

IN.-



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

ES	11 21	NUMERO 463.754	10	A 1
	22	FECHA DE PRESENTACION 31-10-1.977		

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
45.345/76	1-11-1.976	Gran Bretaña
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C11D	52 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
24 TITULO DE LA INVENCION UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA COMPOSICION ACUOSA DETERGENTE LIQUIDA ENZIMATICA.		
71 SOLICITANTE (S) UNILEVER N.V.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE Burg. s'Jacobplein 1 - Rotterdam - Holanda		
72 INVENTOR (ES) Jiri Hora, de nacionalidad checoslovaca y Gerardus Adrianus Antonius Kivits, de nacionalidad holandesa, los cuales han cedido sus derechos a la entidad solicitante.		
73 TITULAR (ES) El mismo solicitante		
74 REPRESENTANTE DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU		

1 Esta invención se refiere a una composición líquida
enzimática y más especialmente a una composición detergente
líquida enzimática con mayor estabilidad en almacenamiento.

5 Las composiciones detergentes líquidas son muy conoci-
das y, después del interés renovado por la inclusión de en-
zimas en las composiciones detergentes, se han presentado va-
rias propuestas de composiciones detergentes líquidas enzi-
máticas.

10 A pesar de estas propuestas, no se han introducido en
el mercado en grado significativo dichas composiciones deter-
gentes líquidas enzimáticas, fundamentalmente debido a los
graves problemas de inestabilidad causados por la incorpora-
ción de enzimas a las composiciones detergentes líquidas. Es-
15 te problema es muy conocido y, por ejemplo, se ha propuesto
reducir la inestabilidad de las enzimas en las composiciones
detergentes líquidas por incorporación de sistemas estabili-
zantes a dichas composiciones. Estas propuestas incluyen el
uso de polioles como glicerol y sorbitol; sales cálcicas,
20 alcohalcoholes, dialquilglicol-éteres y mezclas de alcoholes
polivalentes con amins alifáticas polifuncionales. Sin embar-
go, estos sistemas se destinan fundamentalmente a las compo-
siciones líquidas enzimáticas con un pH comprendido entre
valores relativamente ácidos y ligeramente alcalinos.

25 Ahora se ha encontrado que la estabilidad en almacena-
miento de las composiciones líquidas enzimáticas acuosas pue-
de ser mejorada significativamente por la inclusión en las
mismas de una cantidad efectiva de un sistema estabilizante
que comprende un compuesto amínico polifuncional y ácido bó-
rico o un equivalente bórico del mismo, definido más especí-
30 ficamente en lo que sigue.

1 Los compuestos amínicos polifuncionales de esta inven-
ción son compuestos orgánicos alifáticos que contienen por
lo menos un grupo amino y por lo menos dos grupos hidroxilo.
Se sobreentiende que los compuestos de amonio cuaternario
5 no están incluidos en el término "compuestos amínicos poli-
funcionales".

 Son ejemplos típicos de los compuestos amínicos poli-
funcionales de la invención las polialcanolaminas como dieta-
nolamina, trietanolamina, di-isopropanolamina, tri-isopropa-
10 nolamina y tri(hidroximetil)aminometano.

 La cantidad de compuesto amínico polifuncional utili-
zada oscila generalmente entre 2 y 25 % del peso de la com-
posición y preferiblemente entre 4 y 15 %. El compuesto amí-
nico polifuncional preferido es la trietanolamina en los lí-
15 quidos que contienen proteasa.

 El ácido bórico o su equivalente borado (un compuesto
de boro capaz de reaccionar con el compuesto amínico poli-
funcional, como óxido bórico, bórax y otros boratos de meta-
les alcalinos como orto-, meta- y piro-borato sódico) se
20 utilizan en una proporción de 0,25 a 15 % del peso de la
composición en general y preferiblemente de 0,5 a 10 %, cal-
culándose el equivalente de boro sobre la base del ácido bó-
rico. Preferiblemente, la cantidad utilizada es tal que la
relación ponderal del compuesto amínico polifuncional al
25 ácido bórico o a su equivalente (calculado sobre el ácido
bórico) varía entre 10:1 y 1:2 y preferiblemente entre 7:1
y 2:1.

 El sistema estabilizante, que comprende el compuesto
amínico polifuncional y el ácido bórico o su equivalente en
30 boro, puede ser incorporado al sistema enzimático líquido

1 por adición de los constituyentes tal como están al líquido
o por adición del sistema estabilizante independientemente
preparado, por ejemplo como producto de reacción del compues-
to amínico polifuncional con el ácido bórico o su equivalente.
5 También pueden utilizarse mezclas de varios compuestos amni-
cos polifuncionales así como mezclas de un compuesto amni-
co polifuncional con un compuesto polihidroxilado que no con-
tenga un grupo amino, v.g. eritritano. Además, se ha encon-
trado que la inclusión de hasta un 10 % en peso de sacarosa
10 aumenta todavía más la estabilidad en almacenamiento.

Las enzimas a incorporar pueden ser enzimas proteolíti-
cas, amilolíticas y celulolíticas así como sus mezclas. Pue-
den ser de cualquier origen adecuado, como origen vegetal,
animal, bacteriano, fúngico y de levaduras. Sin embargo, su
15 elección está gobernada por varios factores tales como ópti-
mos de pH-actividad y/o estabilidad, termoestabilidad, esta-
bilidad frente a los detergentes activos, reforzantes, etc.
En este aspecto, se prefieren las enzimas bacterianas o fún-
gicas tales como las amilasas y proteasas bacterianas y las
20 celulasas fúngicas. Esta invención es especialmente intere-
sante para los detergentes líquidos enzimáticos con un pH su-
perior a 7,5, especialmente los que incorporan proteasas bac-
terianas cuyo pH óptimo está comprendido entre 8,5 y 10,5 pe-
ro se sobreentiende que también pueden utilizarse enzimas con
25 un pH óptimo algo más bajo o más alto en las composiciones de
esta invención, beneficiándose de ellas.

Son ejemplos adecuados de estas proteasas las subtili-
sinas que se obtienen de cepas particulares de B. subtilis y
30 B. licheniformis, tales como las subtilisinas comerciales
Maxatase [®] (de Gist-Brocades N.V., Delft, Holanda) y Alcalase [®]

1 (de Novo Industri A/S, Copenhague, Dinamarca).

5 Como ya se ha dicho, esta invención es especialmente interesante en el caso de los detergentes líquidos enzimáticos que incorporan enzimas con un óptimo de pH-actividad y/o estabilidad superior a 8,5, siendo denominadas comúnmente estas enzimas enzimas altamente alcalinas.

10 Es especialmente adecuada una proteasa obtenida de una cepa de Bacillus, con una actividad máxima en el intervalo de pH de 8 a 12, puesta a punto y vendida por Novo Industri A/S bajo la marca registrada de Esperase [®]. La preparación de esta enzima y de enzimas análogas está descrita en la memoria de la patente británica 1.243.784 de Novo.

15 También pueden utilizarse amilasas y celulasas altamente alcalinas, v.g. α -amilasas obtenidas de una cepa especial de B. licheniformis, descrita con más detalle en la memoria de la patente británica 1.296.839 (Novo).

20 La cantidad de enzimas presente en la composición líquida puede variar entre 0,001 y 10 % en peso y preferiblemente entre 0,01 y 5 % en peso. Naturalmente, esta cantidad depende mucho de la actividad de la enzima utilizada.

25 Cuando las composiciones líquidas de la invención son composiciones detergentes, estas composiciones detergentes líquidas contienen como otro ingrediente esencial un material detergente activo que puede ser aniónico, no iónico, catiónico, zwitteriónico o anfótero.

30 Son ejemplos de detergentes sintéticos aniónicos las sales (incluidas las sales de sodio, potasio, amonio y amonio sustituido como las sales de mono-, di- y tri-etanolamina) de alquil(C₉-C₂₀)bencenosulfonatos, alcano(C₈-C₂₂)sulfonatos primarios o secundarios, olefin(C₈-C₂₄)sulfonatos, ácidos po-

1 licarboxílicos sulfonados, preparados por sulfonación del
producto pirolizado de citratos de metales alcalino-térreos,
por ejemplo como los descritos en la memoria de la patente
5 británica 1.082.179, alquil(C₈-C₂₂)sulfatos, alquil(C₈-C₂₄)-
poliglicoletersulfatos (conteniendo hasta 10 moles de óxido
de etileno); otros ejemplos se encuentran en la obra "Surfa-
ce Active Agents and Detergents" (vol. I y II, por Schwartz,
Perry y Berch).

10 Son ejemplos de detergentes sintéticos no iónicos los
productos de condensación de óxido de etileno, óxido de pro-
pileno y/u óxido de butileno con alquifenoles C₈-C₁₈, alco-
holes alifáticos C₈-C₁₈ primarios o secundarios, amidas de
ácidos grasos C₈-C₁₈; otros ejemplos de agentes no iónicos
15 son los óxidos de aminas terciarias con una cadena alquífica
C₈-C₁₈ y dos cadenas alquílicas C₁₋₃. En la obra citada tam-
bién se describen otros ejemplos de agentes no iónicos.

El número medio de moles de óxido de etileno y/o de
óxido de propileno presente en los agentes no iónicos ante-
20 riores oscila entre 1 y 30; también pueden utilizarse mezclas
de diversos agentes no iónicos, incluídas las mezclas de no
iónicos con un grado inferior y superior de alcoxilación.

Son ejemplos de detergentes catiónicos los compuestos
de amonio cuaternario tales como los halogenuros de alquildi-
metilamonio pero estos compuestos catiónicos son menos prefe-
25 ridos en las composiciones detergentes enzimáticas.

Son ejemplos de detergentes anfóteros o zwitteriónicos
los N-alquilaminoácidos, las sulfobetainas, los productos de
condensación de ácidos grasos con hidrolizados proteicos, pe-
30 ro debido a su precio de coste relativamente alto, habitual-
mente se emplean en combinación con un detergente aniónico o

1 no iónico. También pueden utilizarse mezclas de los diversos
tipos de detergentes activos y se prefieren las mezclas de
un detergente activo aniónico y un detergente activo no ió-
nico. También pueden emplearse jabones (en forma de sales de
5 sodio, potasio y amonio sustituido, tal como sales de trieta-
nolamina) de ácidos grasos C_8-C_{22} así como de ácidos grasos
polimerizados, que pueden ejercer una influencia beneficio-
sa sobre la formación de espuma de la composición final.

10 La cantidad del material detergente activo varía entre
10 y 60 %; cuando se emplean mezclas por ejemplo de agentes
aniónicos y no iónicos, las relaciones ponderales relativas
oscilan entre 1:1 y 1:10. Cuando también se incorpora un ja-
bón, su proporción es de 1 a 40 % en peso.

15 Aunque los líquidos pueden contener hasta 40 % de un
reforzante adecuado, como piro- y tri-polifosfatos, nitrilo-
triacetatos, éter policarboxilatos, citratos, carbonatos y
ortofosfatos de sodio, potasio y amonio o amonio sustituido,
polielectrolitos como copolímeros de polivinilmetiléter/anhí-
drido maleico, etc, esta invención es especialmente beneficio-
20 sa para uso en los detergentes líquidos sin reforzantes.

La cantidad de agua presente en las composiciones de la
invención varía entre 5 y 70 % en peso.

25 También puede haber presentes otros materiales convencio-
nales en las composiciones detergentes líquidas de esta inven-
ción, por ejemplo agentes suspensores de la suciedad, hidro-
tropos, inhibidores de la corrosión, colorantes, perfumes, si-
licatos, abrillantadores ópticos, reforzadores de la espuma,
depresores de la espuma, germicidas, agentes anti-orín, opa-
30 cificadores, agentes suavizantes de los tejidos, blanqueado-
res que desprenden oxígeno como perborato o percarbonato sódico.

1 co con o sin precursores del blanqueador, tampones y similares.

El pH de la composición final está comprendido preferiblemente entre 7,5 y 11,0 y, si es necesario, se ajusta a un
5 valor comprendido dentro de estos límites por adición de un material ácido o alcalino adecuado.

La invención será ilustrada ahora mediante ejemplos. En los ejemplos, los porcentajes se dan en peso. El factor de extensión del periodo de semidescomposición de la enzima fué
10 determinado de la siguiente forma:

Una muestra continuamente retirada de la solución a ensayar fué continuamente diluída (1:200) y continuamente analizada para determinar su actividad enzimática (para la actividad proteolítica se utilizó caseína como substrato).
15 Los logaritmos de la actividad residual se representaron en función del tiempo y se calculó la constante de velocidad K_1 de primer orden.

El factor de extensión del periodo de semidescomposición de la enzima (F_t) se define así:

$$20 \quad F_t = \frac{K_1 \text{ (sin sistema estabilizante)}}{K_1 \text{ (con sistema estabilizante)}} = \frac{t_{y/2} \text{ (con sistema estabilizante)}}{t_{y/2} \text{ (sin sistema estabilizante)}}$$

25 $t_{y/2}$ = tiempo al cual la actividad enzimática (y) es la mitad de la actividad enzimática inicial.

EJEMPLO 1

Se utilizaron ensayos con una proteasa del tipo de subtilisina bacteriana, Alcalase [®] de Novo (actividad 10,6
30 UA/g) en el siguiente sistema acuoso que contiene:

0,2 M de tripolifosfato pentasódico

1 0,12 M de dimetilglicina
 1,7 g de Alcalase [®].

5 El pH de este sistema es 10,0 y la temperatura 57°C.
Se midió la velocidad de la pérdida de actividad enzimática
de este sistema con y sin el sistema estabilizante y se de-
terminó el factor de extensión de la semidescomposición de la enzima
(F_t). Se obtuvieron los siguientes resultados:

N°	<u>Aditivo (% en peso)</u>	<u>F_t</u>
10	1: 6 % de tri(hidroximetil)aminometano + 6,2 % bórax	7,5
	2 6 % tri(hidroximetil)aminometano + 9,4 % bórax	13,7
	3 10 % tri(hidroximetil)aminometano + 15,7 % bórax	23,5
	4 5 % tri(hidroximetil)aminometano + 5 % eritritano + 12,4 % bórax	18,6
15	5. 10 % tri-isopropanolamina + 8,4 % borax	12,7
	6 ortoborato de trietanolamina (prepara- do a partir de 10 % de trietanolamina y 12,8 % de bórax)	5,2
	7 6 % dietanolamina + 5,4 % bórax	2,5

20 EJEMPLO 2

De forma similar a la descrita en el Ejemplo 1, se rea-
lizaron ensayos con una proteasa bacteriana, Esperase [®]
(actividad 41,5 KNP/g) en el mismo sistema pero a 60°C.

25 Una composición de control conteniendo solamente 8,8 %
de bórax dió un valor de F_t de 0,7; con 2,5, 7,5 o 12,5 de
trietanolamina sola, se obtuvieron unos valores de F_t de
1,0, 1,1 y 1,0.

Con sistemas de acuerdo con esta invención se obtuvie-
ron los siguientes resultados:

30

	N°	Aditivo (% en peso)	F _t
1	8	12 % ortoborato de trietanolamina	5,9
	9	12 % de ortoborato de trietanolamina (preparado <u>in situ</u> con H ₃ BO ₃)	4,8
5	10	10 % de ortoborato de trietanolamina	4,3
	11	8 % de ortoborato de trietanolamina	3,0
	12	6 % de ortoborato de trietanolamina	2,1
	13	4 % de ortoborato de trietanolamina	2,0
	14	2 % de ortoborato de trietanolamina	1,6
10	15	8 % trietanolamina + 5,6 % bórax	2,6
	16	8 % de trietanolamina + 6,8 % bórax	3,4
	17	8 % trietanolamina + 8,6 % bórax	3,4
	18	8 % trietanolamina + 10,2 % bórax	3,2
	19	6 % dietanolamina + 5,4 % bórax	3,2
15	20	8 % tri(hidroximetil)aminometano + 7,7 % bórax	1,7

EJEMPLO 3

Se realizaron ensayos de forma similar a la del Ejemplo 1 con una amilasa bacteriana (Thermamyl[®] de Novo) en un sistema acuoso que contiene:

20

0,12 M de tripolifosfato pentasódico

0,1 M de glicina

0,5 g de Thermamyl (actividad 450 KNU/g).

El pH era 9,95 y la temperatura 59,3°C. Se obtuvieron

25

los siguientes resultados:

	N°	Aditivo (% en peso)	F _t
	21	2 % tri(hidroximetilamino)metano + 3,15 % bórax	1,4
	22	6 % tri(hidroximetilamino)metano + 9,45 % bórax	2,4
30	23	10 % tri(hidroximetilamino)metano + 15,75 % bórax	4,6
	24	6,28 % de ortoborato de trietanolamina	1,4

EJEMPLO 4

Se prepararon las siguientes composiciones detergentes líquidas enzimáticas acuosas por adición de 0,5 % de una suspensión de enzima (Maxatase[®] 500.000, una proteasa del tipo de subtilisina bacteriana de Gist-Brocades, Delft, Holanda, con una actividad de 500.000 unidades Delft/g) a las formulaciones tabuladas y se determinó su estabilidad en almacenamiento a 37°C.

	% en peso			
	A	B	C	D
alcohol C ₁₆ -C ₁₈ lineal condensado con 18 moles de óxido de etileno	21	21	21	21
alcohol C ₉ -C ₁₁ lineal condensado con 8 moles de óxido de etileno	7	7	7	7
xilensulfonato sódico	3	3	3	3
ácido oleico dimerizado	6,5	6,5	6,5	6,5
trietanolamina	10	10	10	10
alcohol laurílico condensado con 2 moles de óxido de etileno	7	7	7	7
éter monoetílico de dietilenglicol	10	10	10	10
agua	30,5	25,5	20,5	15,5
sistema estabilizante que comprende ácido bórico y trietanolamina en una relación ponderal de 2:3, preparado independientemente	5	10	15	20
pH	9	9	9	9
El periodo de semidescomposición de la actividad enzimática fué obtenido al cabo de:	6,5 se manas	8,5 se manas	al cabo de 11 se manas	al cabo de 11 semanas todavía más del 50 % de actividad residual

1

% en peso			
A	B	C	D
32 %	35 %	60 %	70 %

La actividad enzimática residual al cabo de 11 semanas de almacenamiento fué:

5 EJEMPLO 5

5 Repitiendo el Ejemplo 4 pero empleando 0,5 % de una proteasa bacteriana, Esperase[®] de Novo (actividad 9 KNPU) en lugar de Alcalase, los líquidos con un pH de 9,0 dieron los siguientes resultados: al cabo de 9 semanas de almacenamiento los productos A-D todavía conservaban una actividad proteolítica residual muy superior al 50 % de la actividad inicial. Estas actividades residuales eran del 60 %, 60 % y 85 % respectivamente.

10

15 EJEMPLO 6

15 Se repitió el Ejemplo 5 pero el ensayo de almacenamiento se realizó ahora a 50°C. Los productos A, B y C alcanzaron el nivel de actividad enzimática de la semidescomposición a las 3,5, 4 y 10 semanas de almacenamiento respectivamente. El producto D presentaba una actividad enzimática residual del 88 % al cabo de 7 semanas.

20

25 EJEMPLO 7

25 Unos sistemas acuosos conteniendo Esperase[®] (20.000 U.G./ml) se mantuvieron en almacenamiento a 37°C. Se determinó en días el periodo de semidescomposición usando sistemas con los aditivos dados a continuación. Los resultados se encuentran en la siguiente tabla.

30

	pH*	Periodo de semidescomposición, días
+ 24,8 g/l de ácido bórico	10,5	6
+ 24,8 g/l ácido bórico + 10 % sacarosa	10,5	8
+ 24,8 g/l ácido bórico + 5 % trietanolamina	10,5	9

1 (f) de 5 a 70 % en peso de agua,

iii) ajustar el valor del pH entre 7,5 y 11,0 por adición de un material ácido o alcalino adecuado.

5 2.- Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde se hace reaccionar de 4 a 15 % en peso de a) con de 0,5 a 10 % en peso de b).

3.- Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde el compuesto amínico polifuncional es una polialcanolamina.

10 4.- Un procedimiento según la Reivindicación 3, donde la polialcanolamina es dietanolamina, trietanolamina, di-isopropanolamina, tri-isopropanolamina o tri(hidroximetil)aminometano.

15 5.- Un procedimiento según la reivindicación 1, donde el equivalente en boro del ácido bórico es óxido bórico, bórax u orto-, meta- o piro-borato sódico.

6.- Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde la composición contiene hasta 10 % de sacarosa.

20 7.- Un procedimiento según la Reivindicación 1, donde la composición contiene de 0,001 a 10 % en peso de proteasas, amilasas o celulasas, de 10 a 60 % en peso de un material detergente activo y de 5 a 70 % en peso de agua.

8.- Un procedimiento según la Reivindicación 7, donde el pH es de 8,5 a 10,5.

25 9.- Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:

" UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA COMPOSICION ACUOSAS DETERGENTE LIQUIDA ENZIMATICA ".

30 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la

1 presente Memoria Descriptiva que consta de quince páginas
mecanografiadas.

Madrid, 31 de Octubre de 1977
BERNARDO UNGRIA
P.P.

5



10

15

20

25



30