

360804

1er CERTIFICADO DE ADICION

Case E6R2A.



28 1968

Memoria Descriptiva

sobre:

"Mejoras introducidas en el objeto de la
patente principal nº 339.730, concedida
el 15 de enero de 1968, por: "PROCEDIMIEN
TO PARA PREPARAR UNA COMPOSICION DETERGENE
TE GRANULAR"

==.==.==.==.==.==.==.==.==.==.

Solicitante: THE PROCTER & GAMBLE COMPANY, entidad norteamericana,
residente en 301 East Sixth Street, Cincinnati, Ohio,
EE.UU. de A.

==.==.==.==.==.==.==.==.==.==.

28



Esta invención se relaciona con composiciones
detergentes conteniendo enzimas especialmente adaptadas
25 para remover suciedades y manchas de los materiales texti-
les que se lavan con las mismas. Más particularmente se
relaciona con composiciones detergentes conteniendo enzimas



proteolíticas que tienen estabilidad mejorada de la enzima bajo condiciones ambientales adversas.

5 revela y reivindica composiciones de lavandería comprendien-
do una enzima pulverizada adherida a un vehículo granular
que está basado en una sal hidratable y un método para ad-
herir enzima pulverizada al vehículo granular.

Las composiciones granulares de lavandería preferi-
10 das de dicha aplicación comprenden una enzima pulverizada
adherida a un vehículo granular el cual comprende una sal
hidratable parcialmente hidratada que tiene una tensión de
vapor no mayor que 13.15 mm. de mercurio a 20°C. y presión
atmosférica y que tiene un pH en solución acuosa en la es-
15 cala de 4 a 12. El tamaño de partícula de dicho vehículo
está preferiblemente en la escala de 0.075 mm. a 3.33 mm.
y la sal hidratable es preferiblemente una sal reforzadora
hidratable la cual tiene un pH en solución acuosa en la
20 escala de 8 a 11, tal como tripolifosfato de sodio, piro-
fosfato de sodio y tetraborato de sodio. Se prefiere que
tales sales reforzadoras presentes en la composición estén
hidratadas no más de aproximadamente 50% de su capacidad
total de hidratación. Las enzimas preferidas en tales
25 composiciones son hidrolasas tales como estearasas, carbo-
hidrasas, nucleasas, proteasas y particularmente serino-
proteasas. El proceso de preparar las composiciones deter-
gentes comprende la aplicación de la enzima pulverizada a



dicho vehículo granular en la presencia de agua.

Ahora se ha encontrado que la estabilidad de la enzima de las composiciones detergentes que contienen una sal hidratable descritas en la aplicación de patente identificada arriba puede ser mejorada mediante el empleo en el gránulo portador de la enzima de un material proteínico colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado.

Los materiales proteínicos que inesperadamente se han encontrado que tienen un efecto estabilizador sobre los componentes de enzima proteolítica de las composiciones detergentes son materiales proteínicos derivados de colágeno caracterizados por tener pesos moleculares promedios en la escala desde aproximadamente 5,000 hasta aproximadamente 250,000. Las proteínas derivadas de colágenos adecuadas en la presente son aquellas que se obtienen por hidrólisis parcial del colágeno. Como se usa aquí, proteínas de colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado son materiales derivados de fuentes de colágeno por degradación parcial hidrolítica digestiva con agua, ácido, alcali, calor, presión y similares suficiente para hacer el colágeno soluble o dispersable en agua a aproximadamente temperatura ambiente (25°C.) sin destruir la estructura proteínica esencial del colágeno.

Las proteínas parcialmente hidrolizadas y parcialmente solubilizadas útiles en la presente son obtenidas por hidrólisis digestiva de colágeno el cual se encuentra



1908

en un número de substancias naturales. El colágeno consiste de moléculas proteínicas con numerosas ligaduras cruzadas, de alto peso molecular y se encuentra, por ejemplo, en los tejidos conectivos fibrosos blancos de los mamíferos y peces y esta localizado en los tejidos mayores tales como piel, tendones y huesos. Ejemplos de fuentes que contienen colágeno incluyen piel de cerdo, material de tenería (pieles de ternero no usables para cueros) y oseína (tejido procedente de los huesos del ganado que queda después del tratamiento ácido que remueve el fosfato de calcio). Estas fuentes que contienen colágeno son tratadas de la manera convencional para quitarles la grasa, la materia mineral y la proteína no-colágeno y son digeridas como se ha descrito hasta aquí hidrolizando el colágeno con extracciones de agua sucesivas a temperaturas por ejemplo, en la escala desde aproximadamente 48.89°C. a aproximadamente 100.00°C. Las moléculas de colágeno proteínicas son digeridas en etapas hidrolíticas sucesivas para dar moléculas de colágeno parcialmente degradadas las cuales retienen el constituyente amino ácido del colágeno pero las cuales varían en peso molecular y en sus propiedades de gelatinización. A medida que el material colágeno es hidrolizado a través de etapas sucesivas de hidrolisis, se produce la degradación del colágeno a moléculas proteínicas de peso molecular decrecientemente inferior y de solubilidad ascendentemente superior. Generalmente, las moléculas proteínicas de peso molecular más elevado presentan propiedades de gelatiniza-



ción en agua, y generalmente llamadas gelatinas, se preparan en las primeras etapas de la hidrolisis. Los materiales proteínáceos no gelatinizantes de pesos moleculares más bajos, y solubilidad incrementada los cuales todavía re-
5 tienen la constitución amino ácida característica del colágeno se obtienen a medida que el proceso de degradación hidrolítica es continuado a través de etapas sucesivas.

Las proteínas derivadas de colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado útiles en la presente son aquellas que se derivan de la digestión hidrolítica
10 del colágeno que da por resultado materiales proteínáceos los cuales retienen substancialmente la constitución amino ácida característica del colágeno y tienen un peso molecular promedio de por lo menos 5,000. Las proteínas que son completamente hidrolizadas en el sentido en que hidrolisis
15 parcial se usa en la presente tienen pesos moleculares por debajo de un promedio de aproximadamente 5,000 y no son adecuadas para la presente. Las proteínas estabilizadoras de enzima proteolítica parcialmente hidrolizadas y solubili-
20 zadas se caracterizan en la presente por pesos moleculares promedio en la escala de aproximadamente 5,000 a aproximadamente 250,000. Podrá apreciarse, por supuesto, que los materiales proteínáceos útiles en la presente pueden contener moléculas de proteína por debajo y/ó por encima de las
25 escalas señaladas y que las escalas especificadas constituyen pesos moleculares promedio.

La naturaleza del colágeno el cual por hidrolisis provee materiales estabilizadores de enzima proteolítica



útiles en la presente es descrita por Veis (Ed.), Macro-
molecular Chemistry of Gelatin (1964) páginas 1-43. La
conversión de colágeno en gelatinas es descrita por Kramer,
"Gelatin --How It Is Made", Food Engineering (Noviembre
5 1967) páginas 75-77 y por Veis, Edición anterior,
páginas 127-218. La degradación posterior de la gelatina
a proteínas no gelatinizantes derivadas de colágeno es des-
crita por Veis, Edición anterior, páginas 223-264.

Todas las gelatinas disponibles que tienen peso
10 molecular promedio entre aproximadamente 5,000 y aproxima-
damente 250,000 y las proteínas derivadas de colágeno par-
cialmente solubilizado e hidrolizado no gelatinizantes que
tienen un peso molecular promedio entre 5,000 y 50,000 son
adecuadas para uso en esta invención y todas ellas estabili-
15 zan significativamente las proteasas empleadas en la presente.

Sin embargo es especialmente deseable, utilizar
proteínas derivadas de colágeno (tanto gelatinizantes como
no gelatinizantes) teniendo un peso molecular dentro de
la escala desde aproximadamente 5,000 hasta aproximadamente
20 100,000. Las proteínas no gelatinizantes parcialmente so-
lubilizadas e hidrolizadas teniendo un peso molecular pro-
medio de 5,000 a 25,000 son altamente preferidas para uso
en la presente.

Las proteínas derivadas de colágeno utilizadas
25 en la presente son generalmente obtenidas en una forma pul-
verizada y esta forma es preferida para uso en la presente.
Es importante que estas proteínas sean solubles o disper-
sables en agua. Estas propiedades, es decir solubilidad



y dispersabilidad facilitan el contacto íntimo de la proteasa y de la proteína, como se describe de aquí en adelante y reducen al mínimo la deposición de estas proteínas sobre los tejidos lavados y la tendencia de tal deposición a dar
5 por resultado la amarillez de dichos tejidos.

Ejemplos específicos de proteínas derivadas de colágeno comerciales adecuadas para uso en la presente son: WSP-X-1000 (peso molecular promedio de 10,000) fabricada por Wilson Chemical Specialties Company, Knox Gelatin (peso
10 molecular promedio de 50,000 a 70,000) fabricada por Kind y Knox Company, y Swift Technical Protein Colloid I-V (peso molecular promedio de aproximadamente 10,000) fabricada por Swift and Company. La proteína derivada de colágeno
está disponible en muchas fuentes comerciales diferentes,
15 y en muchas el peso molecular promedio varia desde 5,000 hasta 250,000. Cualquiera de estas proteínas derivadas de colágeno puede ser usada en la presente.

Las proteínas derivadas de colágeno descritas arriba son empleadas en la presente en cantidad suficiente
20 para estabilizar enzima proteolítica. Generalmente, la proteína es utilizada aquí en una relación de peso de proteína a polvo de enzima desde aproximadamente 80:1 hasta aproximadamente 1:20, preferiblemente desde aproximadamente 5:1 hasta aproximadamente 1:10.

25 Aunque no se desea quedar limitado por teoría particular alguna, se cree que las proteínas, como se describe arriba, preservan la actividad enzimática de las enzimas proteolíticas mediante la inhibición, degradación des-



40 NOV 1900

naturalización, autólisis y/o oxidación de la enzima.

Se cree que la degradación, autólisis y desnaturalización por oxidación son reducidas al mínimo por la presencia de ambas la enzima proteolítica y la proteína en
5 relación íntima.

La enzima en contacto íntimo con el material proteínáceo protector es protegida de los efectos dañinos de la temperatura, humedad y compuestos blanqueadores de perborato y de la degradación, desnaturalización, autólisis
10 y/o oxidación resultantes.

Las sales hidratables y los otros componentes que pueden formar los vehículos granulares de esta invención son descritos en

15

Un vehículo granular preferido comprende una mezcla de tripolifosfato de sodio y pirofosfato diácido disódico que son sales hidratables. El componente de pirofosfato provee niveles mejorados de estabilidad de la enzima.
20

Las composiciones de lavandería conteniendo enzima de la presente invención son preparadas por métodos similares a los métodos (1) a (4) descritos en la aplicación identificada más arriba excepto que un material colágeno
25 parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado puede ser aplicado al vehículo granular mezclándolo con la sal hidratable y los ingredientes restantes que forman el gránulo portador seguido por humedecimiento y aplicación rápida



de la enzima pulverizada. Como otra alternativa, puede aplicarse agua ó una solución ó suspensión de la proteína derivada de colágeno en agua que se rocía sobre el vehículo granular. Un método preferido de preparar los granulos conteniendo enzima de esta invención comprende la aplicación a un vehículo granular, preferiblemente mediante rociado, de una suspensión de la enzima y de la proteína derivada de colágeno mientras el vehículo granular está siendo agitado, como por ejemplo en un mezclador de cemento, mezclador del tipo de cinta, tambor rotativo, recipiente aglomerador ó similares.

El polvo de enzima y el colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado sorprendentemente se adhieren rápidamente al vehículo granular para proveer las composiciones de lavandería con estabilidad enzimática mejorada efectiva en las aplicaciones de limpieza en agua dura y blanda, especialmente para remover, o para hacer más removibles, suciedades, manchas, y otros materiales extraños que estén adheridos a las telas y tejidos textiles. Dichas composiciones por ejemplo, hacen efectivamente removibles o remueven la mayor parte de las suciedades comúnmente encontradas sobre los tejidos: escamas de piel u otra queratina, y mezclas de lípidos de triglicéridos, ceras esterés, hidrocarburos, ácidos grasos libres, esteróles y lipoproteínas, por ejemplo, sangre, pus, salsa, yema de huevo, pintura, grasa, aceite y manchas de hierba. Si la enzima empleada tiene actividad amilolítica, las composiciones detergentes de esta invención, incluyendo las de los



ejemplos, tienen utilidad especial para el lavado de platos y la limpieza de cazuelas y sartenes además de el lavado de los tejidos sucios.

5 El vehículo granular con la enzima adherida y el colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado puede ser usado per se como un agente pre lavador ó remojador ó, cuando el vehículo comprende un componente detergente tal como una sal reforzadora hidratable, como un agente limpiador. El vehículo granular con la enzima
10 adherida puede ser mezclado con otros materiales detergentes granulares de aproximadamente el mismo tamaño de partícula y la misma densidad para formar una composición detergente de trabajo pesado multicompuesta diseñada para que tenga un cierto número de características deseables. En tal caso,
15 el vehículo granular con la enzima y el colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado preferiblemente está presente en una cantidad en la escala desde aproximadamente 0.2% hasta aproximadamente 30% en peso de tal composición detergente multicompuesta y está uniformemente
20 distribuido a través de toda la composición detergente, de manera que una muestra tomada al azar en cualquier punto de la misma tiene aproximadamente la misma formulación que cualquiera otra muestra tomada en otro punto de la composición. El uso de menos de aproximadamente 0.2% de vehículo
25 mas enzima dificulta la uniformidad, por otra parte mas de el 30% da por resultado una pérdida de las ventajas de tal mezcla, llamada algunas veces mezcla maestra. Si se desea, el vehículo con los gránulos de enzima puede ser teñido



28 NOV 1967

de un color brillante y mezclado con un detergente granular ligeramente coloreado o blanco para producir una composición que tenga en su totalidad una apariencia moteada distintiva, de acuerdo con lo revelado en la patente Canadiense 577479,
5 Britt.

En una composición detergente multicompuesta comprendiendo aproximadamente 0.2% a aproximadamente 30% del vehículo granular con la enzima adherida y colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado, el 70% a
10 99.8% restante pueden ser materiales detergentes granulares de los tipos convencionales. Generalmente tales materiales son mezclas de detergentes orgánicos y reforzadores en relaciones de peso de 1:4 a 20:1. Los reforzadores pueden ser
15 o pueden ser de otros tipos tales como las sales reforzadoras de policarboxilato de la patente de los Estados Unidos de América Número 3,308,067, Diehl expedida en Marzo 7, 1967.

Las enzimas pulverizadas son adheridas al vehículo
20 granular en las composiciones de lavandería y en los procesos de esta invención para proveer desde aproximadamente .001% hasta aproximadamente 20%, preferiblemente .01% a 5% de enzima en el peso total del vehículo y polvo de enzima. Cuando el vehículo con enzima está uniformemente mezclado
25 con los granulos detergentes para formar una composición detergente, la concentración de enzima usualmente está en la escala desde 0.001% hasta 2%, generalmente 0.005% a 0.5% de la composición detergente. Teniendo en cuenta el



vehículo inerte en los productos enzimáticos pulverizados del comercio, la cantidad de productos de enzima (enzima mas vehículo) adheridos al vehículo granular pueden estar en la escala desde 0.001% hasta 40%, preferiblemente hasta 20% del peso total de enzima mas vehículo. La cantidad de colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado empleada es tal que la relación de proteína derivada de colágeno a polvo de enzima (enzima mas vehículo) es desde aproximadamente 80:1 a 1:20 y preferiblemente 5:1 a 1:10.

Basado en la cantidad de enzima adherida al vehículo granular, la relación de proteína a enzima es desde aproximadamente 100:1 a 1:10 y preferiblemente desde aproximadamente 20:1 a 1:1.

EJEMPLOS

Los ejemplos siguientes sirven para ilustrar la invención en detalle específico. Los ejemplos son puramente ilustrativos y no se pretende que limiten la invención en manera alguna.

Las proporciones y los porcentajes de componentes de enzima dados en los ejemplos no se refieren a las enzimas activas sino a los productos de enzima pulverizados que comprenden enzima activa y su vehículo pulverizado. "Alcalasa", por ejemplo, como se describe arriba contiene 6% de enzima activa.

En los ejemplos I-IV la suspensión de enzima es rociada sobre el vehículo granular en un mezclador de cemento con rociadores situados fuera del mezclador dirigiendo el rociado directamente hacia la parte interior para proveer

28 Nov. 1958



rociado y agitación simultáneos.

EJEMPLO I

Gránulos detergentes secados por aspersion que tienen la siguiente formulación fueron preparados mediante los métodos convencionales:

	<u>Componentes</u>	<u>Partes en Peso</u>
	Sulfonato de alquil benceno sódico derivado de tetrapropileno	24.0
	Tripolifosfato de sodio	18.6
10	Silicato de sodio ($\text{SiO}_2:\text{Na}_2\text{O}$ relación de 2:1)	5.4
	Sulfato de sodio	24.3
	Sulfonato de tolueno sódico	2.5
	Agua	6.2
15	Miscelanea, (perfume, abrillantadores, carboximetilcelulosa sódica)	2.0
	TOTAL	<hr/> 83.0

Diez partes de perborato de sodio tetrahidratado fueron mezclados uniformemente con los gránulos detergentes secados por aspersion anteriores. Esta composición detergente tenía tamaños de partícula desde 3.33 mm. hasta 0.074 mm., y una densidad de 0.5 g. por cm^3 aproximadamente.

Una suspensión conteniendo 1.00 partes de agua, 0.53 partes de polvo de alcalasa (enzima proteolítica) y 0.35 partes de proteína WSP-X-1000 (una proteína derivada de colágeno, pulverizada que no tiene propiedades gelatinizantes y que tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 10,000) fue preparada. Esta suspensión fue rociada sobre 5.10 partes de tripolifosfato de sodio anhidro,



granular y estos gránulos conteniendo pro... fueron mez-
clados uniformemente con la mezcla descrita arriba de grá-
nulos detergentes secados por aspersión y con perborato de
sodio pulverizado.

5 Esta composición detergente fue envasada en sacos
de polietileno y almacenada bajo condiciones constantes
a 32.22°C y 80% humedad relativa durante 3 meses. La activi-
dad de la enzima proteolítica fue determinada mediante el
análisis Azocoll a intervalos y comparada con la de una
10 composición detergente de control conteniendo enzima pre-
parada de la misma manera, pero sin añadirle la proteína
WSP-X-1000 los resultados aparecen en la siguiente Tabla 1.

TABLA 1

15	Días	Control		Composición del Ejemplo I	
		Nivel de Proteasa Analizado	% de Actividad de Proteasa Remanente	Nivel de Proteasa Analizado	% de Actividad de Proteasa Remanente
	0	.72	100	.73	100
	24	.63	87.5	.66	90
	51	.56	78	.69	94
	93	.41	57	.62	85
20	123	.28	39	.69	95

El análisis Azocoll usado en la presente está ba-
sado en la liberación de un colorante soluble en agua de
un substrato de proteína insoluble en agua (Azocoll) por
una enzima proteolítica. La cantidad de colorante libera-
do bajo condiciones cuidadosamente controladas es medida
25 espectrofotométricamente. La actividad de la proteasa es
calculada partiendo de la cantidad de colorante liberado.



La desviación analítica normal es aparente en la Tabla 1.

Los resultados de la Tabla 1 muestran que la composición conteniendo enzima del Ejemplo I retuvo su actividad enzimática con pequeña degradación de proteasa bajo condiciones de almacenaje adversas durante un periodo de 5 123 días y en la presencia de un blanqueador de perborato. La composición de control sufrió un 60% aproximadamente en reducción de actividad de proteasa durante este mismo periodo de tiempo.

10 Las propiedades ventajosas de estabilidad mostradas en la Tabla 1 fueron confirmadas mediante pruebas de lavado empleando muestras de tela conteniendo dos tipos diferentes de manchas. Las manchas utilizadas fueron manchas de huevo y EMPA-112 (mezcla de sangre, leche y 15 tinta) las muestras de tela EMPA-112 fueron obtenidas de la Swiss Testing House en St. Gallen, Suiza, (Eidgenossische Material Prufungsund, Mersuchsanstant Fur Industrie, Banevesen und Gewenke, Unterstrasse 11, St. Gallen, Suiza).

Las composiciones detergentes empleadas en estas 20 pruebas de lavado fueron el control (sin proteína) y el producto del Ejemplo I ambos después de un almacenaje durante 123 días bajo las condiciones descritas arriba. La evaluación de las muestras de tela lavadas fue hecha sobre una escala desde 0 hasta 100 en donde 0 equivale a la eficacia de lavado de una composición detergente que no tiene 25 actividad de proteasa y 100 equivale a la eficiencia de lavado de una composición detergente conteniendo proteasa recientemente preparada.



El promedio de anotación del producto de control fue 25 aproximadamente. El producto del Ejemplo I tuvo un grado promedio de 75 aproximadamente.

EJEMPLO II

5 Gránulos secados por aspersion teniendo la formulación siguiente fueron preparados por los métodos convencionales:

	<u>Componentes</u>	<u>Partes en Peso</u>
10	Sulfonato de alquil bencéno sódico derivado de tetrapropileno	24.0
	Tripolifosfato de sodio	18.6
	Silicato de sodio ($\text{SiO}_2:\text{Na}_2\text{O}$ relación de 2:1)	5.4
	Sulfato de sodio	24.3
	Sulfonato de tolueno sódico	2.5
15	Agua	6.2
	Miscelanea (perfume, abrillantadores carboximetilcelulosa sódica)	0.6
	Total	<hr/> 81.6

20 Diez partes de perborato de sodio pulverizado tetrahidratado fueron mezclados uniformemente con los gránulos detergentes secados por aspersion.

5.25 partes de tripolifosfato de sodio anhidro granular, y 1.40 partes de pirofosfato disódico diácido anhidro granular fueron mezclados y empleados como vehí-
25 culos de enzimas proteolíticas. El pH de estos vehículos de enzima en solución acuosa saturada fue 7.7.

Una suspensión conteniendo 0.5 partes de polvo de alcalasa (enzima proteolítica), 0.17 partes de proteína



WSP-X-1000 (Una protefina derivada de colágeno pulverizada que no tiene propiedades gelatinizantes y que tiene un promedio de peso molecular de aproximadamente 10,000), y 1.05 partes de agua fue preparada y rociada sobre la mezcla
5 seca de tripolifosfato de sodio y pirofosfato disódico diácido, descritas arriba. Esta mezcla conteniendo enzima proteolítica fue uniformemente mezclada con la mezcla de gránulos detergentes secados por aspersion y con perborato de sodio pulverizado.

10 Una composición detergente de control fue preparada teniendo la misma composición de la descrita arriba con la excepción de que no se incluyó en dicho control protefina WSP-X-1000 ni pirofosfato disódico diácido.

15 Porciones de la composición detergente de control y porciones del producto del Ejemplo II fueron empaquetados separadamente en bolsas de polietileno y en paquetes de cartón sin protección adicional contra la humedad. Las bolsas de polietileno conteniendo estas composiciones detergentes fueron almacenadas a 32.22°C. y 80% de humedad
20 relativa durante 90 días. Al final de este período de almacenaje, el producto de esta invención retuvo 100% aproximadamente de la actividad de proteasa inicial y la composición de control (sin protefina ni pirofosfato disódico diácido) retuvo solamente 55% de la actividad de proteasa
25 inicial. La combinación de una sal hidratable y protefina derivada de colágeno tiene excelentes efectos estabilizadores de enzima en composiciones detergentes granulares que contiene enzima proteolítica. Los resultados de la



NOV. 1960

prueba de almacenaje en paquetes de cartón sin protección adicional después de 20 días de almacenaje fueron como sigue: el producto del Ejemplo II retuvo 70% de la actividad de enzima proteolítica inicial mientras que el control
5 (sin proteína ni pirofosfato disódico diácido) retuvo solamente 17% de la actividad de enzima proteolítica inicial.

EJEMPLO III

Se prepararon gránulos detergentes secados por aspersión de la siguiente composición:

	<u>Componentes</u>	<u>Partes en peso</u>
10	Sulfonato de alquil bencéno sódico derivado de tetrapropileno	24.0
	Tripolifosfato de sodio	18.6
	Silicato de sodio (SiO_2 : Na_2O relación de 2:1)	5.4
15	Sulfato de sodio	24.3
	Sulfonato de tolueno sódico	2.5
	Agua	6.2
	Miscelánea (perfume, abrillantadores carboximetilcelulosa sódica)	2.0
20	Total	<u>83.0</u>

Diez partes de perborato de sodio tetrahidratado pulverizado fueron mezclados uniformemente con los gránulos detergentes secados por aspersion de la fórmula anterior.

Una suspensión conteniendo 1.00 partes de agua,
25 0.53 partes de polvo de alcalasa (enzima proteolítica) y
0.17 Knox Gelatin (una proteína derivada de colágeno pulverizada, que tiene propiedades gelatinizantes y un peso molecular promedio de aproximadamente 50,000 a aproximada-



mente 70,000) fue preparada .^{*} Esta suspensión fue rociada sobre 5.28 partes de tripolifosfato de sodio, anhidro, granular y mezclada uniformemente con la mezcla descrita arriba de gránulos detergentes secados por aspersion y perborato de sodio pulverizado.

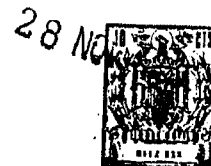
Un producto de control fue preparada teniendo la misma composición del descrito arriba excepto que no se incluyó Knox Gelatin en la formulación.

Porciones del producto de control y de la composición detergente del Ejemplo III fueron empaquetadas en bolsas de polietileno y almacenadas en condiciones constantes a 32.22°C. y 80% de humedad relativa durante 90 días con los resultados siguientes: el producto de esta invención retuvo 75% de la actividad de proteasa inicial mientras que el producto de control retuvo solamente 54% de la actividad inicial.

EJEMPLO IV

Se prepararon gránulos detergentes secados por aspersion teniendo la composición siguiente:

<u>Componentes</u>	<u>Partes en peso</u>
Sulfonato de alquil benceno sódico derivado de tetrapropileno	24.0
Tripolifosfato de sodio	18.6
Silicato de sodio ($\text{SiO}_2:\text{Na}_2\text{O}$ relación de 2:1)	5.4
Sulfato de sodio	34.3
Sulfonato de tolueno sódico	2.5
Agua	6.2
Miscelánea (perfume, abrillantadores carboximetilcelulosa sódica)	2.0
<u>Total</u>	<u>93.0</u>



Una suspensión conteniendo 1.02 partes de agua,
0.53 partes de polvo de alcalasa (enzima proteolítica)
y 0.35 partes de Swift Technical Protein Colloid I-V
(una proteína derivada de colágeno que no tiene propiedades
5 gelatinizantes y que tiene un peso molecular promedio de
aproximadamente 10,000) fue preparada. Esta suspensión
fue rociada sobre 5.10 partes de tripolifosfato de sodio
anhidro granular y mezclada homogéneamente con la composi-
ción detergente descrita arriba.

10 Se preparó un producto de control teniendo la mis-
ma composición de la composición descrita arriba excepto
que la Swift Technical Protein no fue incluida en la for-
mulación.

La composición detergente fue empaquetada en
15 paquetes de cartón sin protección adicional contra la húme-
dad y almacenada durante 30 días bajo condiciones constan-
tes de 32.22°C. y 80% de humedad relativa con los resulta-
dos siguientes: el producto del Ejemplo III retuvo 58% de
su actividad de enzima proteolítica inicial mientras que
20 el control (sin proteína derivada de colágeno) retuvo sola-
mente 43% de su actividad enzimática proteolítica inicial.
Los efectos de estabilización de la proteína derivada de
colágeno sobre las composiciones detergentes granulares
conteniendo enzima proteolítica son evidentes.

25 Resultados substancialmente similares a los que
se han obtenido en los Ejemplos anteriores se obtienen cuan-
do las siguientes proteasas o composiciones comerciales de
proteasa son substituídas por alcalasa en igual peso en



base de proteasa: pepsina, tripsina, quimotripsina, colagenasa, queratinasa, elastasa, subtilisina, Carlsberg subtilisina BPN', papaina, fisina, bromelina, carboxipeptidasa, aminopeptidasa, aspergillopeptidasa A, aspergillopeptidasa B, enzimas proteolíticas derivadas de Streptomyces Griseus, Maxatasa, Proteasa B-4000, Sandoz AP 2100, CRD-Proteasa, Pronasa-E, Pronasa-P, Pronasa-AF, Bioprasa, Rapidasa-400, Rhozima PF, enzima proteolítica 7XB y Wallerstein 627-P.

10 Resultados substancialmente similares a los que se han obtenido en los Ejemplos anteriores se obtienen en cuanto a que las proteasas son estabilizadas cuando los siguientes colágenos parcialmente hidrolizados y parcialmente solubilizados se utilizan en la presente, WSP-X-1000, 15 Knox Gelatin, Swift Technical Protein, y proteínas derivadas de colágeno teniendo pesos moleculares promedios de 180,000, 150,000, 120,000, 80,000, 40,000, 25,000, 10,000, y 5,000.

20 Resultados substancialmente similares a los obtenidos en el Ejemplo II se obtienen cuando el bisulfato de sodio, el bicarbonato de sodio y mezclas de los mismos son usados en lugar de pirofosfato disódico diácido, a base de igual peso, en cuanto a que la estabilización de la proteasa es también mejorada. Resultados substancialmente 25 similares son también obtenidos cuando el componente reforzador, es decir el-tripolifosfato de sodio, y el componente ácido, es decir pirofosfato diácido disódico, son combinados en la forma de gránulos secados por aspersión.



Resultados substancialmente similares a los obtenidos en los Ejemplos anteriores se obtienen cuando las siguientes sales reforzadoras son substituídas en todo ó en parte por tripolifosfato de sodio en cuanto a que las enzimas son estabilizadas: sales de sodio, potasio, amonio, monoetanolamonio, dietanolamonio, y trietanolamonio, de los siguientes ácidos: ácido etilendiamintetraacético; ácido N-(2-hidroxietyl)-etilendiamin tetraacético, ácido N-(2-hidroxietyl)-nitrilodiacético, ácido dietilentriaminpentaacético, ácido nitrilo triacético, ácido etilendifosfónico, ácido etan-1-hidroxi-1,1-difosfónico, ácido etan-1,1,2-trifosfónico, ácido etan-2-carboxi-1,1-difosfónico, ácido hidroximetan-difosfónico, ácido carbonildifosfónico, ácido etan-1-hidroxi-1,1,2-trifosfónico, ácido etan-2-hidroxi-1,1,2-trifosfónico, ácido propan-1,1,3,3-tetrafosfónico, ácido propan-1,1,2,3-tetrafosfónico, y ácido propan-1,2,2,3-tetrafosfónico y tripolifosfonato de potasio, y sales de polimeros del ácido itacónico, ácido acotínico, ácido maleico, ácido mesacónico, ácido fumárico, ácido metilenmalónico y ácido citracónico y copolimeros de los mismos y/ó etileno y/ó ácido acrílico, en por ejemplo relaciones moleculares 1:1, y teniendo pesos moleculares de 75,000, 100,000, y 125,000 (los copolimeros con etileno y/ó ácido acrílico teniendo pesos equivalentes, basados en la forma ácida de 65, 70 y 75).

Resultados substancialmente similares a los que se han obtenido en los Ejemplos anteriores se obtienen cuando los siguientes detergentes orgánicos son substituídos, en



- todo ó en parte por sulfonato de alquilbencéno sódico derivado de tetrapropileno y sulfato de alquilo sódico de sebo en cuanto a que las enzimas son estabilizadas: sulfonato de dodecilbencéno linear sódico, el producto de condensación de un mol de dodecilfenol con 15 mols de óxido de etileno, óxido de dimetildodecilamina, óxido de dimetildodecilfosfina, 3-(N,N-dimetil-N-hexadecilamonio)-2-hidroxiopropan-1-sulfonato y 3-dodecilaminopropan sulfonato sódico.

N O T A

10. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar
15. que el invento corresponde a unas solicitudes de patente presentas en Norteamérica con los números Ser. No. 686.403 de 29 de Noviembre de 1967 y 755.710 de 27 de Agosto de 1968, acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita
20. ler. Certificado de Adición en España sobre: "Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 339.730, concedida el 15 de Enero de 1968, por: "PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UNA COMPOSICION DETERGENTE GRANULAR", caracterizándose
25. por lo siguiente:
- 1.- Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 339.730, concedida el 15 de Enero de 1968, por: "PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UNA COMPOSICION DETERGENTE GRANULAR", caracterizadas porque un vehículo granular, que com-
30. una sal hidratable, anhidra o parcialmente hidratada, la cual



tiene un pH en solución acuosa en la escala de 4 a 12 y una tensión de vapor no mayor de 13,15 mm. de mercurio cuando se mide a presión atmosférica a 20^oC, se pone en contacto con una composición de enzima pulverizada y con un colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado teniendo un peso molecular promedio de por lo menos 5,000, mientras dicho vehículo es agitado y sometido simultáneamente a un rociado fino de agua, siendo insuficiente la cantidad de agua añadida para hidratar dicha sal hidratable por encima del 90% de su capacidad de hidratación.

2.- Mejoras según la reivindicación 1, caracterizadas porque dicha composición de enzima pulverizada y dicho colágeno se agitan en un estado inicialmente seco con dicho vehículo.

3.- Mejoras según la reivindicación 1, caracterizadas porque la composición de enzima pulverizada ó el colágeno, o ambos, se incluyen en el rociado fino de agua.

4.- Mejoras según la reivindicación 1, caracterizadas porque el vehículo tiene un tamaño de partícula en la escala de 0,075 mm. hasta 3,33 mm y la sal hidratable es una sal reforzadora hidratable la cual tiene un pH en solución acuosa en la escala de 8 a 11.

5.- Mejoras según la reivindicación 1, caracterizadas porque la enzima es una hidrolasa y la sal hidratable está hidratada no más de aproximadamente 50%, en base de su capacidad total de hidratación, y la sal es seleccionada del grupo consistente de tripolifosfato de sodio, pirofosfato diácido disódico y tetraborato de sodio.

6.- Mejoras según la reivindicación 1, caracteri-



zadas porque la enzima es una serino proteasa y está presente en una cantidad en la escala desde 0,001% hasta 20% del peso total de polvo de enzima y vehículo granular y la relación de colágeno parcialmente hidrolizado y parcialmente solubilizado a polvo de enzima es desde 80:1 hasta 1:20.

7.- Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 339.730, concedida el 15 de enero de 1968, por: "PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UNA COMPOSICION DETERGENTE GRANULAR", tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de veinticinco hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY.

J. GÓMEZ ACEBO Y MODEX
c. Firmado: F. Hernández Rula