

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 905 978**

51 Int. Cl.:

C11D 3/382 (2006.01)

C11D 3/386 (2006.01)

C11D 3/48 (2006.01)

A01N 65/00 (2009.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.12.2017** **E 17382924 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.11.2021** **EP 3505609**

54 Título: **Composición detergente para el control y la eliminación de biofilms**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.04.2022

73 Titular/es:

ITRAM HIGIENE, S.L. (100.0%)
C/ Miramarges 7, 1-4
08500 Vic (Barcelona), ES

72 Inventor/es:

OSSET HERNÁNDEZ, MIQUEL;
PORTET DANÉS, BRUNA;
RIPOLLÉS ÁVILA, CAROLINA;
RODRÍGUEZ JEREZ, JOSÉ JUAN y
YLLA MONFORT, IRENE

74 Agente/Representante:

INGENIAS CREACIONES, SIGNOS E
INVENCIONES, SLP

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes

ES 2 905 978 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

Composición detergente para el control y la eliminación de biofilms

5 **Campo de la técnica**

La presente invención se enmarca en el campo de la higiene de superficies y se refiere a una composición detergente para el control y la eliminación de biofilms presentes en las mismas, que se basa en la combinación de una enzima mananasa y un principio activo botánico.

10

Estado de la técnica anterior

Un biofilm es un agregado de microorganismos constituido por una población de células creciendo adheridas entre ellas, ancladas a una superficie, e incrustadas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (o EPS, del inglés *extracellular polymeric substances*) producidas por el propio biofilm. Las EPS pueden contener polisacáridos, proteínas, fosfolípidos, ácidos teicoicos y nucleicos, y otras sustancias poliméricas hidratadas hasta con un 97% de agua.

15

Las ventajas que aporta un biofilm para la vida de los microorganismos son numerosas, principalmente el disponer de unas condiciones ambientales más estables, una reserva de nutrientes, un punto de anclaje, y mayor resistencia a la desecación. Así mismo, el biofilm también confiere una mayor resistencia a los microorganismos frente a la acción de desinfectantes.

20

Por lo tanto, en la práctica, un biofilm representa una barrera entre los microorganismos y los desinfectantes, antibióticos o biocidas, de manera que su presencia constituye un importante obstáculo para los procesos de limpieza y desinfección.

25

El biofilm puede estar constituido de monocultivos de microorganismos, o de diversas especies, así como de una mezcla de fenotipos de una especie dada. La formación de biofilms no está restringida a un grupo específico de microorganismos y hoy en día se considera que, en las condiciones ambientales adecuadas, todos los microorganismos son capaces de formar biofilms sobre cualquier tipo de superficie.

30

A pesar de que la mayoría de las especies bacterianas tienen la capacidad de formar biofilms, algunos géneros lo forman más fácil y rápidamente que otros, como es el caso de *Pseudomonas*, *Listeria*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus* y *Bacillus*. Por otro lado, entre las levaduras más habitualmente implicadas en la formación de biofilm está, por ejemplo, el *Saccharomyces cerevisiae*, presente en la industria vinícola.

35

Se ha determinado la presencia de biofilms en ámbitos muy diversos, entre los cuales merece la pena destacarse las instalaciones industriales, donde generan múltiples problemas tanto tecnológicos como higiénicos. Así, por un lado, el biofilm provoca fenómenos de corrosión de las instalaciones, pérdidas de energía, disminución de la eficacia de los procesos, por ejemplo de los sistemas de refrigeración, o la inutilización de las conducciones. Así mismo, los biofilms actúan como focos de contaminación, de manera que su presencia es especialmente indeseable en aquellos sectores en los que la higiene constituye un aspecto fundamental, como por ejemplo, en los procesos de fabricación de alimentos y bebidas, medicamentos y cosméticos, así como en el ámbito hospitalario.

40

En los biofilms presentes en el ambiente hospitalario, por ejemplo en las superficies de catéteres, implantes o prótesis, suelen predominar las bacterias Gram-positivas, notablemente del género estafilococos, aunque las infecciones debidas a bacterias Gram-negativas y fúngicas suelen ser más serias. Las infecciones fúngicas más comunes suelen ser causadas por especies patógenas de *Candida*, particularmente *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*, como se describe en los artículos Hawser *et al.*, *Biofilm formation by Candida species on the surface of catheter materials in vitro*, *Infection Immunity*, 1994, 62 (3), 915-921, y Jabra-Rizk *et al.*, *Fungal biofilms and drug resistance*, *Emerging Infect. Dis.*, 2004, 10 (1), 14-19.

50

Las especies más relevantes involucradas en la formación de biofilm en el marco de la producción de alimentos y que comprometen particularmente la seguridad alimentaria son *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Cronobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Campylobacter jejuni* y *Bacillus spp.*, principalmente, tal como se describe en los artículos Mattila-Sandholm *et al.*, *Biofilm in the industry: A review*, *Food Rev. Int.*, 1992, 8 (4), 573-603, Lee Wong *et al.*, *Biofilm in Food Processing Environments*, *J. Dairy Sci.*, 1998, 81 (10), 2765-2770, y Jo *et al.*, *Maturation and survival of Cronobacter biofilms on silicone, polycarbonate, and stainless steel after UV light and ethanol immersion treatments*, *J. Food Protection*, 2010, 73 (5), 952-956.

55

Así pues, es imprescindible disponer de unos sistemas de higiene eficaces que permitan el control y la eliminación de los biofilms, particularmente en las industrias agroalimentaria, farmacéutica y cosmética, y también a nivel hospitalario, y en especial en las superficies de contacto con los productos, que constituyen una las vías de contaminación más frecuentes.

60

Sin embargo, los procedimientos para la eliminación de biofilms a nivel industrial, principalmente basados en la combinación de procesos mecánicos y el uso de desinfectantes y/o detergentes, no resultan totalmente eficaces.

65

Así pues, se considera que tales procesos de limpieza pueden eliminar hasta un 90% o más de los microorganismos asociados a una superficie, pero no permiten eliminarlos completamente, tal como se describe en el artículo Gibson *et al.*, *Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms*, J. Appl. Microbiol., 1999, 87(1), 41-48. Esto se atribuye principalmente a la presencia de la matriz polimérica, que constituye una barrera que impide la plena actuación de los desinfectantes. Así pues, un procedimiento de limpieza efectivo debería fragmentar o disolver la matriz del biofilm, para permitir el acceso de los desinfectantes a las células viables, tal como se describe en el artículo Chmielewski *et al.*, *Biofilm Formation and Control in Food Processing Facilities*, Comprehensive Rev. Food Sci. Food Safety, 2003, 2, 22-32.

Por otro lado, a la hora de diseñar un sistema eficaz de desinfección industrial, deben tenerse en cuenta las características de las diversas superficies susceptibles de ser higienizadas, de modo que en grandes superficies abiertas pueden ser adecuados unos procedimientos que impliquen un aclarado extensivo, mientras que en superficies menos accesibles son preferibles los sistemas de limpieza *in situ*, conocidos como CIP (*cleaning-in-place*), en los que las soluciones de limpieza se hacen circular a través de tanques, tuberías y equipos, sin necesidad de desmontarlos previamente.

En el estado de la técnica se han descrito numerosas y diversas aproximaciones para el control y la eliminación de biofilms.

Así por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO-A-96/36569 se refiere a composiciones enzimáticas para eliminar o prevenir el biofilm que contienen al menos una enzima mananasa, opcionalmente combinada con otras enzimas elegidas entre carbohidrasas, proteasas, lipasas o glucoproteasas. Adicionalmente, la composición puede contener estabilizante de enzimas, biodispersante, biocidas y/o tensioactivos.

Análogamente, la solicitud de patente internacional WO-A-98/26807 se refiere a un método para la eliminación de biofilm de superficies mediante tratamiento enzimático doble, consistente en el tratamiento con una composición limpiadora que contiene una o más hidrolasas para desprender la capa de biofilm de la superficie, y una composición bactericida que contiene una oxidoreductasa para matar las células bacterianas presentes en el biofilm.

Así mismo, en la solicitud de patente internacional WO-A-01/53010 se describe un método para prevenir, desprender y facilitar la eliminación del biofilm adherido a superficies, formado en interfases sólido-líquido o sólido-líquido-aire, mediante la aplicación de al menos una enzima elegida entre carbohidrasas y proteasas, o bien mediante la aplicación de ambas, en este caso de manera secuencial, preferiblemente primero la carbohidrasa y después la proteasa.

También la solicitud de patente internacional WO-A-01/98214 se refiere a un método para eliminar y prevenir la formación de biofilms sobre superficies, que se basa en degradar las acilhomoserinalactonas producidas por los microorganismos del biofilm, mediante el uso de una composición que contiene al menos una enzima acilasa.

Por otro lado, la solicitud de patente internacional WO-A-2004/041988 se refiere a un método para la eliminación de biofilm mediante la aplicación simultánea o consecutiva de una solución que contiene pancreatina como mezcla enzimática y una solución detergente de pH alcalino.

Adicionalmente, en la solicitud de patente europea EP-A-2243821 se describe una composición para la eliminación de biofilm que también consiste en la combinación de un detergente y una mezcla enzimática. El detergente es una combinación de un agente humectante, un dispersante y un secuestrante; mientras que la mezcla enzimática contiene una proteasa, una lacasa, y una polisacaridasa.

En la solicitud de patente española ES-A-2464872 se describe una composición para el control y la eliminación de biofilm desarrollado en una superficie que comprende un detergente en el que el componente tensioactivo consiste en: un éter de ácido carboxílico, una mezcla de olefina sulfonada y óxido de amina, o un aducto de un poliol con óxido de etileno y óxido de propileno, y una combinación de enzimas que consiste en una lipasa, una proteasa y una α -amilasa.

La solicitud de patente internacional WO-A-2017/001472 se refiere a un método para lavar un textil, el uso de un polipéptido que tiene actividad DNasa y una composición detergente que comprende un polipéptido que tiene actividad desoxirribonucleasa (DNasa). Además, divulga detergentes comerciales que podrían utilizarse con la enzima DNasa, algunos de los cuales incluyen una combinación de enzimas como la mananasa y la α -amilasa, y compuestos de fragancia, como el linalol, limoneno, geraniol, entre otros.

La solicitud de patente estadounidense US-A-2017/0355932 divulga composiciones de limpieza que incluyen una enzima nucleasa, por ejemplo, una enzima desoxirribonucleasa, una enzima ribonucleasa, o una mezcla de las mismas, y taninos, en los que el uso del tanino potencia los beneficios reductores de mal olor de la enzima. Se divulga una composición detergente que comprende una combinación de enzimas que comprende una mananasa, una lipasa, una proteasa y una α -amilasa.

A pesar de las diversas propuestas existentes en el estado de la técnica, persiste la necesidad de disponer de nuevos productos y procedimientos eficaces para la eliminación de biofilms, en particular en ámbitos especialmente exigentes en cuanto a la higiene, como es la industria agroalimentaria, farmacéutica y cosmética, o a nivel hospitalario, que sean

capaces de eliminar los biofilms formados y también de prevenir la formación de nuevos, y que sean aplicables para la limpieza de la mayoría superficies, tanto abiertas como cerradas (por ejemplo, tuberías y circuitos).

Objeto de la invención

El objeto de la presente invención es una composición detergente para el control y la eliminación de biofilms.

Un aspecto no relacionado con la invención es un procedimiento para el control y la eliminación de biofilms en el que se emplea dicha composición.

Forma parte también del objeto de la invención el uso de dicha composición para el control y la eliminación de biofilms.

Descripción detallada de la invención

El objeto de la presente invención es una composición detergente para el control y la eliminación de biofilms desarrollado en una superficie que comprende una combinación de enzimas que comprende una mananasa, una proteasa y una α -amilasa, y un principio activo botánico que comprende una combinación de cineol, pineno y mentadieno.

Los autores de la presente invención han desarrollado una composición detergente basada en la combinación de una mananasa y un principio activo botánico que, sorprendentemente, resulta altamente eficaz en el control y la eliminación de biofilms, tanto los formados en superficies abiertas como en cerradas.

En el contexto de la invención se entiende por la expresión "control de biofilm" la prevención de la formación de biofilm en una superficie, y por la expresión "eliminación de biofilm" la supresión substancial de biofilm en una superficie.

A lo largo de la presente descripción, a no ser que se especifique lo contrario, las concentraciones expresadas como porcentajes se refieren siempre al porcentaje peso/peso (p/p), es decir, gramos de un determinado componente por cada 100 g de composición, y los porcentajes de los diferentes componentes de una composición se ajusta de forma que la suma de los mismos es 100%.

En el contexto de la invención, la materia activa de un tensioactivo, un agente hidrótopo, o de una composición detergente se refiere al residuo que queda tras eliminar el agua y los posibles cosolventes presentes en el producto. La materia activa de una enzima es la indicada por el fabricante en la hoja técnica correspondiente.

El término "aproximadamente" se refiere a una desviación de más/menos 10%, preferiblemente más/menos 5%.

En la presente descripción, así como en las reivindicaciones, las formas singular "un", "una" y "el" o "la" incluyen la referencia en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Los rangos definidos por la preposición "entre" incluyen los extremos de los mismos.

La composición detergente para el control y la eliminación del biofilms de la invención es una composición detergente sustancialmente acuosa, esto es, el agua constituye el disolvente mayoritario en la misma, y puede llegar ser al menos el 50% en peso del peso total de la composición.

La composición de la invención es una composición detergente, esto es presenta propiedades detergentes. Según la definición de la Norma Internacional ISO 862-1984: un detergente es un producto formulado para la limpieza mediante un proceso que desarrolle fenómenos de detergencia. La detergencia se define como el proceso por el cual las suciedades son separadas del sustrato sobre el que estaban retenidas y puestas en estado de disolución o dispersión.

En el contexto de la invención, la composición detergente comprende generalmente uno o más componentes seleccionados del grupo formado por: tensioactivos, coadyuvantes, cosolventes, hidrótopos, agentes reguladores del pH, y auxiliares de presentación, por ejemplo, agua, además de la(s) enzima(s) y del principio activo botánico.

En una realización preferida la composición detergente es una composición acuosa que comprende al menos un tensioactivo, al menos un cosolvente, al menos un coadyuvante, agentes reguladores del pH, además de la(s) enzima(s) y del principio activo botánico, y agua como disolvente.

Tensioactivos

En general, como es bien conocido por el experto en la materia, los tensioactivos son sustancias anfílicas que poseen una parte hidrofóbica y una parte hidrofílica. Esta estructura química particular de los tensioactivos es responsable de sus propiedades, por ejemplo, como humectantes, al reducir la tensión superficial del líquido, con lo que se favorece el mojado de las superficies.

Los tensioactivos pueden clasificarse en espumantes y no espumantes, para indicar el mayor o menor grado de formación de espuma de los mismos. La elección de uno u otro tipo de tensioactivos estará en función de su aplicación. Así por ejemplo, dentro del ámbito de la higienización de superficies en el que se enmarca la presente invención, será preferible un tensioactivo espumante, esto es, con propiedades espumantes en el caso de aplicarse a grandes superficies, en sistemas abiertos, donde el proceso de aclarado puede realizarse de forma sencilla, mientras que en la limpieza de superficies de sistemas cerrados, como tuberías y conducciones, será preferible utilizar un tensioactivo no espumante, esto es, con propiedades no espumantes, ya que en este caso dichas superficies no resultan accesibles para realizar un buen aclarado y existiría el riesgo de que quedaran restos de espuma.

La determinación del poder espumante de un tensioactivo es una práctica bien conocida por el experto en la materia y los diferentes métodos que se pueden emplear se encuentran descritos, por ejemplo, en el libro de X. Domingo, *A guide to the surfactants world*, Proa, Barcelona, 1995 [ISBN: 84-8256-096-4].

En general, las hojas técnicas de los tensioactivos incluyen información sobre las características espumantes de los mismos, de modo que el experto en la materia puede seleccionar el más apropiado para una aplicación específica.

En el contexto de la invención, la composición detergente comprende habitualmente uno o varios tensioactivos, seleccionados del grupo formado por aniónicos, no iónicos, anfóteros, y mezclas de los mismos.

Entre los tensioactivos aniónicos más representativos se encuentran jabones, alquilsulfatos, alquilétersulfatos, alquilbencenosulfonatos, y alquilétercarboxilatos. Otros tensioactivos aniónicos son alquilfosfatos, dialquilsulfosuccinatos, α -olefinsulfonatos, parafin sulfonatos, sarcosinatos, y tauratos. Compañías como, por ejemplo, BASF, Huntsman, Croda, o Kao, comercializan una amplia gama de tensioactivos aniónicos.

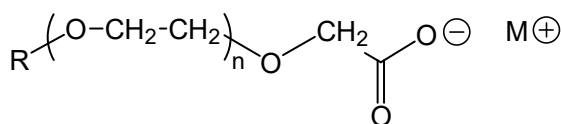
Los jabones son sales de ácidos grasos con una cadena de entre 10 y 20 átomos de carbono, preferiblemente de entre 12 y 18.

Los alquilsulfatos son ésteres del ácido sulfúrico con alcoholes grasos con una cadena de entre 10 y 20 átomos de carbono, preferiblemente de entre 12 y 18, más preferiblemente de entre 12 y 14, en forma de sales metálicas, amónicas o sales de aminas orgánicas con grupos alquilo o hidroxialquilo. Uno de los más empleados es el lauril sulfato sódico.

Los alquilétersulfatos son ésteres del ácido sulfúrico con alcoholes grasos con una cadena de entre 10 y 20 átomos de carbono, preferiblemente de entre 12 y 18, más preferiblemente de entre 12 y 14, que comprenden entre 0,5 y 10 moles de óxido de etileno, preferiblemente entre 0,5 y 5, y más preferiblemente entre 0,5 y 2, en forma de sales metálicas, amónicas o sales de aminas orgánicas con grupos alquilo o hidroxialquilo. Uno de los más empleados es el lauril sulfato sódico con 2 moles de óxido de etileno.

Los alquilbencenosulfonatos provienen de la sulfonación de alquilbencenos y se emplean generalmente en forma de sales de metales alcalinos o alcanolaminas. El grupo alquilo en el alquilbencenosulfonato contiene preferentemente una cadena de entre 8 y 16 átomos de carbono, preferiblemente entre 10 y 15. Uno de los más empleados es el dodecilbenceno sulfonato.

El alquiléter carboxilato o éter alquílico de ácido carboxílico es un tensioactivo aniónico, que responde a la siguiente fórmula:



y es el resultado de funcionalizar un alcohol graso etoxilado con un grupo carboxílico a través de un enlace del tipo éter. Preferiblemente, son sales sódicas ($\text{M}=\text{Na}$), aunque también puede tratarse de sales potásicas o de amonio, o de otros iones metálicos o sales de aminas orgánicas con sustituyentes alquilo o hidroxialquilo alcanolaminas orgánicas. Dicho tensioactivo se denomina éter alquílico carboxilato cuando se encuentra en forma de sal. R es un radical alquilo habitualmente con una cadena de entre 4 y 20 átomos de carbono, preferiblemente de entre 10 y 18, y aún más preferiblemente de entre 12 y 14. El número de moles de óxido de etileno (n) es variable, si bien generalmente se encuentra comprendido entre 0,5 y 15, preferiblemente entre 2 y 12. Resultan preferidos los ácidos alquiléter carboxílicos y/o sus sales con una cadena alquílica conteniendo entre 10 y 18 átomos de carbono, más preferiblemente entre 12 y 14 átomos de carbono, y que contienen de 0,5 a 15, preferiblemente de 2 a 12 moles de óxido de etileno.

Los éteres alquílicos de ácido carboxílico presentan mayoritariamente un comportamiento espumante, si bien algunos de ellos pueden presentar carácter no espumante. Así, los éteres alquílicos de ácido carboxílico de cadena corta, típicamente donde R tiene menos de 10 átomos de carbono, suelen presentar características no espumantes, siendo más adecuados para composiciones para la limpieza de superficies cerradas, mientras que los de cadena larga, cuya cadena alquílica es típicamente de 10 átomos de carbono o más, suelen presentar características espumantes, siendo

más adecuados para composiciones para la limpieza de superficies abiertas. Para cada éter de ácido carboxílico en particular, el experto en la materia sabrá apreciar si tiene características espumantes o no espumantes, y lo incluirá, en consecuencia, en composiciones para el uso más apropiado en cada caso.

- 5 Este tipo de tensioactivos están disponibles comercialmente, por ejemplo, bajo la denominación Akypo® (Kao), o Marlowet® (Sasol).

En una realización preferida de la invención, la composición detergente comprende un alquiléter carboxilato como tensioactivo aniónico.

- 10 Entre los tensioactivos no iónicos más representativos se encuentran alcoholes grasos polialcoxilados, alquilfenoles polialcoxilados, ácidos grasos polialcoxilados, alcanolamidas de ácidos grasos, copolímeros de óxido de etileno y óxido de propileno, polioles polialcoxilados, ésteres de ácidos grasos con polioles polialcoxilados, óxidos de amina, y óxidos de amidoamina. Los tensioactivos polialcoxilados pueden prepararse a partir de óxido de etileno, óxido de propileno, óxido de butileno, o mezclas de los mismos.

- 15 Los óxidos de amina son tensioactivos que se obtienen por oxidación de aminas terciarias, generalmente alquildimetilaminas, con peróxido de hidrógeno, y generalmente tienen propiedades espumantes. La cadena alquímica comprende generalmente entre 10 y 18 átomos de carbono, preferiblemente entre 12 y 14. Comercialmente se pueden encontrar, por ejemplo, bajo la denominación Genaminox® (Clariant), Chemoxide® (Lubrizol), o Standamox (BASF).

- 20 En una realización preferida, la composición detergente comprende un óxido de amina como tensioactivo no iónico. En una realización más preferida comprende una combinación de alquiléter carboxilato y un óxido de amina. En una realización todavía más preferida el tensioactivo consiste en una combinación de alquiléter carboxilato y un óxido de amina. La proporción en peso entre el alquiléter carboxilato y el óxido de amina se encuentra generalmente comprendida entre 10:1 y 1:10, preferiblemente entre 8:1 y 1:5, más preferiblemente entre 5:1 y 1:2, y todavía más preferiblemente entre 5:1 y 2:1.

- 30 Los poliololes polialcoxilados, preferiblemente con óxido de etileno y/o óxido de propileno, son aductos de un poliol con un óxido de alquileno. En general dichos aductos presentan un bajo poder espumante. El poliol puede ser, por ejemplo, glicerina, poliglicerina, trimetilolpropano, etilenglicol, pentaeritritol, eritritol, o polietilenglicol, entre otros. En una realización preferida, el poliol es glicerina.

- 35 En otra realización preferida de la invención, la composición detergente comprende un aducto de poliol con óxido de etileno y óxido de propileno como tensioactivo no iónico. En una realización más preferida el tensioactivo de la composición de la invención consiste en un aducto de poliol con óxido de etileno y óxido de propileno. En otra realización más preferida la composición detergente comprende como tensioactivo un aducto de glicerina con óxido de etileno y óxido de propileno. En una realización todavía más preferida el tensioactivo consiste en un aducto de glicerina con óxido de etileno y óxido de propileno.

- 40 Estos aductos de polioles y óxidos de alquileno permiten preparar composiciones no espumantes, que resultan apropiadas para la aplicación en superficies cerradas como tuberías o circuitos.

- 45 Dichos aductos de polioles se encuentran disponibles de forma comercial. Así, por ejemplo, los aductos de glicerina pueden obtenerse, por ejemplo, bajo la denominación comercial Danox® (Kao), Voranol® (Dow), Voralux® (Dow) o Specflex® (Dow).

- 50 Los polioles polialcoxilados también pueden esterificarse con ácidos grasos y así generar tensioactivos no iónicos con propiedades versátiles. Los ésteres de ácidos grasos con glicerina polietoxilada con entre 2 y 17 moles de óxido de etileno son particularmente preferidos, y más preferidos los ésteres de ácidos grasos de coco. Este tipo de tensioactivos se puede obtener comercialmente bajo la denominación Levenol® (Kao).

- 55 Cuando la composición se aplica para controlar y eliminar biofilms en superficies abiertas el tensioactivo puede ser una mezcla de un alquiléter carboxilato con propiedades espumantes y óxido de amina, que permite la formación de una espuma densa con burbujas pequeñas y que es estable a lo largo del tiempo.

- 60 Por otro lado, en el caso de superficies cerradas, el tensioactivo puede ser un alquiléter carboxilato con propiedades no espumantes, o bien un aducto de un poliol, por ejemplo, glicerina, con óxido de etileno y óxido de propileno, que permiten un mejor control de la espuma y un aclarado fácil.

- El contenido de tensioactivo, en materia activa, en la composición de la invención no supera habitualmente el 25% en peso de materia activa sobre el peso total de la composición, preferiblemente el contenido de tensioactivo se encuentra comprendido entre el 2% y el 20% en peso, más preferiblemente entre el 5% y el 15% en peso, y todavía más preferiblemente entre el 7% y el 12% en peso sobre el peso total de la composición.

65

Coadyuvantes

Un coadyuvante es un compuesto que, en lo referente a la acción detergente, añade sus propiedades particulares a las de los otros componentes de la composición. Entre los coadyuvantes más frecuentes se encuentran los agentes secuestrantes, agentes alcalinos, como los carbonatos y silicatos alcalinos, y los agentes blanqueantes, como el perborato o el percarbonato sódicos.

En una realización preferida, la composición detergente comprende un coadyuvante que comprende al menos un agente secuestrante.

Como es bien conocido por el experto en la materia, los agentes secuestrantes, también denominados quelantes, son sustancias capaces de formar complejos solubles con iones metálicos. En concreto, en el marco de la detergencia, su presencia permite mejorar la acción de los tensioactivos, al eliminar los iones metálicos del medio, principalmente calcio y magnesio, disminuyendo la dureza del agua y reduciendo la formación de sales insolubles.

Algunos de los agentes secuestrantes adecuados para ser utilizados en el marco de la presente invención son, por ejemplo, polifosfatos, especialmente tripolifosfatos y pirofosfatos alcalinos; fosfonatos como, por ejemplo, HEDP (ácido 1-hidroxietano 1,1-difosfónico), DTPMP (ácido dietilentriamino pentametilenfosfónico), EDTMP (ácido etilendiamino tetrametilenfosfónico), ATMP (ácido amino trimetilenfosfónico), o HDTMP (ácido hexametildiamino tetrametilenfosfónico), o sus sales alcalinas; hidroxipolicarboxilatos, como ácido cítrico, tartárico o glucónico; aminopolicarboxilatos, como EDTA (ácido etilendiamino tetraacético), DTPA (ácido dietilentriamino pentaacético), NTA (ácido nitrilo triacético), GLDA (ácido glutámico, N,N-diacético), MGDA (ácido metilglucina diacético), IDS (ácido iminodisuccínico), EDDS (ácido etilendiamino -N,N'-disuccínico) o sus sales alcalinas; policarboxilatos: ácido itacónico o sus sales alcalinas; o mezclas de los mismos.

Preferiblemente, el agente secuestrante se selecciona de entre el grupo formado por ácido cítrico, ácido tartárico, ácido glucónico, EDTA, DTPA, NTA, DTPMP, GLDA y MGDA, sus sales sódicas; y mezclas de los mismos; más preferiblemente el agente secuestrante se elige de entre el grupo formado por ácido cítrico, MGDA, sus sales sódicas; y mezclas de los mismos. En una realización particularmente preferida el agente secuestrante comprende ácido cítrico y la sal sódica de MGDA; y en una realización más preferida el agente secuestrante consiste en ácido cítrico y la sal sódica de MGDA.

El contenido de coadyuvante en la composición de la invención no supera habitualmente el 20% en peso sobre el peso total de la composición, preferiblemente el contenido se encuentra comprendido entre el 2% y el 15% en peso, más preferiblemente entre el 3% y el 12% en peso, todavía más preferiblemente entre el 5% y el 10% en peso, y aún más preferiblemente entre el 6% y el 9% en peso sobre el peso total de la composición.

Cosolventes

La composición detergente contiene habitualmente un cosolvente.

Un cosolvente es un segundo disolvente añadido en pequeñas cantidades para mejorar el poder disolvente o las propiedades estabilizantes del disolvente primario, que habitualmente es el agua en la composición detergente de la invención.

En el contexto de la invención, en general, el cosolvente está presente en una cantidad que no supera el 50% en peso de la cantidad de agua presente en la composición detergente.

Entre los cosolventes más habituales se encuentran propilenglicol, etanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, glicerina, polietilenglicol, 3-metoxi-3-metil-1-butanol, *N,N*-dimetilamidas de ácidos grasos de cadena C₆-C₁₈ saturados o insaturados, ésteres de glicerina con ácidos grasos de cadena C₆-C₁₈ saturados o insaturados, y mezclas de los mismos. Dichos cosolventes son apropiados para ser incorporados en la composición de la invención.

En realizaciones preferidas se emplean como cosolventes mezclas seleccionadas del grupo formado por etanol e isopropanol, propilenglicol y 3-metoxi-3-metil-1-butanol, etanol y propilenglicol, e isopropanol y propilenglicol.

Algunos de los cosolventes presentan propiedades que van más allá de la simple mejora del poder disolvente del disolvente primario, y que aportan en la práctica características de detergencia típicas de los tensioactivos. Este es el caso de las *N,N*-dimetilamidas de ácidos grasos de cadena C₆-C₁₈ saturados o insaturados y de los ésteres de glicerina con ácidos grasos de cadena C₆-C₁₈ saturados o insaturados, en los que una combinación apropiada de las cadenas grasas permite obtener un alto grado de eficacia en la eliminación del biofilm, como por ejemplo la *N,N*-dimetilamida del ácido 9-decenoico, o el éster de glicerina con el ácido *cis* o *trans* oleico, *cis* o *trans* linoleico y 9-decenoico. Estos dos productos y otros análogos son el resultado de la metátesis de olefinas y se encuentran disponibles en el mercado a través de las compañías Stepan o Elevance. También aporta características funcionales adicionales el 3-metoxi-3-metil-1-butanol, que se encuentra disponible a través de la compañía Kuraray.

En una realización preferida, la composición de la invención contiene etanol como cosolvente.

En otra realización preferida, la composición de la invención contiene una combinación de etanol y propilenglicol.

5 En otra realización preferida, la composición de la invención contiene una combinación etanol e isopropanol.

En otra realización preferida, la composición de la invención contiene 3-metoxi-3-metil-1-butanol, opcionalmente en combinación con propilenglicol y/o etanol.

10 En otra realización preferida de la invención la composición detergente contiene 3-metoxi-3-metil-1-butanol, opcionalmente en combinación con propilenglicol y/o etanol, y no contiene tensioactivos adicionales.

En otra realización preferida, la composición de la invención contiene *N,N*-dimetilamida de ácidos grasos de cadena C₆-C₁₈ saturados o insaturados, opcionalmente en combinación con propilenglicol y/o etanol.

15 En otra realización preferida de la invención la composición detergente contiene *N,N*-dimetilamida de ácidos grasos de cadena C₆-C₁₈ saturados o insaturados, opcionalmente en combinación con propilenglicol y/o etanol, y no contiene tensioactivos adicionales.

20 El contenido de cosolvente en la composición de la invención no supera habitualmente el 25% en peso sobre el peso total de la composición, preferiblemente el contenido se encuentra comprendido entre el 2% y el 20% en peso, más preferiblemente entre el 3% y el 15% en peso, todavía más preferiblemente entre el 4% y el 12% en peso, y aún más preferiblemente entre el 5% y el 10% en peso sobre el peso total de la composición.

25 Agentes reguladores del Ph

La composición detergente contiene generalmente un agente regulador del pH, por ejemplo, de carácter básico, como hidróxidos alcalinos; amoníaco; mono-, di- o tri-alquilaminas; mono-, di-, o tri-alcanolaminas; o de carácter ácido, tales como ácidos minerales como, por ejemplo, ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, o ácidos carboxílicos como, por ejemplo, ácido acético, ácido láctico, ácido tartárico, o ácido cítrico; o sus mezclas. Preferiblemente, el agente regulador del pH comprende una mezcla de al menos una alcanolamina y un ácido carboxílico, más preferiblemente una mezcla de al menos una alcanolamina y ácido cítrico, y todavía más preferible una mezcla de al menos una alcanolamina seleccionada de entre monoetanolamina, trietanolamina, y mezclas de las mismas, y ácido cítrico. En una realización particularmente preferida, el agente regulador de pH comprende una mezcla de monoetanolamina y ácido cítrico, y en otra realización particularmente preferida, el agente regulador de pH comprende una mezcla de monoetanolamina, trietanolamina y ácido cítrico.

Generalmente la composición de la invención contiene agentes reguladores del pH para ajustar el valor del pH en un intervalo comprendido entre 7 y 10, preferiblemente entre 8 y 9.

El contenido de agente regulador del pH en la composición de la invención no supera habitualmente el 23% en peso sobre el peso total de la composición, preferiblemente el contenido se encuentra comprendido entre el 4% y el 20% en peso, más preferiblemente entre el 6% y el 18% en peso, todavía más preferiblemente entre el 8% y el 15% en peso, y aún más preferiblemente entre el 9% y el 12% en peso sobre el peso total de la composición.

45 Hidrótropos

Adicionalmente, la composición detergente puede contener un agente hidrótopo.

Los hidrótropos, como es bien conocido por el experto en la materia, son productos que aumentan la solubilidad y miscibilidad de sales orgánicas en agua, y dan mayor homogeneidad a los productos en solución. Algunos hidrótropos adecuados para ser usados en la composición detergente de la presente invención son, por ejemplo, toluenosulfonatos, xilenosulfonatos, cumenosulfonatos, y metilnaftalensulfonatos, en forma de sus sales de monoetanolamonio, dietanolamonio, y trietanolamonio, o bien como sales alcalinas, preferiblemente, sódicas o potásicas; o bien es un alquilsulfato de cadena corta como, por ejemplo, sulfato de *n*-octilo, sulfato de 2-etilhexilo, o sus sales alcalinas, preferiblemente sódicas o potásicas.

En el caso de estar presente, el contenido de hidrótopo en la composición de la invención no supera habitualmente el 15% en peso de materia activa sobre el peso total de la composición, preferiblemente el contenido se encuentra comprendido entre el 2% y el 15% en peso, más preferiblemente entre el 4% y el 12% en peso, y todavía más preferiblemente entre el 6% y el 10% en peso sobre el peso total de la composición.

Combinación de enzimas

La composición detergente de la presente invención comprende una combinación de enzimas que comprende mananasa, una proteasa y una α -amilasa. En una realización preferida la composición de la presente invención comprende una combinación de enzimas que consiste en una mananasa, una proteasa y una α -amilasa.

En el contexto de la invención, la expresión "una mananasa" se extiende también a la combinación de dos o más mananasas, y del mismo modo las expresiones "una proteasa" y "una α -amilasa" se extienden a la combinación de dos o más proteasas o amilasas, respectivamente.

Mananasa

En el contexto de la invención, la mananasa se refiere a la manohidrolasa, que incluye mananhidroxilasa, es decir, endomananasa, así como manosida manohidrolasa, es decir, exo-mananasa. El término incluye además manohidrolasas incluyendo todas las especificidades posibles, tales como α , β , 1,2, 1,3, 1,4, 1,6, L, D. Esto significa que, para los propósitos de la presente invención, son apropiadas mananasas que escinden cualquier polisacárido que contiene manosa en un enlace que implica al menos un residuo de azúcar de manosa (α -manosidasa: E.C. 3.2.1.24; β -manosidasa: EC 3.2.1.25, etc.). La mananasa se encuentra disponible a través de, por ejemplo, las compañías DuPont y Novozymes.

En particular, la combinación de enzimas comprende una mananasa, que es preferiblemente una 1,4- β -manosidasa que hidroliza aleatoriamente enlaces (1,4) en mananos, galactomananos y glucomanos como, por ejemplo, Mannaway de la compañía Novozymes.

Proteasa

Las proteasas, o peptidasas, constituyen un grupo de enzimas capaces de hidrolizar el enlace peptídico de las proteínas. Pertenecen a la subclase EC 3.4.

Las proteasas se clasifican en exopeptidasas o endopeptidasas, según su centro de acción, de manera que las exopeptidasas hidrolizan el enlace peptídico del extremo carboxi o amino terminal de la cadena polipeptídica, mientras que las endopeptidasas rompen los enlaces peptídicos internos del polipéptido.

Las proteasas también se clasifican, en función del grupo funcional presente en su centro activo, en cuatro grupos: serina-proteasas, cisteína-proteasas, aspártico-proteasas, y metalo-proteasas.

Así mismo, en función del pH en el que son activas se clasifican en proteasas ácidas, alcalinas o neutras.

Las proteasas pueden obtenerse a partir de plantas, animales o microorganismos (bacterias, levaduras y hongos).

En el contexto de la presente invención, se puede emplear una proteasa de cualquier origen.

También se incluyen en el ámbito de la presente invención formas mutantes de las proteasas, bien sea por modificación química o mediante ingeniería genética.

Algunas proteasas obtenidas de plantas son, por ejemplo, papaína, bromelina, y ficina. Entre las proteasas obtenidas de animales se encuentran, por ejemplo, protaminasa, tripsina, quimotripsina, pepsina y renina.

Las proteasas también pueden obtenerse a partir de bacterias tales como *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus firmus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilis*, *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces rectus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus metagerium* o *Pseudomonas aeruginosa*, entre otras; así como a partir de hongos, tales como *Aspergillus niger*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus flavus*, *Pericaria oryzae*, *Endothia parasitica*, *Mucor miehei*, o *Mucor pusillus*.

En el marco de la invención, puede utilizarse una proteasa elegida entre las disponibles de forma comercial, como por ejemplo, las comercializadas bajo las denominaciones Alcalase®, Savinase®, Primase®, Durazym®, Polarzyme®, Kannase®, Liquanase®, Ovozyme®, Neutrase®, Everlase®, Esperase®, Maxatase®, Maxacal®, Maxapem®, Polarzyme®, Properase®, Purafect®, Purafect® OxP, Properase®, Excellase® o Opticlean®.

En una realización preferida, la proteasa es una subtilisina. Las subtilisinas (EC 3.4.21.62) pertenecen al grupo de las serina proteasas, y están producidas principalmente por bacterias del género *Bacillus*, como *Bacillus sp.*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus clausii*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, o *Bacillus stearothermophilus* entre, entre otros. Entre las subtilisinas pueden mencionarse, por ejemplo, subtilisina A o subtilisina Carlberg, subtilisina BPN', subtilisina DY, subtilisina 309, subtilisina Y, subtilisina 168, o subtilisina PB92. Estas proteasas están disponibles en forma comercial como, por ejemplo, las comercializadas bajo las denominaciones Alcalase®, Everlase®, Savinase® o Polarzyme® por la empresa Novozymes A/S.

α -Amilasa

Las α -amilasas (EC 3.2.1.1) son enzimas que hidrolizan los enlaces 1,4- α -D-glicosídicos en polisacáridos que contienen tres o más unidades de glucosa unidos por enlaces 1,4- α . Las α -amilasas hidrolizan el almidón, así como glicógeno y oligosacáridos. Pueden obtenerse a partir de animales, plantas o microorganismos. Cualquier α -amilasa de cualquier origen es adecuada para ser usada en el ámbito de la presente invención.

En una realización preferida, la α -amilasa es de origen microbiano. Las amilasas pueden obtenerse a partir de bacterias como, por ejemplo, *Acinetobacter* spp., *Bacillus acidocaldarius* A-2, *Bacillus alcalophilus* subsp. *Halodurans*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus macerans*, *Bacillus subtilis*, *Halobacterium halobium*, entre otros; o a partir de hongos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Fusarium oxysporum*, *Humicola insolens*, *Humicola lanuginosa*, *Mucor pusillus* o *Trichoderma viride*; o a partir de levaduras, como *Candida tropicalis* var. *japonica*, *Endomycopsis fibuligera*, *Lipomyces starkeyi*, *S. castellii*, *Pichia polymorpha* o *Sachwanniomyces alluvius*.

Algunas α -amilasas disponibles comercialmente son, por ejemplo, Termamyl®, Duramyl®, Nalasase®, Fungamyl®, Liquozyme®, Stainzyme®, Bioamylase®, Kemzym®, o Purastar®.

El contenido de cada una de las enzimas en la composición detergente de la invención no supera habitualmente el 2% en peso de materia activa sobre el peso total de la composición, estando generalmente comprendida entre el 0,0001% y el 1,5% más preferiblemente comprendida entre el 0,001% y el 1,0% expresado en peso, de materia activa enzimática.

El contenido de mananasa en la composición de la invención preferiblemente se encuentra comprendido entre el 0,0001% y el 0,5% en peso de materia activa, más preferiblemente entre el 0,001% y el 0,2% en peso, todavía más preferiblemente entre el 0,005% y el 0,1% en peso, y aún más preferiblemente entre el 0,0075% y el 0,05% en peso sobre el peso total de la composición. Un contenido particularmente preferido es el 0,01% en peso.

En el caso de estar presente, el contenido de proteasa en la composición de la invención preferiblemente se encuentra comprendido entre el 0,005% y el 1,0% en peso de materia activa, más preferiblemente entre el 0,01% y el 0,5% en peso, todavía más preferiblemente entre el 0,025% y el 0,25% en peso, y aún más preferiblemente entre el 0,05% y el 0,2% en peso sobre el peso total de la composición. Un contenido particularmente preferido es el 0,07% en peso.

En el caso de estar presente, el contenido de α -amilasa en la composición de la invención preferiblemente se encuentra comprendido entre el 0,01% y el 1,0% en peso de materia activa, más preferiblemente entre el 0,02% y el 0,8% en peso, todavía más preferiblemente entre el 0,05% y el 0,5% en peso, y aún más preferiblemente entre el 0,075% y el 0,25% en peso sobre el peso total de la composición. Un contenido particularmente preferido es el 0,15% en peso.

La combinación de enzimas de la composición detergente de la invención comprende una combinación de mananasa, α -amilasa y proteasa. En otra realización preferida la combinación de enzimas de la composición detergente de la invención consiste en una combinación de mananasa, α -amilasa y proteasa.

Las enzimas disponibles de forma comercial, habitualmente se suministran en forma de soluciones acuosas de concentraciones diversas, de manera que se utilizarán en cada caso las cantidades adecuadas de las enzimas comerciales para disponer de los porcentajes adecuados de la combinación de enzimas, así como las concentraciones deseadas en la composición de la invención.

Así, por ejemplo, se encuentran disponibles soluciones acuosas comerciales de mananasas que habitualmente tienen un contenido de materia activa enzimática comprendido entre el 0,5% y el 2% en peso, o soluciones acuosas comerciales de proteasas y amilasas que habitualmente tienen un contenido de materia activa enzimática comprendido entre el 5% y el 15% expresado en peso. En cada caso, el experto en la materia sabrá calcular la cantidad de producto comercial que debe emplearse para obtener una composición con las proporciones y concentraciones adecuadas según la presente invención.

Alternativamente, se puede expresar el contenido de materia activa enzimática en función de unidades de actividad, según la información que figura habitualmente en las hojas técnicas correspondientes a los productos enzimáticos.

Así, por ejemplo, puede medirse la actividad enzimática de las mananasas como unidades mananasa MIUM, definidas según un ensayo en el que se determina la cantidad de azúcares reductores liberados a partir de un sustrato apropiado, tal como se describe, por ejemplo, en el artículo de Rättö *et al*, *Enzymatic hydrolysis of isolated and fibre-bound galactoglucomannans from pine-wood and pine kraft pulp*, Appl. Microbiol. Biotechnol., 1993, 40, 449-454.

Para las proteasas, su actividad enzimática puede medirse en unidades denominadas KNPU (*Kilo Novo Protease Unitis*) definidas en función de la cantidad de proteasa capaz de hidrolizar cierta cantidad de dimetilcaseína a péptidos por minuto, en unas condiciones determinadas, tal como se describe, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional WO-A-03/018734.

Finalmente, para las α -amilasas su actividad enzimática puede medirse utilizando la unidad KNU (*Kilo Novo alpha-Amylase Units*), definidas como la cantidad de enzima que hidroliza 5,26 g de almidón por hora, según unas condiciones determinadas, según se indica, por ejemplo, en la solicitud de patente norteamericana US-A-2012/0122754.

- 5 Habitualmente la composición detergente de la invención comprende agentes estabilizantes como, por ejemplo, glicerina, polietilenglicol o propilenglicol, para mejorar la estabilidad de los enzimas en la misma.

Principio activo botánico

- 10 La composición detergente de la invención comprende un principio activo botánico.

En el contexto de la invención, un principio activo botánico es un compuesto que se encuentra en una planta, esto es, las raíces, las hojas, la corteza, los tallos, las flores y los fruto, que puede ser, por ejemplo, terpeno, esteroide, polifenol, alcaloide, flavonoide, catequina, glicósido, y derivados de los mismos, como, por ejemplo, ésteres. La extracción de principios activos botánicos a partir de materia vegetal es bien conocida por el experto en la materia y se encuentra descrita, por ejemplo, en el libro S. C. Mandal, V. Mandal y A. K. Das, *Essentials of Botanical Extraction: Principles and Applications*, Elsevier, San Diego, 2015.

Los principios activos botánicos se obtienen generalmente por extracción mediante el empleo de disolventes como el agua, alcoholes, como, por ejemplo, metanol, etanol o isopropanol, polioles, como, por ejemplo, propilenglicol o glicerina, cetonas, como, por ejemplo, acetona, disolventes no solubles en agua, como, por ejemplo, hexano, y mezclas de los mismos. Opcionalmente, el disolvente puede incluir un ácido o una base para ajustar el pH. La extracción también puede efectuarse en condiciones supercríticas, evitando así el empleo de disolventes líquidos. En este caso se emplean fluidos en estado supercrítico, como, por ejemplo, dióxido de carbono, óxido nitroso, amoniaco, *n*-heptano, *n*-butano o xenón.

En el contexto de la invención, el principio activo botánico comprende una combinación de cineol, pineno y mentadieno. Opcionalmente, los principios activos que tienen grupos hidroxilo pueden estar en forma de ésteres con ácidos carboxílicos de cadena C₁₋₁₈, por ejemplo el propionato de linalilo.

Además de la extracción, dichos principios activos botánicos se pueden obtener eventualmente mediante síntesis orgánica por procedimientos bien conocidos por el experto en la materia, o mediante procedimientos de fermentación con microorganismos. El cineol, también denominado eucaliptol, es un terpeno con el número CAS 470-82-6.

La denominación pineno comprende isómeros de un monoterpeneo bicíclico como, por ejemplo, los correspondientes a los números CAS 80-56-8, 127-91-3, 7785-70-8, 7785-26-4, 19902-08-0 y 18172-67-3.

La denominación mentadieno comprende isómeros como, por ejemplo, (*R*)-*p*-menta-1,8-dieno con el número CAS 5989-27-5, 3,8-*p*-mentadieno con el número CAS 586-67-4, o 2,8-*p*-mentadieno con el número CAS 499-99-0. Estos principios activos botánicos se encuentran presentes en vegetales y su localización se encuentra disponible al experto en la materia, por ejemplo, a través de la página web www.thegoodscentscompany.com/data/.

En una realización preferida el principio activo botánico se encuentra en forma de un extracto de una materia vegetal seleccionada del grupo formado por tomillo, orégano, canela, eucalipto, niaouli, y mezcla de los mismos. Más preferiblemente el principio activo botánico se encuentra en forma de una mezcla de extractos de tomillo, orégano, canela y eucalipto.

Los principios activos botánicos se encuentran disponibles comercialmente a través de compañías como, por ejemplo, Soria Natural, Linnea, Ayumi, Euromed, Lubrizol, Nutrasorb, o Plameca.

El contenido de principio activo botánico o combinación de principios activos botánicos en la composición de la invención no supera habitualmente el 10% en peso de materia activa sobre el peso total de la composición, preferiblemente el contenido se encuentra comprendido entre el 0,01% y el 10% en peso, más preferiblemente entre el 0,05% y el 5% en peso, todavía más preferiblemente entre el 0,08% y el 3% en peso, y aún más preferiblemente entre el 0,1% y el 1% en peso sobre el peso total de la composición.

Composición para el control y la eliminación de biofilm desarrollado en una superficie

La composición detergente para el control y la eliminación de biofilm desarrollado en una superficie según la presente invención es una solución acuosa que comprende una combinación de enzimas, y un principio activo botánico, según se han definido anteriormente.

En una realización preferida de la invención, la composición detergente comprende:

- 65 – entre el 2% y el 20%, preferiblemente entre el 5% y el 15%, y más preferiblemente entre el 7% y el 12% de tensioactivo,

– entre el 2% y el 15%, preferiblemente entre el 2% y el 15%, más preferiblemente entre el 3% y el 12%, todavía más preferiblemente entre el 5% y el 10%, y aún más preferiblemente entre el 6% y el 9% de coadyuvante,
 – entre el 2% y el 20%, preferiblemente entre el 3% y el 15%, más preferiblemente entre el 4% y el 12%, y aún más preferiblemente entre el 5% y el 10% de cosolvente,
 5 – entre el 4% y el 20%, preferiblemente entre el 4% y el 20%, más preferiblemente entre el 6% y el 18%, y aún más preferiblemente entre el 5% y el 10% de agente regulador del pH,
 – una combinación de enzimas que comprende una mananasa, una proteasa y una α -amilasa, y
 – un principio activo botánico que comprende una combinación de cineol, pineno y mentadieno,
 en donde los porcentajes están expresados en peso de materia activa con respecto al peso total de la composición.

10 El contenido preferido de las enzimas y el principio activo botánico es el citado anteriormente en la sección correspondiente.

En otra realización preferida de la invención, el detergente comprende:

15 – entre el 2% y el 20%, preferiblemente entre el 5% y el 15%, y más preferiblemente entre el 7% y el 12% de tensioactivo,
 – entre el 2% y el 15%, preferiblemente entre el 2% y el 15%, más preferiblemente entre el 3% y el 12%, todavía más preferiblemente entre el 5% y el 10%, y aún más preferiblemente entre el 6% y el 9% de coadyuvante,
 20 – entre el 2% y el 20%, preferiblemente entre el 3% y el 15%, más preferiblemente entre el 4% y el 12%, y aún más preferiblemente entre el 5% y el 10% de cosolvente,
 – entre el 4% y el 20%, preferiblemente entre el 4% y el 20%, más preferiblemente entre el 6% y el 18%, y aún más preferiblemente entre el 5% y el 10% de agente regulador del pH,
 – entre el 2% y el 15%, preferiblemente entre el 4% y el 12%, y más preferiblemente entre el 6% y el 10% de hidrótopo,
 25 – una combinación de enzimas que comprende una mananasa, una proteasa y una α -amilasa, y
 – un principio activo botánico, que comprende una combinación de cineol, pineno y mentadieno,
 en donde los porcentajes están expresados en peso de materia activa con respecto al peso total de la composición.

El contenido preferido de las enzimas y el principio activo botánico es el citado anteriormente en la sección correspondiente.

30 Los autores de la presente invención han observado que el uso de la composición detergente que comprende una combinación de enzimas, que incluye mananasa, y un principio activo botánico, sorprendentemente, resulta altamente eficaz en la eliminación del biofilms sobre diferentes tipos de sustratos, consiguiéndose en particular el propósito de disgregar la matriz polimérica del mismo, lo que proporciona unos niveles de desinfección sensiblemente superiores,
 35 como puede constatarse en los resultados obtenidos, descritos en los ejemplos. Dicha composición resulta sorprendentemente estable a pesar de incluir en la misma los componentes del detergente y los enzimas.

Las concentraciones de los componentes del detergente, de la combinación de enzimas y del principio activo botánico se podrán ajustar de forma conveniente en función del tipo de biofilm a tratar, así como del tipo de superficie, por
 40 ejemplo, de si se aplica a la limpieza de sistemas abiertos o cerrados.

En una realización de la invención, la composición es particularmente adecuada para el control y la eliminación del biofilm de superficies abiertas y contiene preferiblemente entre el 0,1% y el 2%, expresado en peso, de materia activa, preferiblemente entre el 0,2% y el 1,0%, y más preferiblemente entre el 0,4% y el 0,8%. En esta realización más
 45 preferida, una composición con un 40% en peso de materia activa se aplica en forma de una solución acuosa al entre el 1% y el 2% en peso. Según esta realización, el tensioactivo contenido en la composición detergente acuosa es preferiblemente de tipo espumante, y se elige de entre un éter de ácido carboxílico espumante, un óxido de amina, y mezclas de los mismos.

En otra realización de la invención, la composición es particularmente adecuada para la eliminación del biofilm de superficies cerradas, de difícil acceso, como conducciones y tuberías, para aplicarse según sistemas de limpieza CIP. Según esta realización particular, la composición contiene preferiblemente entre el 0,1% y el 2%, expresado en peso,
 50 de materia activa, preferiblemente entre el 0,2% y el 1,0%, y más preferiblemente entre el 0,4% y el 0,8%. Según esta realización el tensioactivo contenido en la composición detergente acuosa es preferiblemente de tipo no espumante, y se elige de entre un éter de ácido carboxílico no espumante y un aducto de poliol y óxido de etileno y óxido de propileno, preferiblemente donde el poliol es glicerina.

Alternativamente, la composición de la invención puede prepararse a partir de una solución concentrada con los componentes del detergente, de una solución concentrada de la combinación de enzimas y de una solución concentrada
 60 con el principio activo botánico, que se disponen por separado y se combinan y se diluyen convenientemente en el momento de su uso, formándose *in situ* la composición detergente de la invención, siguiendo un procedimiento sustancialmente análogo al descrito, por ejemplo, en la solicitud de patente española ES-A-2464872.

Procedimiento para la eliminación de biofilms

Forma también parte del objeto de la presente invención un procedimiento para el control y la eliminación de biofilm desarrollado sobre una superficie que comprende las siguientes etapas:

- (i) aplicar la composición de la invención sobre la superficie;
- (ii) dejar actuar la composición durante un período comprendido entre 10 min y 180 min, preferiblemente comprendido entre 10 min y 90 min, y
- (iii) aclarar con agua.

En determinados casos, por ejemplo, presencia abundante de biofilm, el procedimiento puede comprender además la siguiente etapa:

- (iv) aplicar un desinfectante.

En la etapa (i), la aplicación de la composición de la invención sobre la superficie se realiza según la manera más apropiada según el tipo de superficie a tratar.

Así, si se trata de la limpieza de una superficie abierta, la composición puede aplicarse, por ejemplo, mediante un equipo adecuado para pulverizar la composición a baja presión. Si se trata de la limpieza de superficies cerradas, como los sistemas CIP, la composición de la invención se aplica mediante circulación de la solución en dichos sistemas.

Preferiblemente, la composición de la invención se aplica en dicho procedimiento a una temperatura comprendida entre 40° C y 60° C, preferiblemente entre 45° C y 55° C.

El tiempo de contacto entre la composición y la superficie, según la etapa (ii), puede variar en función de la densidad del biofilm, del tipo de exopolisacáridos presentes en la matriz, que a su vez depende de los microorganismos que conformen el biofilm.

En general, para la limpieza de superficies abiertas se obtienen buenos resultados con tiempos de contacto más cortos, preferiblemente comprendidos entre 15 y 30 minutos, mientras que para las superficies cerradas (CIP), el tiempo de contacto o de circulación suele ser mayor, preferiblemente comprendido entre 30 y 120 minutos.

Entre los desinfectantes adecuados para ser usados en la etapa (iv) del procedimiento según la presente invención están, por ejemplo, sustancias oxidantes, como peróxido de hidrógeno, ácido peracético, persulfato potásico, o hipoclorito sódico.

En el caso de la presencia abundante de biofilm, en el procedimiento de la invención, antes de la etapa (i), y antes de aplicar la composición de la invención, se aplica sobre la superficie una solución alcalina y se deja actuar durante un período de tiempo comprendido entre 10 min y 90 min.

Los autores de la presente invención han comprobado que la incorporación de esta etapa de alcalinización resulta en un aumento de la efectividad antibiofilm del tratamiento, en casos de presencia abundante de biofilm.

La solución alcalina es una solución acuosa de una base, por ejemplo, hidróxido sódico, hidróxido potásico, o carbonato sódico, que presenta generalmente un valor de pH comprendido entre 9 y 10. Dicha solución puede aplicarse sobre la superficie por pulverización.

El procedimiento de limpieza que forma parte del objeto de la presente invención puede aplicarse a prácticamente a cualquier tipo de superficie sobre la que se haya desarrollado un biofilm, tanto metálicas como, por ejemplo, aluminio, cromo, acero, o acero inoxidable; como superficies de vidrio, cerámica o porcelana; así como superficies de plástico, tales como polímeros termoplásticos o termoestables, por ejemplo, resinas epoxi; entre otros materiales.

Así mismo, dicho procedimiento es aplicable para superficies según cualquier disposición y accesibilidad, siendo adecuado para la limpieza de superficies abiertas como para aplicarse en sistemas de limpieza CIP (*cleaning-in-place*).

Uso de la composición

También forma parte del objeto de la presente invención el uso de la composición de la invención para el control y la eliminación de biofilm desarrollado sobre una superficie.

Dicho uso incluye tanto la eliminación activa del biofilm ya depositado sobre la superficie, como la prevención de su formación, de manera que el uso de dicha composición puede emplearse para la limpieza de superficies susceptibles de desarrollar un biofilm sobre las mismas, con una finalidad de mantenimiento, para prevenir su formación.

La composición de la invención presenta un efecto desinfectante, que no precisa el uso de agentes biocidas convencionales para evitar preventivamente la formación de biofilm.

Dicha composición es apropiada para el control y la eliminación de cualquier tipo de biofilm, originado a partir de uno o más microorganismos que pueden ser bacterias aeróbicas y anaeróbicas, hongos (incluyendo levaduras y hongos filamentosos), algas y/o protozoos.

5 En los ensayos experimentales con la composición detergente para la limpieza de un biofilm sobre una superficie de acero inoxidable, se observa que el uso de la misma resulta altamente efectivo para reducir notablemente la presencia de biofilms y para la disgregación de su matriz polimérica. Este efecto permite que en un eventual tratamiento posterior con un desinfectante se consiga la eliminación total de las células bacterianas viables.

10 Una de las ventajas de la composición de la invención es hacer innecesaria la aplicación de un agente desinfectante en el tratamiento preventivo para evitar la formación de biofilm, de modo que con un único producto se consigue prevenir la formación de biofilm.

15 En los ejemplos que siguen a continuación se muestran realizaciones particulares de la composición de la invención, así como los resultados del uso de la misma para la eliminación de biofilms.

Ejemplos 1 a 14: Composiciones para el control y la eliminación de biofilms

20 Se prepararon 14 formulaciones correspondientes al detergente de la composición utilizando las cantidades detalladas en la Tabla I, expresadas como % de producto tal cual:

TABLA I							
Componente	Ejemplo						
	1	2*	3	4*	5	6	7*
Monoetanolamina	6,0	6,0	6,0	6,0	5,0	5,0	5,0
Trietanolamina	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	-	-
Ácido cítrico.H ₂ O	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	5,0	5,0
Etanol	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	4,0	4,0
Isopropanol	-	-	-	-	-	-	-
Propilenglicol	-	-	-	-	-	10,0	10,0
MMB	-	-	-	-	-	-	-
Dimetilamida	-	-	-	-	-	-	-
Aniónico	-	-	-	-	-	6,0	6,0
No iónico 1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	-	-
No iónico 2	-	-	-	-	-	6,0	6,0
Coadyuvante	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Hidrótopo	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	-	-
Amilasa	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	2,0	2,0
Lipasa	-	0,15	-	0,15	-	-	0,15
Mananasa	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Proteasa	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	2,0	2,0
Principio botánico activo	3,0	2,5	2,0	3,0	2,5	2,0	3,0
Agua	c.s.p. 100						
c.s.p. = cantidad suficiente para *Ejemplos de referencia							

Componente	Ejemplo						
	8	9	10*	11	12*	13	14
Monoetanolamina	5,0	5,0	5,0	6,0	3,0	5,5	5,5
Trietanolamina	-	-	-	3,0	-	-	-
Ácido cítrico.H ₂ O	5,0	5,0	5,0	7,0	2,0	6,5	6,5
Etanol	4,0	4,0	4,0	3,5	-	-	-
Isopropanol	-	-	-	1,5	1,5	-	-
Propilenglicol	10,0	10,0	10,0	-	12,5	10,0	10,0
MMB	-	-	-	-	-	10,0	-
Dimetilamida	-	-	-	-	-	-	10,0
Aniónico	6,0	6,0	6,0	-	3,0	-	-
No iónico 1	-	-	-	10,0	-	-	-
No iónico 2	6,0	6,0	6,0	-	7,0	-	-
Coadyuvante	1,2	1,2	1,2	1,2	0,4	1,1	1,1
Hidrótopo	-	-	-	11,0	-	-	-
Amilasa	2,0	2,0	2,0	1,2	1,2	1,2	1,2
Lipasa	-	-	0,5	-	0,5	-	-
Mananasa	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Proteasa	2,0	2,0	2,0	0,8	0,8	0,8	0,8
Principio activo botánico	2,5	3,0	3,0	2,5	2,5	3,0	3,0
Agua	c.s.p. 100						
*Ejemplos de referencia Aniónico = alquilétercarboxilato, con un 92% en peso de materia activa No iónico 1 = aducto de poliol, con un 100% en peso de materia activa No iónico 2 = óxido de amina, con un 30% en peso de materia activa Coadyuvante = MGDA sal trisódica, en forma sólida Principio activo botánico = extracto que comprende extractos de tomillo, orégano y canela, con un 6,65% en peso de materia activa							

Para la preparación de las composiciones de la Tabla I se empleó una lipasa comercial que contenía el 5% en peso de materia activa, una proteasa con un 8% en peso de materia activa, una α -amilasa con un 11% en peso de materia activa, y una mananasa con un 1% en peso de materia activa.

Las formulaciones detergentes se prepararon por mezcla de los componentes y se ajustaron a un pH comprendido entre 8 y 9.

Las formulaciones se ensayaron según la norma ASTM D 1173 para determinar el poder espumante de las mismas. Se observó que las formulaciones de los Ejemplos 1 a 5, 11, 13 y 14 presentaron un nivel de espuma que correspondía al de una composición detergente no espumante. Las formulaciones de los Ejemplos 6 a 10, y 12 presentaron una espuma estable, densa y con burbujas pequeñas, mientras que las formulaciones Dichas formulaciones se sometieron a un ensayo de estabilidad a 5° C, 20° C y 40° C durante 8 semanas, y mantuvieron sustancialmente estables el aspecto y el valor de pH.

Las composiciones se sometieron así mismo a estudios de estabilidad para comprobar que presentaban actividad enzimática estable después de un período de tiempo prolongado. Para ello, se midió la actividad inicial de las enzimas y su actividad pasadas tres semanas a 20° C y se comprobó que la actividad enzimática eran aceptable, puesto que resultaban sustancialmente mejores que los de otras combinaciones enzimáticas comerciales de referencia.

Ejemplo 15: Ensayos de eficacia antiséptica y desinfectante

5 Para ensayar la eficacia antiséptica y desinfectante de los componentes de la composición de la invención, se siguieron las directrices de la norma UNE-EN-13697: Ensayo cuantitativo de superficie no porosa para la evaluación de la actividad bactericida y/o fungicida de los desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad. Método de ensayo sin acción mecánica y requisitos (fase 2/etapa 2).

10 A modo de resumen, se prepararon biofilms sobre discos de acero de 2 cm de diámetro limpiados por inmersión en lavavajillas, esterilizados con isopropanol del 70% y secados en una cabina de flujo laminar.

Se emplearon las cepas de *S. aureus* ATCC 6538 y *L. monocytogenes* CECT 5672 para la formación de los biofilms.

15 Sobre los biofilms se pulverizaron diversas composiciones, una comprendía una combinación de mananasa, amilasa, proteasa, y un principio activo botánico, según la invención, y otras composiciones con diferentes tipos de enzimas y sin principio activo botánico, tal como se muestra en la Tabla II:

TABLA II

Ejemplo	Componentes activos
Comparativo 1	Proteasa
Comparativo 2	Amilasa
Comparativo 3	Mananasa
Comparativo 4	Proteasa Amilasa
Comparativo 5	Proteasa Amilasa Mananasa
Comparativo 6	Principio activo botánico
15	Proteasa Amilasa Mananasa Principio activo botánico

20 Las composiciones de dicha tabla se ajustaron a un pH de 8,5, y se pulverizaron sobre los discos con el biofilm a una temperatura de 50° C y se dejó actuar durante un tiempo de 15 minutos. A continuación, se aclaró con agua. Los ensayos se efectuaron por triplicado.

25 En las Tablas III y IV se muestra el recuento de bacterias, expresado como Log UFC, y la letalidad obtenida para cada una de ellas, también expresada como log UFC:

TABLA III

<i>S. aureus</i> ATCC 6538			
Ejemplo	Media	Desv.típica	Letalidad
15	<u>1,00</u>	<u>0,77</u>	<u>5,63</u>
Comparativo 1	3,33	2,08	3,30
Comparativo 2	3,32	2,07	3,31
Comparativo 3	3,15	0,00	3,48
Comparativo 4	3,20	1,43	3,43
Comparativo 5	3,00	1,70	3,63
Comparativo 6	2,22	1,33	4,41

TABLA IV

<i>L. monocytogenes</i> CECT 5672			
Ejemplo	Media	Desv.típica	Letalidad
15	1,53	0,80	5,10
Comparativo 1	3,48	1,52	3,15
Comparativo 2	3,43	1,63	3,20
Comparativo 3	3,21	1,29	3,42
Comparativo 4	3,13	0,00	3,50
Comparativo 5	3,00	2,30	3,63
Comparativo 6	3,30	1,23	4,07

Se hicieron los siguientes controles que se muestran en la Tabla V, expresados en log UFC:

5

TABLA V

Control	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Agua dura	7,59	7,57
Neutralizante	7,16	7,26
Microorganismo inoculado	8,15	8,96
Microorganismo en los discos de ensayo	6,63	7,37

El control de agua dura es el control que verifica que el agua dura, que se utiliza como interferente, no afecta a los microorganismos.

10 El control de neutralizante es para verificar que el neutralizante no sea tóxico para los microorganismos. El neutralizante se empleó para evitar que haya actividad residual después de la evaluación.

El microorganismo inoculado es la cantidad de microorganismos en la solución de trabajo.

15 El microorganismo en los discos de ensayo es la cantidad de microorganismos en los discos de ensayo que se sometieron al tratamiento con las composiciones.

20 La letalidad corresponde a la diferencia entre la cantidad de microorganismos en los discos de ensayo que se sometieron al tratamiento con las composiciones y la cantidad de microorganismos que quedan en los discos de ensayo después del tratamiento.

25 De los ensayos realizados se desprende que la combinación de la presente invención consigue una letalidad sustancialmente superior a otras composiciones que no contienen dicha combinación de la mananasa con un principio activo botánico. Al comparar los resultados de los ejemplos comparativos 1 a 6 con el Ejemplo 15, de la invención, queda claro que la combinación de la invención con mananasa y un principio activo botánico presenta un efecto sinérgico en relación con la eliminación de biofilm.

Ejemplo 16: Ensayo de eficacia

30 La composición preparada según el Ejemplo 11, ajustada a un pH de 8,5, se aplicó en forma de solución acuosa al 1% en peso sobre biofilms de *L. monocytogenes* desarrollados en discos de acero, según un procedimiento análogo al seguido en el Ejemplo 15.

35 Se efectuaron tres lavados de 15 minutos cada uno a una temperatura de 55° C y se determinó el número de células viables por cm². El control contenía 5,02 x 10⁶ Células/cm².

En la Tabla VI se muestra el porcentaje de células de *L. monocytogenes* despegadas del biofilm y la letalidad, expresada en Células/ml, después de 1, 2 o 3 lavados con la composición de la invención:

40

TABLA VI

Lavado	% Células despegadas	Letalidad
1	80,8	$3,71 \times 10^6$
2	73,2	$3,47 \times 10^6$
3	98,4	$4,82 \times 10^6$

Se observa que con la composición de la invención se obtiene prácticamente la eliminación total del biofilm después del tercer lavado, y la destrucción de prácticamente todas las bacterias en suspensión.

5 Así pues, las composiciones de la invención proporcionan un grado de higienización muy elevado debido a la eliminación efectiva del biofilm.

10 La combinación de efectos enzimáticos diversos, tensioactivos y el principio activo botánico en las composiciones de la invención proporcionan ventajas significativas en higienización.

REIVINDICACIONES

- 1.- Composición detergente para el control y la eliminación de biofilm desarrollado en una superficie, que comprende una combinación de enzimas que comprende una mananasa, una proteasa y una α -amilasa, caracterizada porque comprende un principio activo botánico que comprende una combinación de cineol, pineno y mentadieno.
- 2.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque comprende uno o más componentes seleccionados del grupo formado por: tensioactivos, coadyuvantes, cosolventes, hidrótrofos, agentes reguladores del pH y agua.
- 3.- Composición según la reivindicación 2, caracterizado porque comprende uno o varios tensioactivos, seleccionados del grupo formado por aniónicos, no iónicos, anfóteros, y mezclas de los mismos.
- 4.- Composición según la reivindicación 3, caracterizado porque comprende un alquiléter carboxilato como tensioactivo aniónico.
- 5.- Composición según la reivindicación 3, caracterizado porque comprende un óxido de amina como tensioactivo no iónico.
- 6.- Composición según la reivindicación 3, caracterizado porque comprende una combinación de alquiléter carboxilato y un óxido de amina.
- 7.- Composición según la reivindicación 3, caracterizado porque comprende un aducto de poliol con óxido de etileno y óxido de propileno como tensioactivo no iónico.
- 8.- Composición según la reivindicación 7, caracterizado porque el poliol es glicerina.
- 9.- Composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, caracterizada porque comprende un coadyuvante que comprende al menos un agente secuestrante.
- 10.- Composición según la reivindicación 9, caracterizada porque el agente secuestrante se selecciona de entre el grupo formado por ácido cítrico, ácido tartárico, ácido glucónico, EDTA, DTPA, NTA, DTPMP, GLDA y MGDA, sus sales sódicas; y mezclas de los mismos.
- 11.- Composición según la reivindicación 10, caracterizada porque el agente secuestrante comprende ácido cítrico y la sal sódica de MGDA.
- 12.- Composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11, caracterizada porque el cosolvente se selecciona del grupo formado por propilenglicol, etanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, glicerina, polietilenglicol, 3-metoxi-3-metil-1-butanol, *N,N*-dimetilamidas de ácidos grasos de cadena C₆-C₁₈ saturados o insaturados, ésteres de glicerina con ácidos grasos de cadena C₆-C₁₈ saturados o insaturados, y mezclas de los mismos.
- 13.- Composición según la reivindicación 12, caracterizada porque como cosolvente se emplea una mezcla seleccionada del grupo formado por etanol e isopropanol, propilenglicol y 3-metoxi-3-metil-1-butanol, etanol y propilenglicol, e isopropanol y propilenglicol.
- 14.- Composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 13, caracterizada porque el agente regulador del pH comprende una mezcla de al menos una alcanolamina y un ácido carboxílico.
- 15.- Composición según la reivindicación 14, caracterizada porque el agente regulador del pH comprende una mezcla de al menos una alcanolamina y ácido cítrico.
- 16.- Composición según la reivindicación 2, caracterizada porque comprende:
 - entre el 2% y el 20%, preferiblemente entre el 5% y el 15%, y más preferiblemente entre el 7% y el 12% de tensioactivo,
 - entre el 2% y el 15%, preferiblemente entre el 2% y el 15%, más preferiblemente entre el 3% y el 12%, todavía más preferiblemente entre el 5% y el 10%, y aún más preferiblemente entre el 6% y el 9% de coadyuvante,
 - entre el 2% y el 20%, preferiblemente entre el 3% y el 15%, más preferiblemente entre el 4% y el 12%, y aún más preferiblemente entre el 5% y el 10% de cosolvente,
 - entre el 4% y el 20%, preferiblemente entre el 4% y el 20%, más preferiblemente entre el 6% y el 18%, y aún más preferiblemente entre el 5% y el 10% de agente regulador del pH,
 - una combinación de enzimas que comprende una mananasa, una proteasa y una α -amilasa, y
 - un principio activo botánico,
 en donde los porcentajes están expresados en peso de materia activa con respecto al peso total de la composición, y donde el principio activo botánico comprende una combinación de cineol, pineno y mentadieno.
- 17.- Uso de la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 para el control y la eliminación de biofilm desarrollado sobre una superficie.