



ESPAÑA

(10) ES	(11) NUMERO	(19) A1
(21)	463.755	
(22)	FECHA DE PRESENTACION	
	31-10-77	

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

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES:		
(31) NUMERO	(32) FECHA	(33) PAIS
35,344/76	1-11-76	GRAN BRETAÑA
(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C11D	
(52) TITULO DE LA INVENCION		
MEJORAS EN 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 Gerardus Adrianus Antonius KIVITS		
(73) TITULAR (ES)		
(74) REPRESENTANTE		
D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU		

1 Esta invención se refiere a las mejoras introducidas en una composición líquida enzimática y más especialmente a las mejoras introducidas en el procedimiento de preparación de una composición detergente líquida enzimática con estabilidad en almacenamiento mejorada.

5 Las composiciones detergentes líquidas son muy conocidas y, después del renovado interés por la inclusión de enzimas en las composiciones detergentes, se han presentado varias propuestas en el campo de las composiciones detergentes líquidas enzimáticas.

10 A pesar de estas propuestas, estas composiciones detergentes líquidas enzimáticas no se han introducido en el mercado en grado significativo, fundamentalmente debido a los graves problemas de inestabilidad causados por la incorporación de enzimas a las composiciones detergentes líquidas. Este problema es muy conocido y, por ejemplo, se ha pro-
15 puesto reducir la inestabilidad de las enzimas en las composiciones detergentes líquidas por incorporación de sistemas estabilizantes a dichas composiciones.

20 Así, por ejemplo, en la solicitud de patente japonesa 47/35192, abierta a la inspección pública el 24 de Noviembre de 1972, se proponen preparados enzimáticos líquidos estabilizados, que incluyen composiciones detergentes líquidas enzimáticas, por incorporación a las mismas de una combinación de polialcoholes y bórax. De acuerdo con la memoria de
25 dicha solicitud de patente japonesa, estos polialcoholes, de los que son ejemplos el sorbitol y el glicerol, se utilizan en una proporción del 5 % del peso de la composición final como mínimo, preferiblemente del 10 al 30 % en peso. El bórax se emplea en una proporción del 20 % como mínimo, preferiblemente del 50-100 % en peso, calculada sobre el poli-
30 alcohol. La relación ponderal de polialcohol a bórax en la

1 composición debe ser por lo tanto igual o superiora 1.

Las composiciones de esta propuesta anterior presentan además, como se ha determinado experimentalmente repitiendo el Ejemplo 1, un pH comprendido entre 3,9 y 7,4.

5 Ahora se ha encontrado que la estabilidad en almacenamiento de las composiciones detergentes líquidas enzimáticas con un pH superior a 7,5, preferiblemente entre 8,5 y 11,0 (a 25°C), puede ser mejorada significativamente mediante la inclusión de un sistema estabilizante que comprende uno o
10 más compuestos polihidroxiados, que serán definidos más específicamente en lo que sigue, y ácido bórico o un equivalente en boro del mismo, siendo la relación ponderal de los compuestos polihidroxiados al ácido bórico o a su equivalente inferior a 1 (calculada sobre la base del bórax). En comparación
15 con las combinaciones de acuerdo con la solicitud de patente japonesa antes citada, los sistemas de esta invención presentan un efecto estabilizante de las enzimas considerablemente mejorado:

20 Los compuestos polihidroxiados a utilizar en esta invención contienen solamente átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno. Están exentos de otros átomos sustituyentes (funcionales) como nitrógeno, azufre y similares. Los compuestos polihidroxiados deben contener como mínimo dos grupos hidroxilo y pueden contener incluso hasta seis grupos hidroxilo. Son ejemplos
25 típicos de compuestos polihidroxiados especialmente adecuados para uso en esta invención los dioles como 1,2-propanodiol, etilenglicol, eritritano, polioles como glicerol, sorbitol y manitol.

30 En general, el compuesto polihidroxiado se encuentra en una proporción del 4 % como mínimo del peso de la composi-

1 ción final y hasta del 25 % en peso. Preferiblemente, la
proporción oscila entre 5 y 15 % del peso de la composición
final.

5 El ácido bórico o su equivalente en boro, tal como óxi-
do bórico, bórax y otros boratos de metales alcalinos capa-
ces de reaccionar con un compuesto polihidroxiado, como
orto-, meta- y piro-boratos de sodio, se utiliza en una can-
tidad tal que la relación ponderal del compuesto polihidro-
10 xilado a compuesto de boro es inferior a 1 (calculada sobre
la base de bórax). Esto significa que el compuesto de boro
se utiliza en una proporción superior al 100 % de la canti-
dad del compuesto polihidroxiado. En general, esta cantidad
varía entre más de 100 y 200 % en peso y preferiblemente en-
15 tre más de 100 y 160 % del peso del compuesto polihidroxi-
lado.

La relación ponderal de compuesto polihidroxiado a
ácido bórico o equivalente es inferior a 1, generalmente en-
tre 0,5 e inmediatamente por debajo de 1.

20 Las composiciones líquidas enzimáticas a las que se
incorporan los sistemas estabilizantes de esta invención pue-
den ser sistemas líquidos acuosos, v.g. soluciones sencillas,
pero son preferiblemente composiciones detergentes líquidas
acuosas que contienen como ingredientes esenciales enzimas,
25 detergentes activos y agua, siendo el pH superior a 7,5, pre-
feriblemente entre 8,5 y 11,0 o siendo ajustado a estos valo-
res por los medios adecuados.

30 Las enzimas que han de incorporarse pueden ser enzimas
proteolíticas, amilolíticas y celulólicas así como mezclas
de las mismas. Pueden ser de cualquier origen adecuado, como
vegetal, animal, bacteriano, fúngico y de levadura. Sin embar

1 go, su elección está gobernada por varios factores tales como el óptimo de pH-actividad y/o estabilidad, termoestabilidad, estabilidad frente a los detergentes activos, reforzantes, etc. En este aspecto, se prefieren las enzimas bacterianas o fúngicas como las amilasas y proteasas bacterianas
5 y las celulasas fúngicas. Esta invención es especialmente interesante en el caso de los detergentes líquidos enzimáticos que incorporan proteasas bacterianas cuyo pH óptimo oscila entre 8,0 y 11,0 pero se sobreentiende que pueden utilizarse enzimas con un pH óptimo algo más bajo o más alto en
10 las composiciones de esta invención, que se beneficiar de ellas.

Son ejemplos adecuados de proteasas las subtilisinas que se obtienen de cepas particulares de B. subtilis y B. licheniformis, tales como las subtilisinas comerciales Maxatase[®]
15 (de Gist-Brocades N.V., Delft, Holanda) y Alcalase[®] (de Novo Industria A/S, Copenhague, Dinamarca).

Como ya se ha dicho, esta invención es especialmente interesante en los detergentes líquidos enzimáticos que incorporan enzimas con un óptimo de pH-actividad y/o estabilidad superior a 8,0, como las enzimas también denominadas comúnmente enzimas altamente alcalinas.
20

Es especialmente adecuada una proteasa, obtenida de una cepa de Bacillus, con una actividad máxima dentro del 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.
25

También pueden utilizarse amilasas y celulasas altamente alcalinas, v.g. α -amilasas obtenidas de una cepa especial de
30

1 B. licheniformis, descrita con más detalle en la memoria de la patente británica 1.296.839 (Novo).

5 La cantidad de enzimas presente en la composición líquida puede oscilar entre 0,001 y 10 % en peso y preferiblemente entre 0,01 y 5 % en peso.

10 Las composiciones detergentes líquidas de esta invención contienen además como ingrediente esencial un material detergente activo que puede ser un jabón de un metal alcalino o de una alcanolamina, de un ácido graso $C_{10}-C_{24}$, incluidos los ácidos grasos polimerizados o un material detergente sintético aniónico, no iónico, catiónico, zwitteriónico o anfótero, o mezclas de cualesquiera de ellos.

15 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(C_9-C_{20})bencenosulfonatos, alcanosulfonatos C_8-C_{22} primarios o secundarios, olefin(C_8-C_{24})sulfonatos, ácidos polycarboxílicos sulfonados, preparados por sulfonación del producto pirolizado de citratos de metales alcalino-térreos, 20 v.g. como se describe en la memoria de la patente británica 1.082.179, alquil(C_8-C_{22})sulfatos, alquil(C_8-C_{24})poliglicol-etersulfatos (conteniendo hasta 10 moles de óxidos de etileno); además, se encuentran ejemplos en la obra "Surface Active Agents and Detergents" (vol. I y II) por Schwartz, Perry y Berch. 25

30 Son ejemplos de detergentes sintéticos no iónicos los productos de condensación de óxido de etileno, óxido de propileno y/u óxido de butileno con alquilfenoles C_8-C_{18} , alcoholes alifáticos C_8-C_{18} primarios o secundarios y amidas de ácidos grasos C_8-C_{18} ; otros ejemplos de agentes no iónicos

1 son los óxidos de aminas terciarias con una cadena alquílica C_8-C_{18} y dos cadenas alquílicas C_{1-3} . La referencia antes citada también describe otros ejemplos de agentes no iónicos.

5 El número medio de moles de óxido de etileno y/o dióxido de propileno presente en los agentes no iónicos anteriores varía entre 1 y 30; también pueden utilizarse mezclas de diversos agentes no iónicos, incluidas las mezclas de agentes no iónicos con un grado más bajo y más alto de alcoxilación.

10 Son ejemplos de detergentes catiónicos los compuestos de amonio cuaternario como los halogenuros de alquildimetilamónio pero estos agentes catiónicos son menos preferidos en las composiciones detergentes enzimáticas.

15 Son ejemplos de detergentes anfóteros o zwitteriónicos los N-alquilaminoácidos, las sulfobetainas y los productos de condensación de ácidos grasos con hidrolizados proteicos pero debido a su precio de coste relativamente alto, habitualmente se emplean en combinación con un detergente aniónico o no iónico. También pueden utilizarse mezclas de los diversos tipos de detergentes activos y se prefieren las mezclas
20 de un agente aniónico y un agente activo detergente no iónico. También pueden emplearse jabones (en forma de sus sales de sodio, potasio y amonio sustituido, como sales de trietanolamina) de ácidos grasos $C_{10}-C_{24}$ así como de ácidos grasos polimerizados, preferiblemente en combinación con un detergente sintético aniónico y/o no iónico y pueden ejercer una
25 influencia beneficiosa sobre la formación de espuma de la composición final.

30 La cantidad del material detergente activo oscila entre 10 y 60 %; cuando se utilizan mezclas por ejemplo de agentes aniónicos y no iónicos, la relación ponderal relativa oscila

1 entre 1:1 y 1:10. Cuando también se incorpora un jabón, la cantidad del mismo es de 1 a 40 % en peso.

5 Aunque los líquidos pueden contener hasta 40 % de un reforzante adecuado, como piro- y tripoli-fosfatos, nitrilo-triacetatos, éterpolicarboxilatos, citratos, carbonatos y ortofosfatos de sodio, potasio y amonio o amonio sustituido, polielectrolitos como copolímeros de polivinilmetileter/anhídrido maleico, etc, esta invención es especialmente beneficiosa para uso en los detergentes líquidos no reforzados.

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

15 También puede haber presentes otros materiales convencionales en las composiciones detergentes líquidas de la invención, por ejemplos agentes suspensores de la suciedad, hidrotropos, inhibidores de la corrosión, colorantes, perfumes, silicatos, abrillantadores ópticos, reforzantes de la espuma, depresores de la espuma, germicidas, agentes anti-orín, opacificadores, agentes suavizantes de los tejidos, blanqueantes que desprenden oxígeno como perborato o percarbonato sódico, con o sin precursores del blanqueante, tapones y similares.

20 El pH de la composición final es superior a 7,5 y preferiblemente debe estar comprendido entre 8,5 y 11,0 y, si es necesario, se regula con un tampón a un valor comprendido dentro de esos límites por adición de un sistema de tampón adecuado (v.g. con dimetilglicina).

25 La invención será ilustrada ahora mediante los ejemplos. En estos ejemplos, los porcentajes se dan en peso. En los ejemplos, se determinó la extensión del período de semidescomposición de la enzima de la siguiente forma:

30

1 Una muestra continuamente retirada de la solución a
ensayar se diluyó continuamente (1:200) y se analizó con-
tinuamente para determinar la actividad enzimática (para la
5 actividad proteolítica se empleó caseína como sustrato). Los
logaritmos de la actividad residual se representaron en fun-
ción del tiempo y se calculó la constante de velocidad K_1
de primer orden.

El factor de extensión del período de semidescomposición de la
enzima F_t se define así:

10

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

15 $t_{y/2}$ = período de tiempo al cual la actividad enzimática
(y) es la mitad de la actividad enzimática inicial.

EJEMPLO 1

En este ejemplo se ensayaron sistemas acuosos conteniendo una proteasa bacteriana, Alcalase [®]. Estos sistemas acu-
20 sos contenían por litro:

0,2 M de tripolifosfato pentasódico

0,12 M de dimetilglicina

1,7 g de Alcalase [®] (actividad 10,6 UA/g).

25 El pH de la solución era 10 y la temperatura 57°C. Las
velocidades de pérdida de actividad de la enzima fueron me-
didas en este sistema con y sin los sistemas estabilizantes
indicados a continuación y se determinó el factor de extensión
del período de semidescomposición de la enzima. Se obtuvieron
los siguientes resultados:

30

N°	Sistema estabilizante		Cantidades (% en peso)		Relación P/B	F _t
	Compuesto polihidroxiado (P)	Bórax (B)	P	B		
1	etilenglicol	+	10	15,4	0,649	16,7
2	etilenglicol	+	6	9,2	0,652	8,3
3	etilenglicol	-	10	-	-	1,9
4	glicerol	+	10	10,3	0,970	14,7
5	glicerol	-	10	-	-	1,8
6	1,2-propanodiol	+	6	7,5	0,8	6,7
7	sorbitol	+	10	10,5	0,952	3,9
8	sorbitol	+	10	5,2	1,923	2,6
9	sorbitol	-	10	-	-	1,7
10	manitol	+	10	10,5	0,952	3,2
11	manitol	+	10	5,2	1,923	2,3
12	manitol	-	10	-	-	1,8

1

5

10

15

20

25

30

1	Sistema estabilizante		Cantidades (% en peso)		Rel P/	
	N°	Compuesto polihidroxiado (P)	Bórax (B)	P		B
	1	etilenglicol	+	10	15,4	
	2	etilenglicol	+	6	9,2	
5	3	etilenglicol	-	10	-	
	4	glicerol	+	10	10,3	
	5	glicerol	-	10	-	
	6	1,2-propanodiol	+	6	7,5	
	7	sorbitol	+	10	10,5	
10	8	sorbitol	+	10	5,2	
	9	sorbitol	-	10	-	
	10	maniñol	+	10	10,5	
	11	manitol	+	10	5,2	
	12	manitol	-	10	-	
15						
20						
25						
30						

Cantidades (% en peso)		Relación P/B	F _t
P	B		
10	15,4	0,649	16,7
6	9,2	0,652	8,3
10	-	-	1,9
10	10,3	0,970	14,7
10	-	-	1,8
6	7,5	0,8	6,7
10	10,5	0,952	3,9
10	5,2	1,923	2,6
10	-	-	1,7
10	10,5	0,952	3,2
10	5,2	1,923	2,3
10	-	-	1,8

1 Estos resultados muestran los mayores valores de F_t
obtenidos con los sistemas estabilizantes de la invención.
Los ensayos 8 y 11 no son de acuerdo con la invención, (re-
lación $P/B > 1$) e indican que con estas relaciones, se obtie-
5 nen unos valores de F_t considerablemente menores, en compara-
ción con unas relaciones de $P/B < 1$. Los ensayos números 7-9
y 10-12 muestran que reduciendo la relación P/B se obtienen
mejores valores de F_t , en contraste con la técnica anterior
que prescribe que la relación de P/B ha de ser ≥ 1 . Con 2 %,
10 4 %, 8 % y 9,45 % de bórax solamente (sin adición de compues-
to polihidroxilado), se obtuvieron los siguientes valores
de F_t : 1,0, 1,3, 1,8 y 2,4.

EJEMPLO 2

15 En esta serie de experimentos, se utilizó una proteasa
bacteriana, "Esperase" [®] de Novo (actividad 41,5 KNU/g).
El sistema acuoso era idéntico al del Ejemplo 1 pero la
temperatura era ahora de 60°C. Con 4 % de eritritano y
7,4 % de bórax ($P/B = 0,54$) se obtuvo un valor de F_t de 2,5.

EJEMPLO 3

20 De forma similar a la descrita en el Ejemplo 1, se
ensayaron sistemas con una α -amilasa bacteriana (Thermamyl [®]).
El sistema acuoso contenía por litro:
0,12 M de tripolifosfato pentasódico
0,1 M de glicina
25 0,5 g de Thermamyl [®] (actividad 450 KNU/g).
El pH era de 9,95 y la temperatura 59,3°C. Con un sis-
tema estabilizante conteniendo 6 % de etilenglicol + 9,2 %
de bórax (relación $P/B = 0,65$), se obtuvo un valor de F_t
de 2,2.
30

1

EJEMPLO 4

Se repitió el Ejemplo 1 con un sistema estabilizante
conteniendo 10 % de glicerol y cantidades variables de bórax.
Se obtuvieron los siguientes resultados:

5

<u>Glicerol</u>	<u>Bórax (%)</u>	<u>Relación P/B</u>	<u>F_t</u>
a) 10 % siempre	14	0,71	11,6
b)	12	0,83	12,8
c)	11	0,91	14,1
d)	10,6	0,94	14,2
10 e)	10,35	0,97	14,7
f)	10	1,0	10,0
g)	8	1,25	6,8
h)	6,25	1,6	4,7
i)	5	2	3,4
15 j)	2,5	4	2,3
k)	0	-	1,8

10

15

En resumen, la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

20

REIVINDICACIONES

1. Mejoras en un procedimiento para la preparación
de una composición acuosa detergente líquida enzimática con
un pH de 7,5-11,0, que presenta mayor estabilidad de almace-
namiento, consistente en dispersar de 0,001 al 10% del peso
de la composición final de enzimas proteolíticas, amilolíti-
cas o celulolíticas o mezclas de las mismas y de 10 a 60%
en peso de un material detergente activo en el seno de 5 a
70% en peso de agua; cuya mejora consiste en incorporar en
la fase apropiada del procedimiento de preparación de la com-
posición un sistema estabilizante que comprende:

25

30

a) de 4 a 25% del peso de la composición final de uno o más

1 compuestos polihidroxiados que contienen solamente átomos
de carbono, hidrógeno y oxígeno y de dos o seis grupos hidrox
xi,

5 b) ácido bórico o un equivalente en boro del mismo, capaz de
reaccionar con el compuesto polihidroxiado,
siendo la relación ponderal de a:b inferior a 1, de modo que
el ácido bórico y el compuesto polihidroxiado reaccionen
entre sí in situ para proporcionar el sistema estabilizante
mejorado.

10 2. Mejoras según la Reivindicación 1, donde la rela-
ción ponderal de a:b oscila entre 0,5 e inmediatamente por
debajo de 1.

15 3. Mejoras según las Reivindicaciones 1 ó 2, donde
el compuesto polihidroxiado es 1,2-propanodiol, etilengli-
col, eritritano, glicerol, sorbitol o manitol o una mezcla
de los mismos.

4. Mejoras según las Reivindicaciones 1 ó 2, donde
el equivalente en boro del ácido bórico es óxido bórico,
bórax o un orto-,meta- o piro-borato de un metal alcalino.

20 5. Mejoras según las Reivindicaciones 1 a 4, donde
el compuesto polihidroxiado se encuentra en una proporción
del 5 al 15% del peso de la composición final.

25 6. Mejoras según las Reivindicaciones 1 a 5, con un
pH comprendido entre 8,5 y 11,0.

7. Mejoras según las Reivindicaciones 1 a 7 donde
la composición contiene una enzima proteolitica bacteriana
con un pH óptimo comprendido entre 8 y 12.

1

8. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: MEJORAS EN UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA COMPOSICION ACUOSA DETERGENTE LIQUIDA ENZIMATICA.

5

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de catorce páginas mecanografiadas.

Madrid 31 octubre 1.977

BERNARDO UNGRIA

p.p.

10

15

20

25

30