	2,0	-	-
	Aditivos secos			
20	Citrato	5,0	-	2,0
	Bicarbonato	-	3,0	-
	Carbonato	8,0	14,0	8,0
25	PEI	0,5	1,0	2,0
	TAED	6,0	2,0	5,0
	PB1	13,5	7,0	10,0
30	PEO	-	-	0,2
	Arcilla tipo bentonita	-	-	10,0
35	Mananasa	0,001	0,02	0,01
	Proteasa	0,03	0,03	0,03
	Lipasa	0,008	0,008	0,008
40	Celulasa	0,001	0,001	0,001
	Amilasa	0,01	0,01	0,01
	Antiespumante de tipo silicona	5,0	5,0	5,0
45	Sulfato	-	3,0	-
	Densidad (g/litro)	850	850	850
50	Varios y componentes minoritarios		hasta el 100%	

Ejemplo 9

55

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes:

		I	II	III	IV
60	LAS	18,0	14,0	24,0	20,0
	QAS	0,7	1,0	-	0,7
65	TFAA	-	1,0	-	-

ES 2 268 780 T3

	I	II	III	IV
5				
10				
15				
20				
25				
30				
35				
40				
45				
50				

Ejemplo 10

55 Se prepararon las siguientes formulaciones detergentes líquidas según la presente invención (los niveles se expresan en partes por peso y las enzimas en enzima pura):

	I	II	III	IV	V
60					
65					

ES 2 268 780 T3

	I	II	III	IV	V	
5	C23E9	-	2,7	1,8	2,0	1,0
	C23E7	3,2	-	-	-	-
	CFAA	-	-	5,2	-	3,1
	TPKFA	1,6	-	2,0	0,5	2,0
10	Ácido cítrico (50%)	6,5	1,2	2,5	4,4	2,5
	Formiato de calcio	0,1	0,06	0,1	-	-
	Formiato sódico	0,5	0,06	0,1	0,05	0,05
	SCS	4,0	1,0	3,0	1,2	-
15	Borato	0,6	-	3,0	2,0	2,9
	Hidróxido sódico	5,8	2,0	3,5	3,7	2,7
	Etanol	1,75	1,0	3,6	4,2	2,9
20	1,2-propanodiol	3,3	2,0	8,0	7,9	5,3
	Monoetanolamina	3,0	1,5	1,3	2,5	0,8
	TEPAE	1,6	-	1,3	1,2	1,2
25	Mananasa	0,001	0,02	0,001	0,01	0,02
	Proteasa	0,03	0,01	0,03	0,02	0,02
	Lipasa	-	-	0,002	-	-
30	Amilasa	-	-	-	0,002	-
	Celulasa	-	-	0,0002	0,0005	0,0001
	SRP 1	0,2	-	0,1	-	-
35	DTPA	-	-	0,3	-	-
	PEI	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
	PVNO	-	-	0,3	-	0,2
40	Abrillantador 1	0,2	0,07	0,1	-	-
	Antiespumante de tipo silicona	0,04	0,02	0,1	0,1	0,1
45	Varios y agua	hasta el 100%				

Ejemplo 11

50 Se prepararon las siguientes formulaciones detergentes líquidas según la presente invención (los niveles se expresan en partes por peso y las enzimas en enzima pura):

	I	II	III	IV	
55	LAS	10,0	13,0	9,0	-
	C25AS	4,0	1,0	2,0	10,0
	C25E3S	1,0	-	-	3,0
60	C25E7	6,0	8,0	13,0	2,5

65

ES 2 268 780 T3

	I	II	III	IV
TFAA	-	-	-	4,5
5 APA	-	1,4	-	-
TPKFA	2,0	-	13,0	7,0
Cítrico	2,0	3,0	1,0	1,5
10 Ácido dodecenil/tetradecenil succínico	12,0	10,0	-	-
Ácido graso de colza	4,0	2,0	1,0	-
15 Etanol	4,0	4,0	7,0	2,0
1,2-propanodiol	4,0	4,0	2,0	7,0
Monoetanolamina	-	-	-	5,0
20 Trietanolamina	-	-	8,0	-
TEPAE	0,5	-	0,5	0,2
DETPMP	1,0	1,0	0,5	1,0
Mananasa	0,001	0,02	0,001	0,02
25 Proteasa	0,02	0,02	0,01	0,008
Lipasa	-	0,002	-	0,002
Amilasa	0,004	0,004	0,01	0,008
30 Celulasa	-	-	-	0,002
SRP 2	0,3	-	0,3	0,1
Ácido bórico	0,1	0,2	1,0	2,0
35 Cloruro cálcico	-	0,02	-	0,01
Abrillantador 1	-	0,4	-	-
40 PEI	0,4	0,4	0,2	0,2
Supresor de las jabonaduras	0,1	0,3	-	0,1
Opacificante	0,5	0,4	-	0,3
45 NaOH hasta pH	8,0	8,0	7,6	7,7
Varios y agua		hasta el 100%		

50 Ejemplo 12

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes líquidas (los niveles se expresan en partes por peso y las enzimas en enzima pura):

	I	II	III	IV
55 LAS	25,0	-	-	-
60 C25AS	-	13,0	18,0	15,0
C25E3S	-	2,0	2,0	4,0
C25E7	-	-	4,0	4,0

65

ES 2 268 780 T3

	I	II	III	IV	
	TFAA	-	6,0	8,0	8,0
5	APA	3,0	1,0	2,0	-
	TPKFA	-	15,0	11,0	11,0
	Cítrico	1,0	1,0	1,0	1,0
10	Ácido dodecenil/tetradecenil succínico	15,0	-	-	-
	Ácido graso de colza	1,0	-	3,5	-
15	Etanol	7,0	2,0	3,0	2,0
	1,2-propanodiol	6,0	8,0	10,0	13,0
	Monoetanolamina	-	-	9,0	9,0
20	TEPAE	-	-	0,4	0,3
	DETPMP	2,0	1,2	1,0	-
	Mananasa	0,001	0,02	0,001	0,01
25	Proteasa	0,08	0,02	0,01	0,02
	Lipasa	-	-	0,003	0,003
	Amilasa	0,004	0,01	0,01	0,01
30	Celulasa	-	-	0,004	0,003
	PEI	0,2	0,2	0,4	0,4
	SRP 2	-	-	0,2	0,1
35	Ácido bórico	1,0	1,5	2,5	2,5
	Arcilla tipo bentonita	4,0	4,0	-	-
	Abrillantador 1	0,1	0,2	0,3	-
40	Supresor de las jabonaduras	0,4	-	-	-
	Opacificante	0,8	0,7	-	-
	NaOH hasta pH	8,0	7,5	8,0	8,2
45	Varios y agua		hasta el 100%		

Ejemplo 13

50 Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes líquidas (los niveles se expresan en partes por peso y las enzimas en enzima pura):

	I	II	
55	LAS	27,6	18,9
	C45AS	13,8	5,9
60	C13E8	3,0	3,1
	Ácido oleico	3,4	2,5

65

ES 2 268 780 T3

		I	II
	Cítrico	5,4	5,4
5	Hidróxido sódico	0,4	3,6
	Formiato de calcio	0,2	0,1
	Formiato de sodio	-	0,5
10	Etanol	7,0	-
	Monoetanolamina	16,5	8,0
	1,2-propanodiol	5,9	5,5
15	Ácido xilensulfónico	-	2,4
	TEPAE	1,5	0,8
	Proteasa	0,05	0,02
20	Mananasa	0,001	0,02
	PEI	0,2	0,4
	PEG	-	0,7
25	Abrillantador 2	0,4	0,1
	Perfume	0,5	0,3
	Agua y componentes minoritarios	hasta el 100%	
30			

Ejemplo 14

35 Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes granuladas para tejidos con una acción "suavizante durante el lavado":

		I	II
40	C45AS	-	10,0
	LAS	7,6	-
	C68AS	1,3	-
45	C45E7	4,0	-
	C25E3	-	5,0
50	Cloruro de coco-alkuil-dimetil- hidroxi-etil amonio	1,4	1,0
	Citrato	5,0	3,0
	Na-SKS-6	-	11,0
55	Zeolita A	15,0	15,0
	MA/AA	4,0	4,0
	DETPMP	0,4	0,4
60	PB1	15,0	-
	Percarbonato	-	15,0
	TAED	5,0	5,0
65			

ES 2 268 780 T3

		I	II
	Arcilla tipo esmectita	10,0	10,0
5	HMWPEO	-	0,1
	Mananasa	0,001	0,02
	Proteasa	0,02	0,01
10	Lipasa	0,02	0,01
	Amilasa	0,03	0,005
	Celulasa	0,001	-
15	Silicato	3,0	5,0
	PEI	0,2	0,4
	Carbonato	10,0	10,0
20	Supresor de las jabonaduras	1,0	4,0
	CMC	0,2	0,1
	Varios y componentes minoritarios	hasta el 100%	

25

Ejemplo 15

30 Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes en forma de pastilla de jabón (los niveles se expresan en partes por peso y las enzimas en enzima pura):

		I	II	III	VI	V	III	VI	V
35	LAS	-	-	19,0	15,0	21,0	6,75	8,8	-
	C28AS	30,0	13,5	-	-	-	15,75	11,2	22,5
40	Laureato sódico	2,5	9,0	-	-	-	-	-	-
	Zeolita A	2,0	1,25	-	-	-	1,25	1,25	1,25
	Carbonato	20,0	3,0	13,0	8,0	10,0	15,0	15,0	10,0
45	Carbonato cálcico	27,5	39,0	35,0	-	-	40,0	-	40,0
	Sulfato	5,0	5,0	3,0	5,0	3,0	-	-	5,0
50	TSPP	5,0	-	-	-	-	5,0	2,5	-
	STPP	5,0	15,0	10,0	-	-	7,0	8,0	10,0
	Arcilla tipo bentonita	-	10,0	-	-	5,0	-	-	-
55	DETPMP	-	0,7	0,6	-	0,6	0,7	0,7	0,7
	CMC	-	1,0	1,0	1,0	1,0	-	-	1,0
	Talco	-	-	10,0	15,0	10,0	-	-	-
60	Silicato	-	-	4,0	5,0	3,0	-	-	-

65

ES 2 268 780 T3

	I	II	III	VI	V	III	VI	V
PVNO	0,02	0,03	-	0,01	-	0,02	-	-
5 MA/AA	0,4	1,0	-	-	0,2	0,4	0,5	0,4
SRP 1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Mananasa	0,001	0,01	0,001	0,01	0,01	0,001	0,01	0,001
10 Amilasa	-	-	0,01	-	-	-	0,002	-
Proteasa	-	0,004	-	0,003	0,003	-	-	0,003
Lipasa	-	0,002	-	0,002	-	-	-	-
15 Celulasa	-	0,0003	-	-	0,0003	0,0002	-	-
PEI	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,3
Perfume	1,0	0,5	0,3	0,2	0,4	-	-	0,4
20 Sulfato de magnesio	-	-	3,0	3,0	3,0	-	-	-
Abrillantador	0,15	0,1	0,15	-	-	-	-	0,1
25 Blanqueador fotoactivado (ppm)	-	15,0	15,0	15,0	15,0	-	-	15,0

30 Ejemplo 16

Se prepararon según la presente invención las siguientes composiciones detergentes con aditivos:

	I	II	III
LAS	-	5,0	5,0
40 PEI	0,5	1,0	3,0
STPP	29,5	-	17,0
Zeolita A	-	34,0	20,0
45 PB1	20,0	15,0	-
TAED	10,0	8,0	-
Mananasa	0,001	0,02	0,001
50 Proteasa	-	0,3	0,3
Amilasa	-	0,06	0,06
Componentes minoritarios, agua y varios	hasta el 100%		

55

60

65

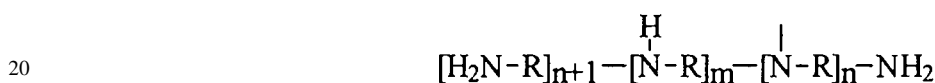
REIVINDICACIONES

1. Una composición detergente de lavado de ropa que comprende una enzima mananasa, un polímero para la liberación de la suciedad para tejidos de algodón de tipo polietilenimina y al menos un componente detergente adicional.

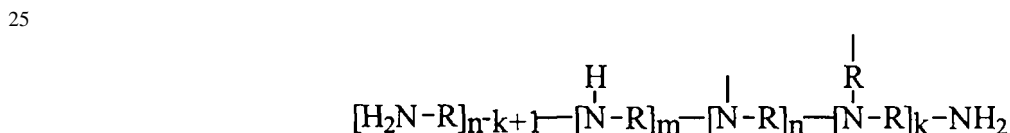
2. Una composición detergente de lavado de ropa según la reivindicación 1, en la que dicha mananasa está presente a un nivel de 0,0001% a 2%, preferiblemente de 0,0005% a 0,5%, más preferiblemente de 0,001% a 0,1%, de enzima pura en peso de la composición total.

3. Una composición detergente de lavado de ropa según las reivindicaciones 1-2, en la que el polímero para la liberación de la suciedad para tejidos de algodón de tipo polietilenimina está comprendido a un nivel desde 0,0001% a 20%, preferiblemente desde 0,001% a 15%, más preferiblemente desde 0,01% a 10%.

4. Una composición detergente de lavado de ropa según las reivindicaciones 1-3, en la que el polímero para la liberación de la suciedad para tejidos de algodón de tipo polietilenimina tiene la fórmula siguiente:

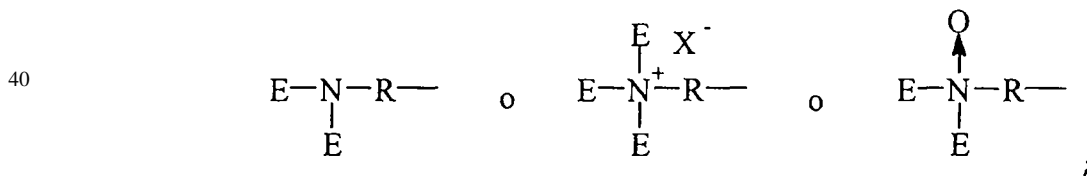


que tiene una fórmula de poliamina modificada $V_{(n+1)}W_mY_nZ$ o una cadena principal poliamínica según la fórmula:

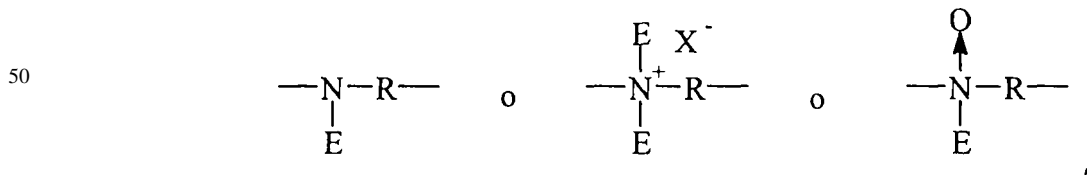


que tiene una fórmula de poliamina modificada $V_{(n-k+1)}W_mY_nY'_kZ$, en donde k es inferior o igual a n, teniendo dicha cadena principal poliamínica antes de la modificación un peso molecular superior a aproximadamente 200 daltons, en donde

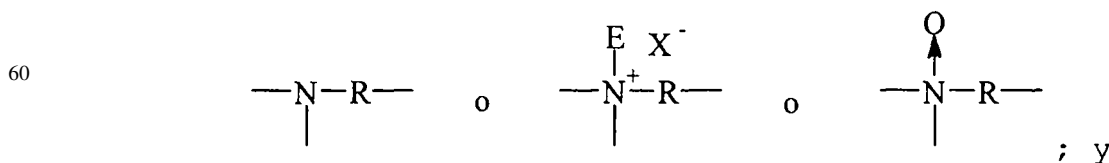
i) las unidades V son unidades terminales que tienen la fórmula:



ii) las unidades W son unidades de cadena principal que tienen la fórmula:

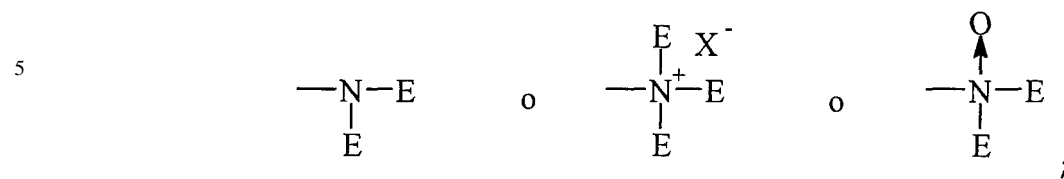


iii) las unidades Y son unidades de ramificación que tienen la fórmula:



ES 2 268 780 T3

iv) las unidades Z son unidades terminales que tienen la fórmula:



en donde las unidades R de unión a la cadena principal se seleccionan del grupo que consiste en alquileno C₂-C₁₂, alquenileno C₄-C₁₂, hidroxialquileno C₃-C₁₂, dihidroxialquileno C₄-C₁₂, dialquilarileno C₈-C₁₂, -(R¹O)_xR¹-, -(R¹O)_xR⁵(OR¹)_x-, -(CH₂CH(OR²)CH₂O)_z-(R¹O)_yR¹(OCH₂CH(OR²)CH₂)_w-, -C(O)(R⁴)_rC(O)-, -CH₂CH(OR²)CH₂-, y mezclas de los mismos; en donde R¹ es alquileno C₂-C₆ y mezclas del mismo; R² es hidrógeno, -(R¹O)_xB, y mezclas de los mismos; R³ es alquilo C₁-C₁₈, arilalquilo C₇-C₁₂, arilo sustituido con alquilo C₇-C₁₂, arilo C₆-C₁₂, y mezclas de los mismos; R⁴ es alquileno C₁-C₁₂, alquenileno C₄-C₁₂, arilalquilo C₈-C₁₂, arileno C₆-C₁₀, y mezclas de los mismos; R⁵ es alquileno C₁-C₁₂, hidroxialquileno C₃-C₁₂, dihidroxialquileno C₄-C₁₂, dialquilarileno C₈-C₁₂, -C(O)-, -C(O)NHR⁶NHC(O)-, -R¹(OR¹)-, -C(O)(R⁴)_rC(O)-, -CH₂CH(OH)CH₂-, -CH₂CH(OH)CH₂O(R¹O)_yR¹-OCH₂CH(OH)CH₂-, y mezclas de los mismos; R⁶ es alquileno C₂-C₁₂ o arileno C₆-C₁₂; las unidades E se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₂₂, alquenilo C₃-C₂₂, arilalquilo C₇-C₂₂, hidroxialquilo C₂-C₂₂, -(CH₂)_pCO₂M, -(CH₂)_qSO₃M, -CH(CH₂CO₂M)CO₂M, -(CH₂)_pPO₃M, -(R¹O)_xB, -C(O)R³, y mezclas de los mismos; siempre que cuando cualquier unidad E de un nitrógeno es un hidrógeno, dicho nitrógeno no es también un N-óxido; B es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, -(CH₂)_qSO₃M, -(CH₂)_pCO₂M, -(CH₂)_q(CHSO₃M)CH₂SO₃M, -(CH₂)_q(CHSO₂M)-CH₂SO₃M, -(CH₂)_pPO₃M, -PO₃M, y mezclas de los mismos; M es hidrógeno o un catión hidrosoluble en cantidad suficiente para satisfacer el equilibrio de cargas; X es un anión hidrosoluble;

m tiene el valor de 4 a 400; n tiene el valor de 0 a 200; m + n tiene el valor de al menos 5; p tiene el valor de 1 a 6, q tiene el valor de 0 a 6; r tiene el valor 0 ó 1; w tiene el valor 0 ó 1; x tiene el valor de 1 a 100; y tiene el valor de 0 a 100; z tiene el valor 0 ó 1.

5. Una composición detergente de lavado de ropa según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el polímero para la liberación de la suciedad para tejidos de algodón de tipo polietilenimina se selecciona de polietilenimina 1800E7 y sus derivados de óxido de amina, polietilenimina 1200E7 y sus derivados oxidados y/o cuaternizados, polietilenimina 600E20 y/o mezclas de los mismos.

6. Una composición detergente de lavado de ropa según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que también comprende un tensioactivo, preferiblemente un tensioactivo no iónico.

7. Una composición detergente de lavado de ropa según la reivindicación 6, en la que el tensioactivo no iónico es un tensioactivo no iónico de tipo alquiletoxilado con una longitud de cadena de C8 a C20, preferiblemente de C12 a C16, y un grado de etoxilación de 2 a 9, preferiblemente de 3 a 7.

8. Una composición detergente de lavado de ropa según la reivindicación 6, en la que el tensioactivo no iónico es un tensioactivo de tipo alquilmetil glucamida con una longitud de cadena alquílica de C8 a C20, preferiblemente de C12 a C18.

9. Una composición detergente de lavado de ropa según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que también comprende un aditivo reforzante de la detergencia, preferiblemente un aditivo reforzante de la detergencia seleccionado de zeolita, tripolifosfato sódico, silicato laminar y/o mezclas de los mismos.

10. Una composición detergente de lavado de ropa según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que también comprende un polímero para la liberación de la suciedad convencional, preferiblemente un poliéster con extremos protegidos con anión, polipropileno tereftalato dietoxilado y/o mezclas de los mismos.

11. Un método para limpiar un tejido con una composición detergente de lavado de ropa según cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

ES 2 268 780 T3

LISTA DE SECUENCIAS

(1) INFORMACIÓN GENERAL:

SOLICITANTE:

NOMBRE: The Procter & Gamble Company

CALLE: One Procter & Gamble Plaza

CIUDAD: Cincinnati, OHIO

PAÍS: EE.UU.

CÓDIGO POSTAL: 45202

TÍTULO DE LA INVENCIÓN: Composiciones detergentes que comprenden una mananasa y un polímero para la liberación de la suciedad.

NÚMERO DE SECUENCIAS:6

FORMA LEGIBLE POR EL ORDENADOR:

TIPO DE SOPORTE: Disquette

ORDENADOR: PC compatible con IBM

SISTEMA OPERATIVO: PC-DOS/MS-DOS

SOFTWARE: PatentIn Release núm. 1.0 Versión 1.25 (EPO)

SEC. 1

CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

LONGITUD: 1407 pares de bases

TIPO: ácido nucleico

FILAMENTO: simple

TOPOLOGÍA: lineal

TIPO DE MOLÉCULA: ADN genómico

FUENTE ORIGINAL

CARACTERÍSTICA:

NOMBRE/CLAVE: CDS

POSICIONES: 1-1482

DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. 1

ES 2 268 780 T3

ATGAAAAAAAAAGTTATCACAGATTTATCATTTAATTATTTGCACACTTATAATAAGTGTGGGA
ATAATGGGGATTACAACGTCCCCATCAGCAGCAAGTACAGGCTTTTATGTTGATGGCAATACG
5 TTATATGACGCAAATGGGCAGCCATTTGTCATGAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTAT
AAAGACACCGCTTCAACAGCTATTCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTCGTATT
10 GTTTTATCAGATGGCGGTCAATGGGAAAAGACGACATTGACACCATTTCGTGAAGTCATTGAG
CTTGCGGAGCAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCACGGGTCGCGATTTCG
CGCAGTGATTTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAGAAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAA
15 GAAGATACGGTTATTATTAACATTGCAAACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGG
GCCGATGGCTATATTGATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACACCTTAATG
GTTGATGCAGCAGGATGGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAGATGTGTTT
20 AATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTATGAGTATGCTGGTGGTGAT
GCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCATAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGT
GAATTCGGTCATAGACATACTGATGGTGATGTTGATGAAGATAACAATCCTTAGTTATTCTGAA
25 GAAACTGGCACAGGGTGGCTCGCTTGGTCTTGGAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA
GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAATTGTCCACGGG
30 GCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTATTTACAGATGATAACGGTGGTCAC
CCTGAACCGCCAACCTGCTACTACCTTGTATGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGGTGGCATGGA
AGCAACGTGACCGGTGGCCCTTGGTCCGTAACAGAATGGGGTGCTTCAGGTAACACTACTCTTTA
35 AAAGCCGATGTAAATTTAACCTCAAATTCCTCACATGAACTGTATAGTGAACAAAGTCGTAAT
CTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTCGCCATGCCAATTGGGGAAATCCCGGTAAT
40 GGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTCTGATTATACATGGCATAGCGGTCCTTTT
ACACGTATCAATAGCTCCAACCTCAGGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAAT
AGTCATCATGTTAGGGAAATAGGCGTGCAATTTTCAGCGGCAGATAATAGCAGTGGTCAAAC
45 GCTCTATACGTTGATAACGTTACTTTAAGATAG

SEC. 2

50 CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
LONGITUD: 493 aminoácidos
TIPO: aminoácido
55 TOPOLOGÍA: lineal
TIPO DE MOLÉCULA: proteína
60 DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. 2

65

ES 2 268 780 T3

MKKKLSQIYHLIICTLIISVGIMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGINHGHWY
KDTASTAIPAIAEQGANTIRIVLSGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNKMVAVVEVHDATGRDS
5 RSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGSAWADGYIDVIPKLRDAGLTHFTLM
VDAAGWGQYPQSIHDYGQDVFNADPLKNTMFSIHMYEYAGGDANTVRSNIDRVIDQDLALVIG
10 EFGHRHTDGDVDEDTILSYSEETGTGWLAWSWKGNSTEWLDLSEDWAGQHLTDWGNRIVHG
ADGLQETSKEPSTVFTDDNGGHPEPPTATTLYDFEGSTQGWGHSNVTGGPWSVTEWGASGNYSL
KADVNLTSNSSHELYSEQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNPGNGMNARLYVKTGSDYTWHS GPF
15 TRINSSNSGTTLSFDLNNIENSHHVREIGVQFSAADNSSGQTALYVDNVTLR

SEC.3

20

CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

LONGITUD: 1407 pares de bases

TIPO: ácido nucleico

25

FILAMENTO: simple

TOPOLOGÍA: lineal

TIPO DE MOLÉCULA: ADN genómico

30

DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. 3

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 268 780 T3

ATGAAAAAAAAAGTTATCACAGATTTATCATTTAATTATTTGCACACTTATAATAAGTGTGGGA
ATAATGGGGATTACAACGTCCCCATCAGCAGCAAGTACAGGCTTTTATGTTGATGGCAATACG
5 TTATATGACGCAAATGGGCAGCCATTTGTCATGAGAGGTATTAACCATGGACATGCTTGGTAT
AAAGACACCGCTTCAACAGCTATTCCTGCCATTGCAGAGCAAGGCGCCAACACGATTTCGTATT
10 GTTTTATCAGATGGCGGTCAATGGGAAAAAGACGACATTGACACCATTCGTGAAGTCATTGAG
CTTGCGGAGCAAATAAAATGGTGGCTGTCGTTGAAGTTCATGATGCCACGGGTCGCGATTTCG
CGCAGTGATTTAAATCGAGCCGTTGATTATTGGATAGAAATGAAAGATGCGCTTATCGGTAAA
15 GAAGATACGGTTATTATTAACATTGCAAACGAGTGGTATGGGAGTTGGGATGGCTCAGCTTGG
GCCGATGGCTATATTGATGTCATTCCGAAGCTTCGCGATGCCGGCTTAACACACACCTTAATG
GTTGATGCAGCAGGATGGGGGCAATATCCGCAATCTATTCATGATTACGGACAAGATGTGTTT
20 AATGCAGATCCGTTAAAAAATACGATGTTCTCCATCCATATGTATGAGTATGCTGGTGGTGAT
GCTAACACTGTTAGATCAAATATTGATAGAGTCATAGATCAAGACCTTGCTCTCGTAATAGGT
GAATTCGGTCATAGACATACTGATGGTGTGTTGATGAAGATACAATCCTTAGTTATTCTGAA
25 GAAACTGGCACAGGGTGGCTCGCTTGGTCTTGGAAAGGCAACAGTACCGAATGGGACTATTTA
GACCTTTCAGAAGACTGGGCTGGTCAACATTTAACTGATTGGGGGAATAGAATTGTCCACGGG
30 GCCGATGGCTTACAGGAAACCTCCAAACCATCCACCGTATTTACAGATGATAACGGTGGTCAC
CCTGAACCGCCAACCTGCTACTACCTTGTATGACTTTGAAGGAAGCACACAAGGGTGGCATGGA
AGCAACGTGACCGGTGGCCCTTGGTCCGTAACAGAATGGGGTGCTTCAGGTAACACTCTTTA
35 AAAGCCGATGTAAATTTAACCTCAAATTCCTTCACATGAACTGTATAGTGAACAAAGTCGTAAT
CTACACGGATACTCTCAGCTCAACGCAACCGTTCGCCATGCCAATTGGGGAAATCCCGGTAAT
40 GGCATGAATGCAAGACTTTACGTGAAAACGGGCTCTGATTATACATGGCATAGCGGTCCTTTT
ACACGTATCAATAGCTCCAACCTCAGGAACAACGTTATCTTTTGATTTAAACAACATCGAAAAT
ATCATCATGTTAGGGAAATAG

45

SEC. 4

50 CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

LONGITUD: 468 aminoácidos

TIPO: aminoácido

TOPOLOGÍA: lineal

55

TIPO DE MOLÉCULA: proteína

DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. 4

60

65

ES 2 268 780 T3

MKKKLSQIYHLIICTLIISVGIMGITTSPSAASTGFYVDGNTLYDANGQPFVMRGINHGHWY
KDTASTAIPAIAEQGANTIRIVLSGGQWEKDDIDTIREVIELAEQNKMVAVVEVHDATGRDS
5 RSDLNRAVDYWIEMKDALIGKEDTVIINIANEWYGSWDGSAWADGYIDVIPKLRDAGLTHITLM
VDAAGWGQYPQSIHDYGQDVFNADPLKNTMFSIHMYEYAGGDANTVRSNIDRVIDQDLALVIG
10 EFGHRHTDGDVDEDTILSYSEETGTGWLAWSWKGNSTEWDYLDLSEDWAGQHLTDWGNRIVHG
ADGLQETSKPSTVFTDDNGGHPEPPTATTLYDFEGSTQGWHGSNVTGGPWSVTEWGASGNYSL
KADVNLTSNSSHELYSEQSRNLHGYSQLNATVRHANWGNPNGMNRARLYVKTGSDYTWHS GPF
15 TRINSSNSGTTLSFDLNNIENIIMLGK

SEC. 5

20 CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
LONGITUD: 1029 pares de bases
TIPO: ácido nucleico
25 FILAMENTO: simple
TOPOLOGÍA: lineal

TIPO DE MOLÉCULA: ADN genómico

30 DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA SEC. 5

5' AAT TGG CGC ATA CTG TGT CGC CTG TGA ATC CTA ATG CCC AGC AGA
35 CAA CAA AAA CAG TGA TGA ACT GGC TTG CGC ACC TGC CGA ACC GAA CGG
AAA ACA GAG TCC TTT CCG GAG CGT TCG GAG GTT ACA GCC ATG ACA CAT
40 TTT CTA TGG CTG AGG CTG ATA GAA TCC GAA GCG CCA CCG GGC AAT CGC
CTG CTA TTT ATG GCT GCG ATT ATG CCA GAG GAT GGC TTG AAA CAG CAA
ATA TTG AAG ATT CAA TAG ATG TAA GCT GCA ACG GCG ATT TAA TGT CGT

45

50

55

60

65

ES 2 268 780 T3

ATT GGA AAA ATG GCG GAA TTC CGC AAA TCA GTT TGC ACC TGG CGA ACC
 CTG CTT TTC AGT CAG GGC ATT TTA AAA CAC CGA TTA CAA ATG ATC AGT
 5 ATA AAA ACA TAT TAG ATT CAG CAA CAG CGG AAG GGA AGC GGC TAA ATG
 CCA TGC TCA GCA AAA TTG CTG ACG GAC TTC AAG AGT TGG AGA ACC AAG
 GTG TGC CTG TTC TGT TCA GGC CGC TGC ATG AAA TGA ACG GCG AAT GGT
 10 TTT GGT GGG GAC TCA CAT CAT ATA ACC AAA AGG ATA ATG AAA GAA TCT
 CTC TAT ATA AAC AGC TCT ACA AGA AAA TCT ATC ATT ATA TGA CCG ACA
 CAA GAG GAC TTG ATC ATT TGA TTT GGG TTT ACT CTC CCG ACG CCA ACC
 15 GAG ATT TTA AAA CTG ATT TTT ACC CGG GCG CGT CTT ACG TGG ATA TTG
 TCG GAT TAG ATG CGT ATT TTC AAG ATG CCT ACT CGA TCA ATG GAT ACG
 20 ATC AGC TAA CAG CGC TTA ATA AAC CAT TTG CTT TTA CAG AAG TCG GCC
 CGC AAA CAG CAA ACG GCA GCT TCG ATT ACA GCC TGT TCA TCA ATG CAA
 TAA AAC AAA AAT ATC CTA AAA CCA TTT ACT TTC TGG CAT GGA ATG ATG
 25 AAT GGA GCG CAG CAG TAA ACA AGG GTG CTT CAG CTT TAT ATC ATG ACA
 GCT GGA CAC TCA ACA AGG GAG AAA TAT GGA ATG GTG ATT CTT TAA CGC
 30 CAA TCG TTG AGT GAA TCC GGG ATC 3'

SEC. 6

CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

LONGITUD: 363 aminoácidos

TIPO: aminoácido

TOPOLOGÍA: lineal

TIPO DE MOLÉCULA: proteína

DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEC. 6

45 ydhT 1
 LFKKHTISLLIIFLLASAVLAKPIEAHTVSPVNPNAQQTTKTVMNWLHL 50
 ydhT 51
 50 PNRTENRVLSGAFGGYSHDTFSMAEADRIRSATGQSPAIYGCDYARGWLE 100
 ydhT 101 TANIEDSIDVSCNGDLMSYWKNGGIPQISLHLANPAFQSGHFKTPITNDQ
 150
 55 ydhT 151 YKNILDSATAEGKRLNAMLSKIADGLQELENQGVVLFRLHEMNGEWW 200
 ydhT 201 WGLTSYNQKDNERISLYKQLYKKIYHYMTDTRGLDHLI WVYSPDANRDFK 250
 ydhT 251 TDFYPGASYVDIVGLDAYFQDAYSINGYDQLTALNKPF AFTEVGPQTANG 300
 60 ydhT 301 SFDYSLFINAIKQKYPKTIYFLAWNDEWSAAVNKGASALYHDSWTLNKGE
 350
 ydhT 351
 65 IWNGDSLTPIVE*. 363