

(19)



(11)

EP 2 313 482 B2

(12)

NEUE EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT
Nach dem Einspruchsverfahren

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des Hinweises auf die Entscheidung über den Einspruch:
27.07.2022 Patentblatt 2022/30

(51) Internationale Patentklassifikation (IPC):
C11D 3/386 ^(2006.01) **C11D 3/37** ^(2006.01)

(45) Hinweis auf die Patenterteilung:
12.06.2019 Patentblatt 2019/24

(52) Gemeinsame Patentklassifikation (CPC):
C11D 3/3869; C11D 1/32; C11D 3/2003; C11D 3/201; C11D 3/2041; C11D 3/2044; C11D 3/2065; C11D 3/2072; C11D 3/2075; C11D 3/2079; C11D 3/2082; C11D 3/2086; C11D 3/221; C11D 3/222; C11D 3/33; (Forts.)

(21) Anmeldenummer: **09780407.4**

(22) Anmeldetag: **10.07.2009**

(86) Internationale Anmeldenummer:
PCT/EP2009/058789

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:
WO 2010/020475 (25.02.2010 Gazette 2010/08)

(54) **VERFAHREN ZUR VERBESSERUNG DER REINIGUNGSLEISTUNG EINES WASCH- ODER REINIGUNGSMITTELS**

METHOD FOR IMPROVING THE CLEANING ACTION OF A DETERGENT OR CLEANING AGENT
PROCÉDÉ POUR AMÉLIORER LE POUVOIR DE NETTOYAGE D'UN PRODUIT DÉTERGENT OU NETTOYANT

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR

- **MAURER, Karl-Heinz**
40699 Erkrath (DE)
- **BESSLER, Cornelius**
40231 Düsseldorf (DE)

(30) Priorität: **20.08.2008 DE 102008038479**

(56) Entgegenhaltungen:
EP-A- 0 583 534 EP-A- 2 083 067
WO-A-96/22352 WO-A-98/13459
WO-A-98/17770 WO-A1-2009/087526
WO-A1-2009/112992 WO-A1-2009/112993
WO-A1-2009/112994 DE-A1- 1 942 236
DE-A1- 1 964 792 DE-A1- 2 060 485
JP-A- 11 323 392 US-A- 3 707 505
US-A- 6 165 970

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
27.04.2011 Patentblatt 2011/17

(60) Teilanmeldung:
14152968.5 / 2 727 988
14152970.1 / 2 727 989

(73) Patentinhaber: **Henkel AG & Co. KGaA**
40589 Düsseldorf (DE)

- **TRAMPER et al.: "Enzymes as processing aids and final products" In: Straathof A J J, Adlercreutz P.: "APPLIED BIOCATALYSIS", 2005, Harwood Academic Press ISBN: 90-5823-024-4 pages 62, 75-81, * (first page of chapter) and 75 to 81 ***

- (72) Erfinder:
- **O'CONNELL, Timothy**
40545 Düsseldorf (DE)
 - **SIEGERT, Petra**
42781 Haan (DE)
 - **EVERS, Stefan**
40822 Mettmann (DE)
 - **BONGAERTS, Johannes**
41541 Dormagen (DE)
 - **WEBER, Thomas**
40589 Düsseldorf (DE)

EP 2 313 482 B2

(52) Gemeinsame Patentklassifikation (CPC): (Forts.)
C11D 3/3719; C11D 3/3723; C11D 3/3753;
C11D 3/3757; C11D 3/3769; C11D 3/381;
C11D 3/386; C11D 3/38627; C11D 3/38636;
C11D 3/38645

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Anmeldung richtet sich auf Verfahren zur Verbesserung der Reinigungsleistung eines Wasch- oder Reinigungsmittels, das eine Protease enthält.

[0002] Der Einsatz von Enzymen in Wasch- und Reinigungsmitteln ist im Stand der Technik etabliert. Sie dienen dazu, das Leistungsspektrum der betreffenden Mittel entsprechend ihren speziellen Aktivitäten zu erweitern. Hierzu gehören insbesondere hydrolytische Enzyme wie Proteasen, Amylasen, Lipasen und Cellulasen. Die ersten drei genannten hydrolysieren Proteine, Stärke und Fette und tragen somit unmittelbar zur Schmutzentfernung bei. Cellulasen werden insbesondere wegen ihrer Gewebewirkung eingesetzt. Eine weitere Gruppe von Wasch- und Reinigungsmittelenzymen sind oxidative Enzyme, insbesondere Oxidasen, die ggf. im Zusammenspiel mit anderen Komponenten vorzugsweise dazu dienen, Anschmutzungen zu bleichen oder die bleichenden Agentien in situ zu erzeugen. Neben diesen Enzymen, die einer fortwährenden Optimierung unterworfen werden, werden laufend weitere Enzyme für den Einsatz in Wasch- und Reinigungsmitteln bereitgestellt, um insbesondere spezielle Anschmutzungen optimal angehen zu können, wie beispielsweise Pektinasen, β -Glucanasen, Mannanasen oder weitere Hemicellulasen zur Hydrolyse insbesondere spezieller pflanzlicher Polymere.

[0003] Die am längsten etablierten und in praktisch allen modernen, leistungsfähigen Wasch- und Reinigungsmitteln enthaltenen Enzyme sind Proteasen und hierunter insbesondere Serin-Proteasen, zu denen auch die Subtilasen zählen. Sie bewirken den Abbau proteinhaltiger Anschmutzungen auf dem Reinigungsgut. Hierunter sind wiederum Proteasen vom Subtilisin-Typ (Subtilasen, Subtillopeptidasen, EC 3.4.21.62) besonders wichtig, welche aufgrund der katalytisch wirksamen Aminosäuren den Serin-Proteasen zugerechnet werden. Sie wirken als unspezifische Endopeptidasen, das heißt, sie hydrolysieren beliebige Säureamidbindungen, die im Inneren von Peptiden oder Proteinen liegen. Ihr pH-Optimum liegt meist im deutlich alkalischen Bereich. Einen Überblick über diese Familie bietet beispielsweise der Artikel "Subtilases: Subtilisin-like Proteases" von R. Siezen, Seite 75-95 in "Subtilisin enzymes", herausgegeben von R. Bott und C. Betzel, New York, 1996. Subtilasen werden natürlicherweise von Mikroorganismen gebildet; hierunter sind insbesondere die von Bacillus-Spezies gebildeten und sekretierten Subtilisine als bedeutendste Gruppe innerhalb der Subtilasen zu erwähnen.

[0004] Beispiele für die in Wasch- und Reinigungsmitteln bevorzugt eingesetzten Proteasen vom Subtilisin-Typ sind die Subtilisine BPN' und Carlsberg, die Protease PB92, die Subtilisine 147 und 309, die alkalische Protease aus Bacillus lentus, insbesondere aus Bacillus lentus DSM 5483, Subtilisin DY und die den Subtilasen, nicht mehr jedoch den Subtilisinen im engeren Sinne zuzuordnenden Enzyme Thermitase, Proteinase K und die Proteasen TW3 und TW7. Weitere verwendbare Proteasen sind beispielsweise die unter den Handelsnamen Durazym[®], Relase[®], Everlase[®], Nafizym, Natalase[®], Kannase[®] und Ovozyme[®] von der Firma Novozymes, die unter den Handelsnamen, Purafect[®], Purafect[®] OxP, Purafect[®] Prime und Properase[®] von der Firma Genencor, das unter dem Handelsnamen Protosol[®] von der Firma Advanced Biochemicals Ltd., Thane, Indien, das unter dem Handelsnamen Wuxi[®] von der Firma Wuxi Snyder Bioproducts Ltd., China, die unter den Handelsnamen Proleather[®] und Protease P[®] von der Firma Amano Pharmaceuticals Ltd., Nagoya, Japan, und das unter der Bezeichnung Proteinase K-16 von der Firma Kao Corp., Tokyo, Japan, erhältlichen Enzyme.

[0005] Günstigenfalls ergeben sich Synergieeffekte zwischen den Enzymen und den übrigen Bestandteilen der jeweiligen Wasch- oder Reinigungsmittel.

[0006] Ein Nachteil dieser bevorzugt in Wasch- und Reinigungsmitteln eingesetzten Proteasen aus dem Stand der Technik ist, dass sie insbesondere bei niedrigen Temperaturen, beispielsweise zwischen 10°C und 40°C, insbesondere zwischen 10°C und 30°C oder gar zwischen 10°C und 25°C, keine zufrieden stellende proteolytische Aktivität aufweisen und daher insbesondere in Waschmitteln und Geschirrspülmitteln in diesem Temperaturbereich keine optimale Reinigungsleistung zeigen.

[0007] Aus DE 1942236 A1 und DE 1964792 A1 sind Waschmittel mit einer Protease und einer einfachen Aminosäure bekannt, aus DE 2060485 A1 ein Geschirrspülmittel mit Trypsin oder Chymotrypsin und bestimmten Aminosäuren und aus WO 98/17770 A1 ein Waschmittel mit Polymeren und Proteasen. WO 96/22352 A1 beschäftigt sich mit der Verbesserung der Lagerstabilität von Polyaminosäureverbindungen in Waschmitteln, indem die Polyaminosäure und ein Protein (white egg albumin) z.B. in einem Agglomerat o.ä. vorliegt, wobei das Waschmittel auch eine Protease enthalten kann.

[0008] Überraschenderweise wurde festgestellt, dass der Zusatz bestimmter Substanzen die Reinigungsleistung von Wasch- und Reinigungsmitteln, welche Proteasen enthalten, erheblich verbessert, insbesondere bei vergleichsweise niedrigen Temperaturen, insbesondere zwischen 10°C und 50°C, zwischen 10°C und 40°C und bevorzugt zwischen 10°C und 30°C bzw. 10°C und 25°C.

[0009] Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, die Reinigungsleistung (Waschkraft) von Wasch- oder Reinigungsmitteln zu verbessern, insbesondere hinsichtlich Anschmutzungen, die sensitiv sind für den Abbau durch Proteasen. Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, die Reinigungsleistung von Proteasen in Wasch- oder Reinigungsmitteln bzw. der durch die Wasch- bzw. Reinigungsmittel gebildeten Waschflotte zu verbessern, insbesondere

hinsichtlich Anschmutzungen, die sensitiv sind für den Abbau durch Proteasen und insbesondere in einem Temperaturbereich zwischen 10°C und 50°C, zwischen 10°C und 40°C und bevorzugt zwischen 10°C und 30°C bzw. 10°C und 25°C.

5 Geänderte Beschreibung

10 **[0010]** Gegenstand der Erfindung ist somit ein Verfahren zur Verbesserung der Reinigungsleistung eines Wasch- oder Reinigungsmittels, das eine Protease umfasst, dadurch gekennzeichnet, dass dem Wasch- oder Reinigungsmittel eine Komponente zugesetzt wird, die im Zusammenwirken mit der Protease bei Anwendung des Mittels eine synergistische Reinigungsleistung bewirkt und die eine Polyaminosäure ist, wobei die Komponente in dem Mittel vorliegt von 0,018 bis 0,2 Gew.-%, insbesondere von 0,04 bis 0,1 Gew.-% und wobei das Wasch- oder Reinigungsmittel die Protease in einer Menge von 2 mg bis 20 mg, vorzugsweise von 5 mg bis 17,5 mg, besonders bevorzugt von 20 mg bis 15 mg und ganz besonders bevorzugt von 50 mg bis 10 mg pro g des Mittels enthält, wobei die Polyaminosäure aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist.

15 **[0011]** Erfindungsgemäß wurde festgestellt, dass die Reinigungsleistung von Wasch- oder Reinigungsmitteln, insbesondere hinsichtlich ihrer proteolytischen Reinigungsleistung signifikant verbessert wird, wenn in diesen Mitteln mindestens eine Protease (hierin auch bezeichnet als Komponente (a) bzw. hydrolytisches Enzyme (a)) mit einer Polyaminosäure, die aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist (hierin auch bezeichnet als Komponente (b)) kombiniert wird. Unter
20 Reinigungsleistung wird im Rahmen der Erfindung die Aufhellungsleistung an einer oder mehreren Anschmutzungen, insbesondere Wäscheanschmutzungen, verstanden, die sensitiv sind für den Abbau durch Proteasen. Beispiele für solche Anschmutzungen sind Blut-Milch/Tusche auf Baumwolle, Voll-Ei/Pigment auf Baumwolle, Schokolade-Milch/Tusche auf Baumwolle, Erdnuss Öl-Pigment/Tusche auf Polyester/Baumwolle, Gras auf Baumwolle oder Kakao auf Baumwolle, insbesondere derart wie weiter unten angegeben. Im Rahmen der Erfindung weist sowohl das Wasch- oder
25 Reinigungsmittel, welches die Protease umfasst, bzw. die durch dieses Mittel gebildete Wasch- bzw. Reinigungsflotte, als auch die Protease selbst eine jeweilige Reinigungsleistung auf. Die Reinigungsleistung der Protease trägt somit zur Reinigungsleistung des Mittels bzw. der durch das Mittel gebildeten Wasch- bzw. Reinigungsflotte bei.

30 **[0012]** Die Reinigungsleistung von Wasch- und Reinigungsmitteln bezogen auf die eingesetzte proteolytische Aktivität wird durch den Zusatz der Komponente (b) verbessert. Hinsichtlich des Zusammenwirkens von diesen Komponenten (a) und (b) ergibt sich eine synergistische Wirkung, d.h. eine bessere Leistung im Vergleich mit den Einzelleistungen der jeweiligen Komponente in Ein-Komponenten-Systemen (d.h. Wasch- oder Reinigungsmittel, die nur jeweils das proteolytische Enzym bzw. die Komponente (b) enthalten) und auch gegenüber der Summe der Einzelleistungen der Komponenten (a) und (b), d.h. der Summe von zwei Ein-Komponenten-Systemen mit jeweils der Komponente (a) und (b) alleine. Somit stellt die ausgewählte Kombination von (a) Protease mit einer erfindungsgemäßen Komponente (b)
35 eine weitere Möglichkeit dar, um die Leistungsfähigkeit von Wasch- oder Reinigungsmitteln hinsichtlich ihrer Reinigungsleistung, insbesondere hinsichtlich ihrer Reinigungsleistung, die durch eine enthaltene Protease bewirkt wird, zu verbessern.

40 **[0013]** Die Vorteilhaftigkeit der Kombination der Komponenten (a) und (b) liegt bei Anwendung des Mittels vor, d.h. in der Wasch- bzw. Reinigungsflotte. Unter Wasch- bzw. Reinigungsflotte wird diejenige das Wasch- oder Reinigungsmittel enthaltende Gebrauchslösung verstanden, die auf Textilien oder Gewebe (Waschflotte) bzw. harte Oberflächen (Reinigungsflotte) einwirkt und damit mit den auf Textilien bzw. Geweben oder harten Oberflächen vorhandenen Anschmutzungen in Kontakt kommt. Üblicherweise entsteht die Wasch- bzw. Reinigungsflotte, wenn der Wasch- oder
45 Reinigungsvorgang beginnt und das Wasch- oder Reinigungsmittel beispielsweise in einer Waschmaschine oder in einem anderen geeigneten Behältnis in Wasser gelöst bzw. mit Wasser verdünnt wird.

50 **[0014]** Weitere bevorzugte zusätzlich zu Proteasen einsetzbare hydrolytische Enzyme umfassen Amylasen, insbesondere α -Amylasen, Cellulasen, Lipasen, Hemicellulasen, insbesondere Pectinasen, Mannanasen, β -Glucanasen, sowie deren Gemische. Diese Enzyme sind im Prinzip natürlichen Ursprungs; ausgehend von den natürlichen Molekülen stehen für den Einsatz in Wasch- oder Reinigungsmitteln verbesserte Varianten zur Verfügung, die entsprechend bevorzugt eingesetzt werden.

55 **[0015]** Unter den Proteasen sind solche vom Subtilisin-Typ bevorzugt. Beispiele hierfür sind die Subtilisine BPN' und Carlsberg, die Protease PB92, die Subtilisine 147 und 309, die Alkalische Protease aus Bacillus lentus, Subtilisin DY und die den Subtilisinen, nicht mehr jedoch den Subtilisinen im engeren Sinne zuzuordnenden Enzyme Thermitase, Proteinase K und die Proteasen TW3 und TW7. Subtilisin Carlsberg ist in weiterentwickelter Form unter dem Handels-

namen Alcalase® von der Firma Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dänemark, erhältlich. Die Subtilisine 147 und 309 werden unter den Handelsnamen Esperase®, beziehungsweise Savinase® von der Firma Novozymes vertrieben. Von der Protease aus *Bacillus lentus* DSM 5483 leiten sich die unter der Bezeichnung BLAP® geführten Protease-Varianten ab. Weitere brauchbare Proteasen sind beispielsweise die unter den Handelsnamen Durazym®, Relase®, Everlase®, Nafizym®, Natalase®, Kannase® und Ovozyme® von der Firma Novozymes, die unter den Handelsnamen, Purafect®, Purafect® OxP, Purafect® Prime, Excellase® und Properase® von der Firma Genencor, das unter dem Handelsnamen Protosol® von der Firma Advanced Biochemicals Ltd., Thane, Indien, das unter dem Handelsnamen Wuxi® von der Firma Wuxi Snyder Bioproducts Ltd., China, die unter den Handelsnamen Proleather® und Protease P® von der Firma Amano Pharmaceuticals Ltd., Nagoya, Japan, und das unter der Bezeichnung Proteinase K-16 von der Firma Kao Corp., Tokyo, Japan, erhältlichen Enzyme. Besonders bevorzugt eingesetzt werden auch die Proteasen aus *Bacillus gibsonii* und *Bacillus pumilus*, die offenbart sind in den internationalen Patentanmeldungen WO2008/086916 und WO2007/131656.

[0016] Beispiele für verwendbare Amylasen sind die α -Amylasen aus *Bacillus licheniformis*, aus *B. amyloliquefaciens* oder aus *B. stearothermophilus* sowie deren für den Einsatz in Wasch- oder Reinigungsmitteln verbesserte Weiterentwicklungen. Das Enzym aus *B. licheniformis* ist von der Firma Novozymes unter dem Namen Termamyl® und von der Firma Genencor unter dem Namen Purastar® ST erhältlich. Weiterentwicklungsprodukte dieser α -Amylase sind von der Firma Novozymes unter den Handelsnamen Duramyl® und Termamyl® ultra, von der Firma Genencor unter dem Namen Purastar® OxAm und von der Firma Daiwa Seiko Inc., Tokyo, Japan, als Keistase® erhältlich. Die α -Amylase von *B. amyloliquefaciens* wird von der Firma Novozymes unter dem Namen BAN® vertrieben, und abgeleitete Varianten von der α -Amylase aus *B. stearothermophilus* unter den Namen BSG® und Novamyl®, ebenfalls von der Firma Novozymes. Desweiteren sind für diesen Zweck die α -Amylase aus *Bacillus* sp. A 7-7 (DSM 12368) und die Cyclodextrin-Glucanotransferase (CGTase) aus *B. agaradherens* (DSM 9948) hervorzuheben. Ferner sind die amylolytischen Enzyme einsetzbar, die dem Sequenzraum von α -Amylasen angehören, der in der internationalen Patentanmeldung WO 03/002711 A2 definiert wird, und die, die in der Anmeldung WO 03/054177 A2 beschrieben werden. Ebenso sind Fusionsprodukte der genannten Moleküle einsetzbar. Darüber hinaus sind die unter den Handelsnamen Fungamyl® von der Firma Novozymes erhältlichen Weiterentwicklungen der α -Amylase aus *Aspergillus niger* und *A. oryzae* geeignet. Weitere einsetzbare Handelsprodukte sind beispielsweise die Amylase-LT® und Stainzyme® bzw. Stainzyme ultra® oder Stainzyme plus®, letztere ebenfalls von der Firma Novozymes. Auch durch Punktmutationen erhältliche Varianten dieser Enzyme können erfindungsgemäß eingesetzt werden.

[0017] Beispiele für verwendbare Lipasen oder Cutinasen, die insbesondere wegen ihrer Triglyceridspaltenden Aktivitäten enthalten sind, aber auch, um aus geeigneten Vorstufen in situ Persäuren zu erzeugen, sind die ursprünglich aus *Humicola lanuginosa* (*Thermomyces lanuginosus*) erhältlichen, beziehungsweise weiterentwickelten Lipasen, insbesondere solche mit dem Aminosäureaustausch D96L. Sie werden beispielsweise von der Firma Novozymes unter den Handelsnamen Lipolase®, Lipolase® Ultra, LipoPrime®, Lipozyme® und Lipex® vertrieben. Desweiteren sind beispielsweise die Cutinasen einsetzbar, die ursprünglich aus *Fusarium solani* pisi und *Humicola insolens* isoliert worden sind. Ebenso brauchbare Lipasen sind von der Firma Amano unter den Bezeichnungen Lipase CE®, Lipase P®, Lipase B®, beziehungsweise Lipase CES®, Lipase AKG®, *Bacillus* sp. Lipase®, Lipase AP®, Lipase M-AP® und Lipase AML® erhältlich. Von der Firma Genencor sind beispielsweise die Lipasen beziehungsweise Cutinasen einsetzbar, deren Ausgangsenzyme ursprünglich aus *Pseudomonas mendocina* und *Fusarium solanii* isoliert worden sind. Als weitere wichtige Handelsprodukte sind die ursprünglich von der Firma Gist-Brocades vertriebenen Präparationen M1 Lipase® und Lipomax® und die von der Firma Meito Sangyo KK, Japan, unter den Namen Lipase MY-30®, Lipase OF® und Lipase PL® vertriebenen Enzyme zu erwähnen, ferner das Produkt Lumafast® von der Firma Genencor.

[0018] Cellulasen können je nach Zweck als reine Enzyme, als Enzympräparationen oder in Form von Mischungen, in denen sich die einzelnen Komponenten vorteilhafterweise hinsichtlich ihrer verschiedenen Leistungsaspekte ergänzen, vorhanden sein. Zu diesen Leistungsaspekten zählen insbesondere die Beiträge der Cellulase zur Primärwaschleistung des Mittels (Reinigungsleistung), zur Sekundärwaschleistung des Mittels (Antiredepositionswirkung oder Vergrauungsinhibition), zur Avivage (Gewebewirkung) oder zur Ausübung eines "stone washed"-Effekts. Eine brauchbare pilzliche, Endoglucanase-(EG)-reiche Cellulase-Präparation, beziehungsweise deren Weiterentwicklungen wird von der Firma Novozymes unter dem Handelsnamen Celluzyme® angeboten. Die ebenfalls von der Firma Novozymes erhältlichen Produkte Endolase® und Carezyme® basieren auf der 50 kD-EG, beziehungsweise der 43 kD-EG aus *H. insolens* DSM 1800. Weitere einsetzbare Handelsprodukte dieser Firma sind Cellusoft®, Renozyme® und Celluclean®. Weiterhin einsetzbar sind beispielsweise die 20 kD-EG aus *Melanocarpus*, die von der Firma AB Enzymes, Finnland, unter den Handelsnamen Ecostone® und Biotouch® erhältlich sind. Weitere Handelsprodukte der Firma AB Enzymes sind Econase® und Ecopulp®. Weitere geeignete Cellulasen sind aus *Bacillus* sp. CBS 670.93 und CBS 669.93, wobei die aus *Bacillus* sp. CBS 670.93 von der Firma Genencor unter dem Handelsnamen Puradax® erhältlich ist. Weitere Handelsprodukte der Firma Genencor sind "Genencor detergent cellulase L" und IndiAge® Neutra.

[0019] Ferner können insbesondere zur Entfernung bestimmter Problemanschmutzungen weitere Enzyme eingesetzt sein, die unter dem Begriff Hemicellulasen zusammengefasst werden. Hierzu gehören beispielsweise Mannanasen,

Xanthanlyasen, Pektinlyasen (= Pektinasen), Pektinesterasen, Pektatlyasen, Xyloglucanasen (= Xylanasen), Pullulanasen und β -Glucanasen. Diesbezüglich geeignete Enzyme sind beispielsweise unter den Namen Gamanase[®] und Pektinex AR[®] von der Firma Novozymes, unter dem Namen Rohapac[®] B1L von der Firma AB Enzymes und unter dem Namen Pyrolase[®] von der Firma Diversa Corp., San Diego, CA, USA erhältlich. Die aus *Bacillus subtilis* gewonnene β -Glucanase ist unter dem Namen Cereflo[®] von der Firma Novozymes erhältlich. Erfindungsgemäß besonders bevorzugte Hemicellulasen sind Mannanasen, welche beispielsweise unter den Handelsnamen Mannaway(R) von dem Unternehmen Novozymes oder Purabrite[®] von dem Unternehmen Genencor vertrieben werden.

[0020] Ferner können die Enzyme im Rahmen der Erfindung zusammen mit Begleitstoffen, etwa aus der Fermentation oder mit Stabilisatoren, konfektioniert sein.

[0021] Unter all diesen Enzymen sind solche besonders bevorzugt, die an sich gegenüber einer Oxidation vergleichsweise stabil oder beispielsweise über Punktmutagenese stabilisiert worden sind. Hierunter sind insbesondere die bereits erwähnten Handelsprodukte Everlase und Purafect[®] OxP als Beispiele für solche Proteasen und Duramyl als Beispiel für eine solche α -Amylase anzuführen.

[0022] In einem erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzte Mittel enthalten Enzyme vorzugsweise in Gesamtmengen von 1×10^{-8} bis 5 Gewichts-Prozent bezogen auf aktives Protein. Bevorzugt sind die Enzyme von 0,001 bis 5 Gew.-%, weiter bevorzugt von 0,01 bis 5 Gew.-%, noch weiter bevorzugt von 0,05 bis 4 Gew.-% und besonders bevorzugt von 0,075 bis 3,5 Gew.-% in diesen Mitteln enthalten, wobei jedes enthaltene Enzym in den genannten Mengen vorliegen kann.

[0023] Die Proteinkonzentration kann mit Hilfe bekannter Methoden, zum Beispiel dem BCA-Verfahren (Bicinchoninsäure; 2,2'-Bichinoly-4,4'-dicarbonsäure) oder dem Biuret-Verfahren (A. G. Gornall, C. S. Bardawill und M.M. David, J. Biol. Chem., 177 (1948), S. 751-766) bestimmt werden.

[0024] Die als Komponente (a) eingesetzte Protease und das optional mindestens eine weitere hydrolytische Enzym, das in einem Wasch- oder Reinigungsmittel, das in erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt wird, vorhanden ist, unterstützt die Reinigungsleistung des Mittels hinsichtlich bestimmter Anschmutzungen oder Flecken. Besonders bevorzugt enthält ein in einem erfindungsgemäßen Verfahren eingesetztes Mittel mehrere Enzyme, wobei die Enzyme gleichen oder verschiedenen Enzymklassen angehören können. Besonders bevorzugt zeigen die Enzyme synergistische Effekte hinsichtlich ihrer Wirkung gegenüber bestimmter Anschmutzungen oder Flecken, d.h. die in der Mittelzusammensetzung enthaltenen Enzyme unterstützen sich in ihrer Reinigungsleistung gegenseitig.

[0025] Synergistische Effekte können nicht nur zwischen verschiedenen Enzymen vorliegen, sondern treten insbesondere auch zwischen einem oder mehreren Enzymen und weiteren Inhaltsstoffen des Mittels auf, das in erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt wird. Erfindungsgemäß wird hierfür eine Protease (a) kombiniert mit einer Komponente (b), d.h. mindestens einer Substanz, die im Zusammenwirken mit der Protease (a) bei Anwendung des Mittels eine synergistische Reinigungsleistung bewirkt und die ausgewählt ist aus einer (i) Polyaminosäure, wobei die Polyaminosäure aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist.

[0026] Bei den unter (i) angegebenen Substanzen handelt es sich um bestimmte Polyaminosäuren, deren Salze oder deren Derivate, wobei beide Stereoisomere der Aminosäuren eingesetzt werden können, also sowohl D- als auch L-Aminosäuren, auch in Kombination, bzw. entsprechende Polymere oder Derivate. Erfindungsgemäß werden als Polyaminosäuren Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, eingesetzt. Ein Beispiel für eine besonders bevorzugte Polyasparaginsäure ist die unter dem Handelsnamen Baypure DS 100 fest G verfügbare Verbindung (Unternehmen Lanxess).

[0027] Bevorzugt werden geladene Polyaminosäuren eingesetzt und hierunter weiter bevorzugt negativ geladene Polyaminosäuren. Besonders bevorzugt eingesetzt werden Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin. Ein Beispiel für eine besonders bevorzugte Polyasparaginsäure ist die unter dem Handelsnamen Baypure DS 100 fest G verfügbare Verbindung (Unternehmen Lanxess).

[0028] Unter Derivaten werden im Sinne der vorliegenden Anmeldung solche Substanzen verstanden, deren reine Aminosäure oder Aminosäurekette modifiziert worden ist. Solche Derivatisierungen können beispielsweise bereits biologisch im Zusammenhang mit der Biosynthese durch die Wirtszelle erfolgen oder aber auch durch molekularbiologische Methoden erfolgen. Sie können aber auch chemisch durchgeführt werden, etwa durch die chemische Umwandlung einer Seitenkette einer Aminosäure oder durch kovalente Bindung einer anderen Verbindung an die Aminosäure bzw. die Aminosäurekette. Bei solch einer Verbindung kann es sich beispielsweise um niedrigmolekulare Verbindungen wie Lipide oder Mono-, Oligo- oder Polysaccharide oder Amine bzw. Aminverbindungen handeln. Ferner können die Ami-

nosäuren bzw. Aminosäureketten weitere chemische Modifikationen aufweisen, insbesondere können sie glykosyliert, hydrolysiert, oxidiert, N-methyliert, N-formyliert, N-acetyliert sein oder Methyl, Formyl, Ethyl, Acetyl, t-Butyl, Anisyl, Benzyl, Trifluoroacetyl, N-hydroxysuccinimide, t-Butyloxycarbonyl, Benzoyl, 4-Methylbenzyl, Thioanisyl, Thiocresyl, Benzoyloxymethyl, 4-Nitrophenyl, Benzoyloxycarbonyl, 2-Nitrobenzoyl, 2-Nitrophenylsulphenyl, 4-Toluenesulphonyl, Pentafluorophenyl, Diphenylmethyl, 2-Chlorobenzoyloxycarbonyl, 2,4,5-trichlorophenyl, 2-bromobenzoyloxycarbonyl, 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl, Triphenylmethyl, 2,2,5,7,8-pentamethyl-chroman-6-sulphonyl enthalten. Ebenso ist unter Derivatisierung die kovalente oder nichtkovalente Bindung an einen makromolekularen Träger zu verstehen, genauso wie auch ein nichtkovalenter Einschluss in geeignete makromolekulare Käfigstrukturen. Auch Kopplungen mit sonstigen makromolekularen Verbindungen, wie etwa Polyethylenglykol, können vorgenommen sein. Aminosäureketten können weitere chemische Modifikationen aufweisen, wobei die Aminosäuregruppen: -COOH, -OH, =NH, -NH₂-SH bevorzugt folgende Modifikationen tragen: -COOR, -OR, -NHR, -NR², -NHR, -NR, -SR; wobei:

R ist -CH=CH-R², -C≡C-R², -C(R²)=CH₂, -C(R²)=C(R³), -CH=NR², -C(R²)=N-R³, ein 4-7 C-Ring System mit oder ohne Substitution, 4-7 Stickstoffheterozyklus mit oder ohne Substitution, oder eine 2 bis 8 Kohlenstoff Kette mit 1 bis 5 Doppel- oder Dreifachbindungen mit Substitutionen selektiert aus R¹, R² oder R³;

R¹ ist H, -R, -NO₂, -CN, -halo, -N₃, -C₁₋₈ alkyl, -(CH₂)_nCO₂R², -C₂₋₈ alkenyl-CO₂R², -O(CH₂)_nCO₂R², -C(O)NR²R³, -P(O)(OR²)₂, alkyl substituiertes Tetrazol-5-yl, - (CH₂)_nO(CH₂)_n aryl, -NR²R³, -(CH₂)_nOR², -(CH₂)_nSR², -N(R²)C(O)R³, -S(O₂)NR²R³, -N(R²)S(O²)R³, - (CHR²)_nNR²R³, -C(O)R³, (CH₂)_n(R³)C(O)R³, -N(R²)CR²R³ substituiertes oder nicht substituiertes (CH₂)_n cycloalkyl, substituiertes oder nicht substituiertes (CH₂)_n-phenyl, oder -zyklus;

R² ist H, -halo, -alkyl, -haloalkyl, -(CH₂)_n-phenyl, -(CH₂)₁₋₃-biphenyl, -(CH₂)₁₋₄-Ph-N(SO₂-C₁₋₂-alkyl)₂, -CO(CHR¹)_n-OR¹, -(CHR¹)_n-Heterozyklus, -(CHR¹)_n-NH-CO-R¹, -(CHR¹)_n-NH-SO₂R¹, - (CHR¹)_n-Ph-N(SO₂-C₁₋₂-alkyl)₂, -(CHR¹)_n-C(O)(CHR¹)-NHR¹, -(CHR¹)_n-C(S)(CHR¹)-NHR¹, -(CH₂)_nO(CH₂)_nCH₃, -CF₃, -C₂₋₅-acyl, -(CHR¹)_nOH, -(CHR¹)_nCO₂R¹, -(CHR¹)_n-O-alkyl, - (CHR¹)_n-O-(CH₂)_n-O-alkyl, -(CHR¹)_n-S-alkyl, -(CHR¹)_n-S(O)-alkyl, -(CHR¹)_n-S(O₂)-alkyl, -(CHR¹)_n-S(O₂)-NHR³, -(CHR³)_n-N₃, -(CHR³)_nNHR⁴, 2 bis 8 Kohlenstoffatom Alken-Kette mit 1 bis 5 Doppelbindungen, 2 bis 8 Kohlenstoff Alkyne-Kette mit 1 bis 5 Dreifachbindungen, substituiertes oder nicht substituiertes -(CHR³)_n Heterocyclus, oder substituiertes oder nicht substituiertes gesättigtes oder nicht gesättigtes -(CHR³)_n Cycloalkyl;

wobei n größer als 1 ist und R¹ und R³ gleich oder unterschiedlich sein kann;

R³ ist H, -OH, -CN, substituiertes Alkyl, -C₂₋₈ alkenyl, substituiertes oder nicht substituiertes Zyκλοalkyl, -N(R¹)R², oder 5-6 Kohlenstoff gesättigter oder nicht gesättigter Heterozyklus. -NR²R³ kann bestehen aus einem gesättigten oder nicht gesättigten Heterozyklus oder einem Heterobizyklus von 4 to 7 Atomen;

n ist 0-4 ;

R⁴ und R⁵ besteht jeweils aus: H, -(CH₂)_nOH, -C(O)OR⁶, -C(O)SR⁶, -(CH₂)_n C(O)NR⁷R⁸, -O-C(O)-O-R⁷, einer Aminosäure oder einem Peptid;

R⁶ ist H,

R⁷ ist -C(R⁷)(R⁸)-(CH₂)_n-O-C(O)-R⁹, -(CH₂)_n-C(R⁷)(R⁸)-O-C(O)R⁹, -(CH₂)_n-C(R⁷)(R⁸)-O-C(O)-O-R⁹ oder -C(R⁷)(R⁸)-(CH₂)_n-O-C(O)-O-R⁹; und

R⁷, R⁸ und R⁹ bestehen jeweils aus H, Alkyl, substituiertes Alkyl, Aryl, substituiertes Aryl, Alkenyl, substituiertes Alkenyl, Alkynyl, substituiertes Alkynyl, Heterozyklus, substituiertes Heterozyklus, Alkylaryl, substituiertes Alkylaryl, Zyκλοalkyl, substituiertes Zyκλοalkyl, oder CH₂CO₂-Alkyl.

[0029] Bevorzugt wird die Komponente (b) dem Waschmittel- oder Reinigungsmittel als separater Einzelstoff, d.h. nicht als ein Bestandteil eines weiteren Inhaltsstoffes des Wasch- oder Reinigungsmittels, zugefügt. Bevorzugt liegt die Komponente (b) daher frei in dem Wasch- bzw. Reinigungsmittel vor, d.h. sie ist in diesem verteilt und möglichst homogen verteilt. Im Falle von flüssigen oder gelförmigen Wasch- oder Reinigungsmitteln ist die Komponente (b) bevorzugt in diesen gelöst oder dispergiert. Besonders bevorzugt enthält das Wasch- oder Reinigungsmittel die Komponente (b) nicht als Bestandteil der Darreichungsform des hydrolytischen Enzyms (a), insbesondere nicht als Bestandteil eines Enzymgranulates.

[0030] Erfindungsgemäß bevorzugt sind flüssige oder gelförmige, d.h. nicht feste Wasch- oder Reinigungsmittel.

[0031] Eine synergistische Reinigungsleistung der Komponente (b), die im Zusammenwirken mit dem hydrolytischen Enzym (a) bei Anwendung des Mittels eine synergistische Reinigungsleistung bewirkt, wird in einem Waschsysteem bestimmt, das ein Waschmittel in einer Dosierung zwischen 4,5 und 7,0 Gramm pro Liter Waschflotte sowie das hydrolytische Enzym (a) und die Komponente (b) jeweils einzeln oder in Kombination enthält, wobei das Enzym jeweils aktivitätsgleich eingesetzt ist, die Komponente (b) eingesetzt ist in einer Konzentration von 0,00025 bis 0,6 Gew.-%, insbesondere von 0,0003 bis 0,5 Gew.-% (Einsatzkonzentration in der Waschflotte), und die Wascheleistung gegenüber einer oder mehrerer der Anschmutzungen Blut-Milch/Tusche auf Baumwolle, Voll-Ei/Pigment auf Baumwolle, Schokolade-Milch/Tusche auf Baumwolle, Erdnuss Öl-Pigment/Tusche auf Polyester/Baumwolle, Gras auf Baumwolle und

EP 2 313 482 B2

Kakao auf Baumwolle, insbesondere gegenüber einer oder mehrerer der Anschmutzungen

- Blut-Milch/Tusche auf Baumwolle: Produkt Nr. C5 von CFT B.V. Vlaardingen, Holland
- Voll-Ei/Pigment auf Baumwolle: Produkt Nr. 10N erhältlich von der Firma wfk Testgewebe GmbH; Brügggen-Bracht, Deutschland, in kleine Stücke geschnitten
- Schokolade-Milch/Tusche auf Baumwolle: Produkt Nr. C3 von CFT B.V. Vlaardingen, Holland
- Erdnuss Öl-Pigment/Tusche auf Polyester/Baumwolle: Produkt Nr. PC10 von CFT B.V. Vlaardingen, Holland
- Gras auf Baumwolle: Produkt Nr. 164 von erhältlich von der Firma Eidgenössische Material- und Prüfanstalt (EMPA) Testmaterialien AG, St. Gallen, Schweiz
- Kakao auf Baumwolle: Produkt Nr. 112 von erhältlich von der Firma Eidgenössische Material- und Prüfanstalt (EMPA) Testmaterialien AG, St. Gallen, Schweiz,

bestimmt wird durch Messung des Weißheitsgrades der gewaschenen Textilien, der Waschvorgang für mindestens 30 Minuten, optional 60 Minuten, bei einer Temperatur von 40°C erfolgt und das Wasser eine Wasserhärte zwischen 15,5 und 16,5° (deutsche Härte) aufweist.

[0032] Ein bevorzugtes flüssiges Waschmittel für ein solches Waschsysteem ist wie folgt zusammengesetzt (alle Angaben in Gewichts-Prozent): 0,3- 0,5% Xanthan Gum, 0,2-0,4% Anti-Schaummittel, 6-7% Glycerin, 0,3-0,5% Ethanol, 4-7% FAEOS (Fettalkoholethersulfat), 24-28% nichtionische Tenside, 1% Borsäure, 1-2% Natriumcitrat (Dihydrat), 2-4% Soda, 14-16% Kokosnuss-Fettsäuren, 0,5% HEDP (1-Hydroxyethan-(1,1-di-phosphonsäure)), 0-0,4% PVP (Polyvinylpyrrolidon), 0-0,05% optischer Aufheller, 0-0,001% Farbstoff, Rest demineralisiertes Wasser. Bevorzugt beträgt die Dosierung des flüssigen Waschmittels zwischen 4,5 und 5,5 Gramm pro Liter Waschflotte, beispielsweise 4,9 Gramm pro Liter Waschflotte. Bevorzugt wird gewaschen in einem pH-Wertebereich zwischen pH 8 und pH 10,5, bevorzugt zwischen pH 8 und pH 9.

[0033] Ein bevorzugtes pulverförmiges Waschmittel für ein solches Waschsysteem ist wie folgt zusammengesetzt (alle Angaben in Gewichts-Prozent): 10 % lineares Alkylbenzolsulfonat (Natrium-Salz), 1,5 % C12-C18-Fettalkoholsulfat (Natrium-Salz), 2,0 % C12-C18-Fettalkohol mit 7 EO, 20 % Natriumcarbonat, 6,5 % Natriumhydrogencarbonat, 4,0 % amorphes Natriumdisilikat, 17 % Natriumcarbonat-peroxohydrat, 4,0 % TAED, 3,0 % Polyacrylat, 1,0 % Carboxymethylcellulose, 1,0 % Phosphonat, 25 % Natriumsulfat, Rest: optional Schauminhibitoren, optischer Aufheller, Duftstoffe und ggfs. Wasser ad 100%. Bevorzugt beträgt die Dosierung des flüssigen Waschmittels zwischen 6,0 und 7,0 Gramm pro Liter Waschflotte, beispielsweise 6,7 Gramm pro Liter Waschflotte. Bevorzugt wird gewaschen in einem pH-Wertebereich zwischen pH 9 und pH 11.

[0034] Bevorzugt wird ein flüssiges Waschmittel verwendet.

[0035] Der Weißheitsgrad, d.h. die Aufhellung der Anschmutzungen, wird bevorzugt mit optischen Messverfahren bestimmt, bevorzugt photometrisch. Ein hierfür geeignetes Gerät ist beispielsweise das Spektrometer Minolta CM508d. Üblicherweise werden die für die Messung eingesetzten Geräte zuvor mit einem Weißstandard, bevorzugt einem mitgelieferten Weißstandard, kalibriert.

[0036] Durch den aktivitätsgleichen Einsatz wird sichergestellt, dass auch bei einem etwaigen Auseinanderklaffen des Verhältnisses von Aktivsubstanz zu Gesamtprotein (die Werte der spezifischen Aktivität) die jeweiligen enzymatischen Eigenschaften, also beispielsweise die Waschleistung an bestimmten Anschmutzungen, verglichen werden. Generell gilt, dass eine niedrige spezifische Aktivität durch Zugabe einer größeren Proteinmenge ausgeglichen werden kann. Verfahren zur Bestimmung der Enzymaktivitäten sind dem Fachmann auf dem Gebiet der Enzymtechnologie geläufig und werden von ihm routinemäßig angewendet. Beispielsweise sind Verfahren zur Bestimmung der Proteaseaktivität offenbart in Tenside, Band 7 (1970), S. 125-132. Die Proteaseaktivität wird vorzugsweise in PE (Protease-Einheiten) angegeben. Beispielsweise geeignete Proteaseaktivitäten betragen 5 oder 10 PE (Protease-Einheiten) pro ml Waschflotte. Die eingesetzte enzymatische Aktivität ist jedoch nicht gleich Null.

[0037] Bevorzugt basiert die synergistische Reinigungsleistung auf einem neuen Wirkmechanismus, d.h. es erfolgt keine Steigerung der Enzymaktivität per se im klassischen Sinne, wie sie - bezogen auf Proteasen - in einem der nachfolgenden Verfahren gemessen werden würde. Ein erfindungsgemäßer Synergismus ist demnach auch insbesondere dann vorhanden, wenn eine verbesserte Reinigungsleistung in Anwesenheit von Komponenten (a) und (b) gegenüber der Summe der Reinigungsleistungen der Komponente (a) alleine und der Komponente (b) alleine festgestellt wird, und die Komponente (b) in mindestens einem der nachfolgenden Testverfahren, bevorzugt in beiden nachfolgenden Testverfahren, keinen Effekt hinsichtlich der Steigerung der proteolytischen Aktivität der Komponente (a) über die messbedingte Standardabweichung hinaus zeigt:

Verfahren 1

[0038] Die Protease-Aktivität wird quantitativ über die Freisetzung des Chromophors para-Nitroanilin (pNA) aus dem Substrat bestimmt. Bei dem Substrat handelt es sich um: suc-L-Ala-L-Ala-L-Pro-L-Phe-p-Nitroanilid (Substratlösung:

110 mM in DMSO). Die Protease spaltet das Substrat und setzt pNA frei. Die Freisetzung des pNA verursacht eine Zunahme der Extinktion bei 410 nm, deren zeitlicher Verlauf ein Maß für die enzymatische Aktivität ist (vgl. Del Mar et al., 1979).

[0039] Die Messung erfolgt bei einer Temperatur von 25°C, bei pH 8,6 und einer Wellenlänge von 410 nm. Die Messzeit beträgt 5 min und das Messintervall 20s bis 60s.

[0040] Der Gebrauchspuffer (Tris-HCl pH 8,6] wird als Blank-Probe verwendet. Zu jeder Küvette werden 10 µL der Substratlösung gegeben. Je Probe werden 1000 µL Puffer in eine Küvette gegeben. Es werden 1-300 µl der Puffer bzw. der Komponente (b) (0,1, 0,2, 0,5 oder 1 Gew.-% in Gebrauchspuffer] in die Küvette gegeben. Es werden 1-300 µl der Protease bzw. der Blank-Probe in die Küvette gegeben. Der Start der Messung erfolgt durch Mischen der Probe. Nach dem Mischen werden die Küvetten sofort in das Photometer überführt und die Messung gestartet. Eine Aktivierung oder Stabilisierung der Protease kann mittels der Messdaten quantifiziert werden.

Verfahren 2

[0041] Die Protease-Aktivität wird über die Hydrolyse von Casein und anschließende Reaktion von in TCA löslichen Peptiden mit Folin & Ciocalteu's Phenol Reagenz bestimmt. Die Extinktion des resultierenden Komplexes wird bei 660 nm gemessen und mit einem Tyrosin-Standard verglichen. Reaktionsmischungen enthalten 3 ml 0,8 % (w/v) Casein und 0,5 ml einer geeigneten Enzymverdünnung mit oder ohne der zu testenden Komponente (b) (Konzentration 0,1, 0,2, 0,5 oder 1 Gew.-%), beide in Universalpuffer 1 von Britton und Robinson, pH 9,5 (vgl. J. Chem. Soc. 1931, S. 1451). Die Mischungen werden für 30 Minuten bei 25°C inkubiert, dann wird die Reaktion durch Zugabe von Stopreagenz (TCA) abgebrochen. In Kontrollreaktionen wird das Stopreagenz vor Enzymzugabe mit oder ohne der zu testenden Substanz zugegeben. Nach 20 Minuten bei 25°C werden die Reaktionsmischungen durch Whatman-Filterpapier Nr. 42 filtriert oder zentrifugiert.

[0042] Zu dem Filtrat wird Wasser, Natriumcarbonat und Folin & Ciocalteu's Phenol Reagenz gegeben. Nach 30 Minuten Inkubation wird die Extinktion bei 660 nm bestimmt. In vergleichbarer Weise wird ein aliquotierter Teil von 200 µl eines Tyrosin-Standards bestimmt. Die Aktivität wird in Protease Einheiten ausgedrückt, wobei 1 PE definiert ist als die Menge an proteolytischem Enzym, die zur Freisetzung von 1 mmol Tyrosin führt, freigesetzt pro Minute unter definierten Bedingungen (vgl. Anson, M.L., (1938) J. Gen. Physiol. 22, 79-89 sowie Folin, O., and Ciocalteu, V., (1929) J. Biol. Chem. 73, 627).

[0043] Vorteilhaft synergistische Reinigungsleistungen ergeben sich ferner dadurch, dass die als Komponente (b) eingesetzte Polyaminosäure (i) (wie hierin definiert) bestimmte Molekulargewichte aufweisen. In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung ist das Verfahren dadurch gekennzeichnet, dass

i. die Polyaminosäure ein Molekulargewicht (MW) aufweist von 150 bis 5x106 Dalton, insbesondere von 200 bis 1x106 Dalton, von 220 bis 0,75x106 Dalton und insbesondere von 400 bis 0,5x106 Dalton.

[0044] Betreffend die Einsatzkonzentration, also die Konzentration in der Wasch- bzw. Reinigungsflotte, ergibt sich eine besonders vorteilhafte synergistische Reinigungsleistung ebenfalls dadurch, dass die als Komponente (b) eingesetzte Substanz in einer bestimmten Konzentration in der Wasch- bzw. Reinigungsflotte vorliegt. In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung ist das Verfahren demnach dadurch gekennzeichnet, dass diese Komponente in der Wasch- bzw. Reinigungsflotte vorliegt in einer Konzentration von 0,00025 bis 0,6 Gew.-%, insbesondere von 0,0003 bis 0,5 Gew.-%.

[0045] Zu in erfindungsgemäßen Verfahren einsetzbaren Wasch- und Reinigungsmitteln zählen alle denkbaren Wasch- bzw. Reinigungsmittelarten, sowohl Konzentrate als auch unverdünnt anzuwendende Mittel, zum Einsatz im kommerziellen Maßstab, in der Waschmaschine oder bei der Handwäsche beziehungsweise -reinigung. Dazu gehören beispielsweise Waschmittel für Textilien, Teppiche, oder Naturfasern, für die die Bezeichnung Waschmittel verwendet wird. Dazu gehören beispielsweise auch Geschirrspülmittel für Geschirrspülmaschinen oder manuelle Geschirrspülmittel oder Reiniger für harte Oberflächen wie Metall, Glas, Porzellan, Keramik, Kacheln, Stein, lackierte Oberflächen, Kunststoffe, Holz oder Leder, für die die Bezeichnung Reinigungsmittel verwendet wird, also neben manuellen und maschinellen Geschirrspülmitteln beispielsweise auch Scheuermittel, Glasreiniger, WC-Duftspüler, usw. Zu den Wasch- und Reinigungsmitteln im Rahmen der Erfindung zählen ferner Waschlösungsmittel, die bei der manuellen oder maschinellen Textilwäsche zum eigentlichen Waschmittel hinzudosiert werden, um eine weitere Wirkung zu erzielen. Ferner zählen zu Wasch- und Reinigungsmittel im Rahmen der Erfindung auch Textilvor- und Nachbehandlungsmittel, also solche Mittel, mit denen das Wäschestück vor der eigentlichen Wäsche in Kontakt gebracht wird, beispielsweise zum Anlösen hartnäckiger Verschmutzungen, und auch solche Mittel, die in einem der eigentlichen Textilwäsche nachgeschalteten Schritt dem Waschgut weitere wünschenswerte Eigenschaften wie angenehmen Griff, Knitterfreiheit oder geringe statische Aufladung verleihen. Zu letztgenannten Mittel werden u.a. die Weichspüler gerechnet.

[0046] Die in erfindungsgemäßen Verfahren einsetzbaren Wasch- oder Reinigungsmittel, die als insbesondere pul-

verförmige Feststoffe, in nachverdichteter Teilchenform, als homogene Lösungen oder Suspensionen vorliegen können, können außer den erfindungsgemäß eingesetzten Wirkstoffen - den Komponenten (a) und (b) - im Prinzip alle bekannten und in derartigen Mitteln üblichen Inhaltsstoffe enthalten, wobei bevorzugt mindestens ein weiterer Inhaltsstoff in dem Mittel vorhanden ist. Die Mittel können insbesondere Buildersubstanzen, oberflächenaktive Tenside, Bleichmittel auf Basis organischer und/oder anorganischer Persauerstoffverbindungen, Bleichaktivatoren, wassermischbare organische Lösungsmittel, Enzyme, Sequestrierungsmittel, Elektrolyte, pH-Regulatoren und weitere Hilfsstoffe wie optische Aufheller, Vergrauungsinhibitoren, Schaumregulatoren sowie Farb- und Duftstoffe sowie Kombinationen hiervon enthalten. Insbesondere eine weitere Kombination der erfindungsgemäßen Wirkstoffe mit einem oder mehreren weiteren Inhaltsstoff(en) der Mittel erweist sich als vorteilhaft, da dann eine weiter verbesserte Reinigungsleistung durch weitere sich ergebende Synergismen erreicht werden kann. Insbesondere durch die Kombination mit einem Tensid und/oder einer Buildersubstanz und/oder einem Bleichmittel wird ein solcher weiterer Synergismus erreicht. Solche bevorzugten weiteren Inhaltsstoffe des Wasch- oder Reinigungsmittels sind offenbart in der internationalen Offenlegungsschrift WO 2009/021867, auf deren Offenbarung daher ausdrücklich verwiesen bzw. deren Offenbarung daher ausdrücklich in die vorliegende Anmeldung einbezogen wird.

[0047] Die zu wählenden Inhaltsstoffe wie auch die Bedingungen, unter denen das Mittel eingesetzt wird, wie beispielsweise Temperatur, pH-Wert, Ionenstärke, Redox-Verhältnisse oder mechanische Einflüsse, sollten für das jeweilige Reinigungsproblem optimiert sein. So liegen übliche Temperaturen für den Einsatz von Wasch- und Reinigungsmitteln in Bereichen von 10°C über 40°C und 60°C bis hin zu 95° bei maschinellen Mitteln oder bei technischen Anwendungen.

[0048] Vorzugsweise werden die Inhaltsstoffe der betreffenden Mittel aufeinander abgestimmt, insbesondere derart, dass sich Synergien hinsichtlich der Reinigungsleistung ergeben. Besonders bevorzugt sind Synergien, die in einem Temperaturbereich zwischen 10°C und 60°C vorhanden sind, insbesondere in einem Temperaturbereich von 10°C bis 50°C, von 10°C bis 40°C, von 10°C bis 30°C, von 15°C bis 30°C von 10°C bis 25°C, von 15°C bis 25°C und ganz besonders bevorzugt bei 20°C.

[0049] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform kann das in dem Mittel enthaltene hydrolytische Enzym, insbesondere eine Protease, und/oder weitere Inhaltsstoffe des Mittels mit einer bei Raumtemperatur oder bei Abwesenheit von Wasser für das Enzym undurchlässigen Substanz umhüllt sein, welche unter Anwendungsbedingungen des Mittels durchlässig für das Enzym wird. Eine solche Ausführungsform der Erfindung ist somit dadurch gekennzeichnet, dass das hydrolytische Enzym mit einer bei Raumtemperatur oder bei Abwesenheit von Wasser für das Enzym undurchlässigen Substanz umhüllt ist. Weiterhin kann auch das Wasch- oder Reinigungsmittel selbst in einem Behältnis, vorzugsweise einem luftdurchlässigen Behältnis, verpackt sein, aus dem es kurz vor Gebrauch oder während des Waschvorgangs freigesetzt wird.

[0050] In weiteren Ausführungsformen der Erfindung ist das Verfahren dadurch gekennzeichnet, dass das Waschoberflächenreinigungsmittel

(a) in fester Form vorliegt, insbesondere als rieselfähiges Pulver mit einem Schüttgewicht von 300 g/l bis 1200 g/l, insbesondere 500 g/l bis 900 g/l, oder

(b) in pastöser oder in flüssiger Form vorliegt, und/oder

(c) als Einkomponentensystem vorliegt, oder

(d) in mehrere Komponenten aufgeteilt ist.

[0051] Diese Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung umfassen ferner alle festen, pulverförmigen, flüssigen, gelförmigen oder pastösen Darreichungsformen der in erfindungsgemäßen Verfahren einsetzbaren Mittel, die gegebenenfalls auch aus mehreren Phasen bestehen können sowie in komprimierter oder nicht komprimierter Form vorliegen können. Das Mittel kann als rieselfähiges Pulver vorliegen, insbesondere mit einem Schüttgewicht von 300 g/l bis 1200 g/l, insbesondere 500 g/l bis 900 g/l oder 600 g/l bis 850 g/l. Zu den festen Darreichungsformen des Mittels zählen ferner Extrudate, Granulate, Tabletten oder Pouches. Alternativ kann das Mittel auch flüssig, gelförmig oder pastös sein, beispielsweise in Form eines nicht-wässrigen Flüssigwaschmittels oder einer nicht-wässrigen Paste oder in Form eines wässrigen Flüssigwaschmittels oder einer wasserhaltigen Paste. Weiterhin kann das Mittel als Einkomponentensystem vorliegen. Solche Mittel bestehen bevorzugt aus einer Phase. Alternativ kann ein Mittel auch aus mehreren Phasen bestehen. Ein solches Mittel ist demnach in mehrere Komponenten aufgeteilt.

[0052] In erfindungsgemäßen Verfahren einsetzbare Wasch- oder Reinigungsmittel können ausschließlich eine Protease enthalten. Alternativ können sie aber auch weitere hydrolytische Enzyme oder andere Enzyme in einer für die Wirksamkeit des Mittels zweckmäßigen Konzentration enthalten, wobei prinzipiell alle im Stand der Technik für diese Zwecke etablierten Enzyme einsetzbar sind. Als weitere Enzyme bevorzugt einsetzbar sind alle Enzyme, die in dem Mittel eine katalytische Aktivität entfalten können, insbesondere Proteasen, Amylasen, Cellulasen, Hemicellulasen, Mannanasen, Tannasen, Xylanasen, Xanthanasen, β -Glucosidasen, Carrageenasen, Oxidasen, Perhydrolasen, Oxidoreduktasen oder Lipasen, sowie vorzugsweise deren Gemische. Diese Enzyme sind im Prinzip natürlichen Ursprungs; ausgehend von den natürlichen Molekülen stehen für den Einsatz in Wasch- und Reinigungsmitteln verbesserte Varianten

zur Verfügung, die entsprechend bevorzugt eingesetzt werden.

[0053] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Wasch- oder Reinigungsverfahren umfassend die Verfahrensschritte

(a) Bereitstellen einer Wasch- oder Reinigungslösung umfassend ein Wasch- oder Reinigungsmittel, das enthält

i. eine Protease und

ii. eine Komponente, die im Zusammenwirken mit der Protease bei Anwendung des Mittels eine synergistische Reinigungsleistung bewirkt und die eine Polyaminosäure ist;

(b) In Kontakt bringen eines Textils oder einer harten Oberfläche mit der Wasch- oder Reinigungslösung gemäß (a),

wobei die Komponente in dem Mittel vorliegt von 0,018 bis 0,2 Gew.-%, insbesondere von 0,04 bis 0,1 Gew.-% und wobei das Wasch- oder Reinigungsmittel die Protease in einer Menge von 2 mg bis 20 mg, vorzugsweise von 5 mg bis 17,5 mg, besonders bevorzugt von 20 mg bis 15 mg und ganz besonders bevorzugt von 50 mg bis 10 mg pro g des Mittels enthält,

wobei die Polyaminosäure aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist.

[0054] Alle Sachverhalte, Gegenstände und Ausführungsformen, die vorstehend für alle erfindungsgemäßen Verfahren beschrieben sind, sind auch auf diesen Erfindungsgegenstand anwendbar. Daher wird an dieser Stelle ausdrücklich auf die Offenbarung an entsprechender Stelle verwiesen mit dem Hinweis, dass diese Offenbarung auch für diesen Gegenstand der Erfindung gilt.

[0055] Ein solches Verfahren ist vorteilhaft, da wie vorstehend beschrieben die Reinigungsleistung eines Wasch- oder Reinigungsmittels, das eine Protease enthält, verbessert wird durch den Zusatz einer Komponente wie angegeben. Damit ist das Verfahren vorteilhaft, um von Textilien oder von harten Oberflächen entsprechende Verunreinigungen, insbesondere proteinhaltige Verunreinigungen, zu beseitigen. Ausführungsformen dieses Erfindungsgegenstandes stellen beispielsweise die Handwäsche, die manuelle Entfernung von Flecken von Textilien oder von harten Oberflächen oder maschinelle Verfahren dar.

[0056] Verfahren zur Reinigung von Textilien zeichnen sich im Allgemeinen dadurch aus, dass in mehreren Verfahrensschritten verschiedene reinigungsaktive Substanzen auf das Reinigungsgut aufgebracht und nach der Einwirkzeit abgewaschen werden, oder dass das Reinigungsgut in sonstiger Weise mit einem Waschmittel oder einer Lösung dieses Mittels behandelt wird. Entsprechendes gilt für Verfahren zur Reinigung von harten Oberflächen.

[0057] Da eine Protease, d.h. Komponente (a), natürlicherweise bereits eine proteolytische Aktivität besitzt und diese auch in Medien entfaltet, die sonst keine Reinigungskraft besitzen, wie beispielsweise in bloßem Puffer, kann ein solches Verfahren auch lediglich darin bestehen, dass neben der zugesetzten Komponente (b) als einzige weitere Komponente eine Protease, d.h. Komponente (a), aufgebracht wird, bevorzugt in einer Pufferlösung oder in Wasser. Dies stellt eine weitere Ausführungsform dieses Erfindungsgegenstandes dar.

[0058] Alle erfindungsgemäßen Verfahren werden vorzugsweise in einem Temperaturbereich von 10°C bis 60°C, insbesondere von 10°C bis 50°C, von 10°C bis 40°C, von 10°C bis 30°C, von 15°C bis 30°C von 10°C bis 25°C und von 15°C bis 25°C, durchgeführt. Ein synergistisches Zusammenwirken der Komponenten (a) und (b) hinsichtlich der Reinigungsleistung liegt besonders bei diesen niedrigeren bis mittleren Waschttemperaturen bzw. Reinigungstemperaturen vor.

[0059] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung einer Komponente, die eine Polyaminosäure ist, zum Erreichen einer synergistischen Reinigungsleistung im Zusammenwirken mit einer Protease, wobei die Komponente in dem Mittel vorliegt von 0,018 bis 0,2 Gew.-%, insbesondere von 0,04 bis 0,1 Gew.-% und wobei das Wasch- oder Reinigungsmittel die Protease in einer Menge von 2 mg bis 20 mg, vorzugsweise von 5 mg bis 17,5 mg, besonders bevorzugt von 20 mg bis 15 mg und ganz besonders bevorzugt von 50 mg bis 10 mg pro g des Mittels enthält, wobei die Polyaminosäure aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist.

[0060] Die Sachverhalte, Gegenstände und Ausführungsformen, die für erfindungsgemäße Wasch- oder Reinigungsverfahren beschrieben sind, sind auch auf diesen Erfindungsgegenstand anwendbar. Daher wird an dieser Stelle ausdrücklich auf die Offenbarung an entsprechender Stelle verwiesen mit dem Hinweis, dass diese Offenbarung auch für die vorstehende erfindungsgemäße Verwendung gilt.

[0061] [gestrichen]

[0062] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung einer Komponente, die eine Polyaminosäure ist zur Steigerung der Reinigungsleistung einer Protease in einem Wasch- oder Reinigungsprozess, wobei die Komponente in dem Mittel vorliegt von 0,018 bis 0,2 Gew.-%, insbesondere von 0,04 bis 0,1 Gew.-% und wobei das Wasch- oder Reinigungsmittel die Protease in einer Menge von 2 mg bis 20 mg, vorzugsweise von 5 mg bis 17,5 mg, besonders bevorzugt von 20 mg bis 15 mg und ganz besonders bevorzugt von 50 mg bis 10 mg pro g des Mittels enthält, wobei die Polyaminosäure aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist. Wie vorstehend beschrieben wirken die Komponenten (a) und (b) vorteilhaft, insbesondere synergistisch, zusammen, so dass nicht nur die Reinigungsleistung eines Wasch- oder Reinigungsmittels (bzw. der von diesem Mittel gebildeten Waschflotte) verbessert wird, sondern auch die Reinigungsleistung der Protease selbst. Die Sachverhalte, Gegenstände und Ausführungsformen, die für erfindungsgemäße Wasch- oder Reinigungsverfahren beschrieben sind, sind auch auf diesen Erfindungsgegenstand anwendbar. Daher wird an dieser Stelle ausdrücklich auf die Offenbarung an entsprechender Stelle verwiesen mit dem Hinweis, dass diese Offenbarung auch für die vorstehende erfindungsgemäße Verwendung gilt.

[0063] Ferner ergeben sich vorteilhafte Reinigungsleistungen insbesondere dadurch, dass die als Komponente (b) eingesetzte Polyaminosäure (wie hierin definiert) bestimmte Molekulargewichte aufweisen. Weitere bevorzugte Ausführungsformen erfindungsgemäßer Verwendungen sind demnach dadurch gekennzeichnet, dass i. die Polyaminosäure ein Molekulargewicht (MW) aufweist von 150 bis 5×10^6 Dalton, insbesondere von 200 bis 1×10^6 Dalton, von 220 bis $0,75 \times 10^6$ Dalton und insbesondere von 400 bis $0,5 \times 10^6$ Dalton.

Beispiele:

Beispiel 1

[0064] Für die Ermittlung der Waschleistung wurde nachfolgend angegebene Rahmenrezeptur für ein Textilwaschmittel verwendet (vgl. Tabelle 2).

Tabelle 2:

Inhaltsstoff	Gew.-% Reinsubstanz
Xanthan	0,3-0,5
Anti-Schaummittel	0,2-0,4
Glycerin	6-7
Ethanol	0,3-0,5
FAEOS	4-7
Nichtionische Tenside (FAEO, APG, u.a.)	24-28
Borsäure	1
Natriumcitrat (Dihydrat)	1-2
Soda	2-4
Kokosnuss-Fettsäuren	14-16
HEDP	0,5
PVP	0-0,4
Optische Aufheller	0-0,05
Farbstoff	0-0,001
Parfüm	0-2
H ₂ O, demineralisiert	Rest

[0065] Die Testansätze wurden in 48-Napf-Platten in jeweils 1 ml Waschlauge wie nachfolgend in Tabelle 3 angegeben zusammengestellt. Die Inkubation erfolgte für 60 Minuten bei 40°C unter Schütteln (ca. 600 Umdrehungen pro Minute (rpm)).

EP 2 313 482 B2

Tabelle 3:

Volumina	Lösung
420 µl	161-966 mg Textilwaschmittel in 42 ml Wasser oder Puffer
30-530 µl	1-100 PE/ml Protease
30-530 µl	Vorbereitete Substanz-Lösung
Rest	H ₂ O
	Anschmutzung Ø ca. 1cm

[0066] Es wurden runde Stücke von Anschmutzungen (Durchmesser ca. 10 mm) verwendet, die aus folgenden Anschmutzungen ausgewählt wurden:

Blut-Milch/Tusche auf Baumwolle: Produkt Nr. C5 von CFT B.V. Vlaardingen, Holland Voll-Ei/Pigment auf Baumwolle: Produkt Nr. 10N erhältlich von der Firma wfk Testgewebe GmbH; Brüggen-Bracht, Deutschland, Schokolade-Milch/Tusche auf Baumwolle: Produkt Nr. C3 von CFT B.V. Vlaardingen, Holland Erdnuss Öl-Pigment/Tusche auf Polyester/Baumwolle: Produkt Nr. PC10 von CFT B.V. Vlaardingen, Holland Gras auf Baumwolle: Produkt Nr. 164 von erhältlich von der Firma Eidgenössische Material- und Prüfanstalt (EMPA) Testmaterialien AG, St. Gallen, Schweiz
Kakao auf Baumwolle: Produkt Nr. 112 von erhältlich von der Firma Eidgenössische Material- und Prüfanstalt (EMPA) Testmaterialien AG, St. Gallen, Schweiz.

[0067] Nach der Inkubation wurden die Anschmutzungen dreimal gespült, getrocknet und fixiert und der Weißgrad der gewaschenen Textilien im Vergleich zu einem Weißstandard (d/8, 8mm, SCI/SCE) gemessen, der auf 100% normiert worden war (Bestimmung des L-Werts). Die Messung erfolgte an einem Farbmessgerät (Minolta Cm508d) mit einer Lichtarteinstellung von 10°/D65. Die erhaltenen Ergebnisse sind als Prozent Leistung angegeben, wobei die Differenz der Remissionswerte vom Basiswaschmittel ohne Substanz oder Enzyme zu dem mit Protease auf 100% normiert wurde.

[0068] Als Proteasen verwendet wurden die alkalische Protease aus *Bacillus lentus* DSM 5483 (WO 92/21760), die Protease aus *Bacillus pumilus* gemäß WO2007/131656 sowie die Protease, die in Figur 2 bzw. SEQ ID NO. 3 der internationalen Offenlegungsschrift WO 03/057713 offenbart ist.

Beispiel 2

[0069] Die Waschleistung wurde mit folgenden reinen Substanzen (Komponente (b)) getestet: Polyglutamat (Polyglutaminsäure).

[0070] Stammlösungen mit dieser Substanz wurden angesetzt mit 0,00001-1,5 M Substanz oder 0,0001-55% (Gewicht) in Wasser oder Puffer (Phosphat 0,00001-1,5 M pH 6,5-8,0 oder Tris 0,00001-1,5 M pH 7,5-9,0 oder Soerensen Puffer pH 7,5-9,0 oder Citrat Puffer 0,00001-1,5 M pH 4,5-7,0 oder Acetat Puffer 0,00001-1,5 M pH 2,5-5,5).

[0071] Die nachfolgende Tabelle 4 zeigt die erhaltenen Waschleistungen für die jeweils angegebenen Versuchsansätze (die Abkürzung "n.b." steht für "nicht bestimmt"). Die Aminosäuren sind in fachüblicher Kurzschreibweise aufgeführt. Es wird deutlich, dass die eingesetzte Komponente (b) eine synergistische Steigerung der Waschleistung bei denjenigen Waschmitteln bewirken, die eine Protease, d.h. Komponente (a), enthalten. In Kontrollen, in denen keine Protease enthalten ist (bezeichnet als "Blank") bewirkt diese Komponente (b) keine Steigerung der Waschleistung, so dass die gesteigerte Waschleistung auf einem vorteilhaften, synergistischen Zusammenwirken der Komponenten (a) und (b) beruht.

Tabelle 4:

	Protease	Poly-L- Glutaminsäure 15.000-50.000	Poly-L- Glutaminsäure 50.000-100.000
PC-10	100%	131%	151%
10N	100%	166%	171%
C-03	100%	126%	123%

Beschreibung der Figur:

[0072]

Figur 1: Struktur von Surfactin

Patentansprüche

- Verfahren zur Verbesserung der Reinigungsleistung eines Wasch- oder Reinigungsmittels, das eine Protease umfasst, **dadurch gekennzeichnet, dass** dem Wasch- oder Reinigungsmittel eine Komponente zugesetzt wird, die im Zusammenwirken mit der Protease bei Anwendung des Mittels eine synergistische Reinigungsleistung bewirkt und die eine Polyaminosäure ist, wobei die Komponente in dem Mittel vorliegt von 0,018 bis 0,2 Gew.-%, insbesondere von 0,04 bis 0,1 Gew.-% und wobei das Wasch- oder Reinigungsmittel die Protease in einer Menge von 2 µg bis 20 mg, vorzugsweise von 5 µg bis 17,5 mg, besonders bevorzugt von 20 µg bis 15 mg und ganz besonders bevorzugt von 50 µg bis 10 mg pro g des Mittels enthält, wobei die Polyaminosäure aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ-D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β-D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ-D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β-D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist.
- Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Komponente ein Molekulargewicht (MW) aufweist von 150 bis 5×10^6 Dalton, insbesondere von 200 bis 1×10^6 Dalton, von 220 bis $0,75 \times 10^6$ Dalton und insbesondere von 400 bis $0,5 \times 10^6$ Dalton.
- Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Komponente in der Wasch- bzw. Reinigungsflotte vorliegt in einer Konzentration von 0,00025 bis 0,6 Gew.-%, insbesondere von 0,0003 bis 0,5 Gew.-%.
- Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Protease in dem Wasch- oder Reinigungsmittel mit einer bei Raumtemperatur oder bei Abwesenheit von Wasser für das Enzym undurchlässigen Substanz umhüllt ist.
- Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Wasch- oder Reinigungsmittel
 - in fester Form vorliegt, insbesondere als rieselfähiges Pulver mit einem Schüttgewicht von 300 g/l bis 1200 g/l, insbesondere 500 g/l bis 900 g/l, oder
 - in pastöser oder in flüssiger Form vorliegt, und/oder
 - als Einkomponentensystem vorliegt, oder
 - in mehrere Komponenten aufgeteilt ist.
- Wasch- oder Reinigungsverfahren umfassend die Verfahrensschritte

(a) Bereitstellen einer Wasch- oder Reinigungslösung umfassend ein Wasch- oder Reinigungsmittel, das

- i. eine Protease, und
- ii. eine Komponente enthält, die im Zusammenwirken mit der Protease bei Anwendung des Mittels eine synergistische Reinigungsleistung bewirkt und die eine Polyamino-säure ist;

(b) In Kontakt bringen eines Textils oder einer harten Oberfläche mit der Wasch- oder Reinigungslösung gemäß (a),

wobei die Komponente in dem Mittel vorliegt von 0,018 bis 0,2 Gew.-%, insbesondere von 0,04 bis 0,1 Gew.-% und wobei das Wasch- oder Reinigungsmittel die Protease in einer Menge von 2 mg bis 20 mg, vorzugsweise von 5 mg bis 17,5 mg, besonders bevorzugt von 20 mg bis 15 mg und ganz besonders bevorzugt von 50 mg bis 10 mg pro g des Mittels enthält,

wobei die Polyamino-säure aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** es in einem Temperaturbereich von 10°C bis 60°C, insbesondere von 10°C bis 50°C, von 10°C bis 40°C, von 10°C bis 30°C, von 15°C bis 30°C von 10°C bis 25°C und von 15°C bis 25°C, durchgeführt wird.

8. Verwendung einer Komponente, die eine Polyamino-säure ist, zum Erreichen einer synergistischen Reinigungsleistung im Zusammenwirken mit einer Protease, wobei die Komponente in dem Mittel vorliegt von 0,018 bis 0,2 Gew.-%, insbesondere von 0,04 bis 0,1 Gew.-% und wobei das Wasch- oder Reinigungsmittel die Protease in einer Menge von 2 μ g bis 20 mg, vorzugsweise von 5 μ g bis 17,5 mg, besonders bevorzugt von 20 μ g bis 15 mg und ganz besonders bevorzugt von 50 μ g bis 10 mg pro g des Mittels enthält, wobei die Polyamino-säure aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist.

9. Verwendung einer Komponente, die eine Polyamino-säure ist, zur Steigerung der Reinigungsleistung einer Protease in einem Wasch- oder Reinigungsprozess, wobei die Komponente in dem Mittel vorliegt von 0,018 bis 0,2 Gew.-%, insbesondere von 0,04 bis 0,1 Gew.-% und wobei das Wasch- oder Reinigungsmittel die Protease in einer Menge von 2 μ g bis 20 mg, vorzugsweise von 5 μ g bis 17,5 mg, besonders bevorzugt von 20 μ g bis 15 mg und ganz besonders bevorzugt von 50 μ g bis 10 mg pro g des Mittels enthält, wobei die Polyamino-säure aus der aus Poly-Glutaminsäure, darunter γ -D-Polyglutaminsäure, L-Polyglutaminsäure und DL-Polyglutaminsäure, Poly-Asparaginsäure, darunter β -D-Polyasparaginsäure und L-Polyasparaginsäure, Poly-Glutamin, darunter γ -D-Polyglutamin, L-Polyglutamin und DL-Polyglutamin, sowie Poly-Asparagin, darunter β -D-Polyasparagin und L-Polyasparagin, bestehenden Gruppe ausgewählt ist.

10. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Komponente ein Molekulargewicht (MW) aufweist von 150 bis 5×10^6 Dalton, insbesondere von 200 bis 1×10^6 Dalton, von 220 bis $0,75 \times 10^6$ Dalton und insbesondere von 400 bis $0,5 \times 10^6$ Dalton.

Claims

1. Method for improving the cleaning performance of a washing or cleaning agent that comprises a protease, **characterized in that** a component is added to the washing or cleaning agent, which component brings about a synergistic cleaning performance in conjunction with the protease when the agent is used and which is a polyamino acid, the component being present in the agent from 0.018 to 0.2 wt.%, in particular from 0.04 to 0.1 wt.%, and the washing or cleaning agent containing the protease in an amount of from 2 μ g to 20 mg, preferably from 5 μ g to 17.5 mg, particularly preferably from 20 μ g to 15 mg and very particularly preferably from 50 μ g to 10 mg per g of the agent, the polyamino acid being selected from the group consisting of polyglutamic acid, including γ -D polyglutamic acid, L-polyglutamic acid and DL-polyglutamic acid, polyaspartic acid, including β -D-polyaspartic acid and L-polyaspartic acid, polyglutamine, including γ -D-polyglutamine, L-polyglutamine and DL-polyglutamine, and polyasparagine, including β -D-polyasparagine and L-polyasparagine.

2. Method according to claim 1, **characterized in that** the component has a molecular weight (MW) of from 150 to 5×10^6 daltons, in particular from 200 to 1×10^6 daltons, from 220 to 0.75×10^6 daltons, and in particular from 400 to 0.5×10^6 daltons.
- 5 3. Method according to one of claims 1 to 2, **characterized in that** the component is present in the washing or cleaning liquor at a concentration of from 0.00025 to 0.6 wt.%, in particular from 0.0003 to 0.5 wt.%.
- 10 4. Method according to one of claims 1 to 3, **characterized in that** the protease is encased in the washing or cleaning agent using a substance that is impermeable to the enzyme at room temperature or in the absence of water.
- 15 5. Method according to one of claims 1 to 4, **characterized in that** the washing or cleaning agent
- (a) is present in solid form, in particular as a flowable powder having a bulk density of from 300 g/L to 1200 g/L, in particular from 500 g/L to 900 g/L, or
- (b) is present in pasty or liquid form, and/or
- (c) is present as a single-component system, or
- (d) is divided into a plurality of components.
- 20 6. Washing or cleaning method comprising the method steps of
- (a) providing a washing or cleaning solution comprising a washing or cleaning agent that contains
- i. a protease, and
- 25 ii. a component, which brings about a synergistic cleaning performance in conjunction with the protease when the agent is used and which is a polyamino acid;
- (b) bringing a textile or a hard surface into contact with the washing or cleaning solution according to (a), wherein the component is present in the agent from 0.018 to 0.2 wt.%, in particular from 0.04 to 0.1 wt.%, and wherein the washing or cleaning agent contains the protease in an amount of from 2 mg to 20 mg, preferably from 5 mg to 17.5 mg, particularly preferably from 20 mg to 15 mg and very particularly preferably from 50 mg to 10 mg per g of the agent, wherein the polyamino acid is selected from the group consisting of polyglutamic acid, including γ -D polyglutamic acid, L-polyglutamic acid and DL-polyglutamic acid, polyaspartic acid, including β -D-polyaspartic acid and L-polyaspartic acid, polyglutamine, including γ -D-polyglutamine, L-polyglutamine and DL-polyglutamine, and polyasparagine, including β -D-polyasparagine and L-polyasparagine.
- 30 7. Method according to one of claims 1 to 6, **characterized in that** it is carried out in a temperature range of from 10 °C to 60 °C, in particular from 10 °C to 50 °C, from 10 °C to 40 °C, from 10 °C to 30 °C, from 15 °C to 30 °C, from 10 °C to 25 °C and from 15 °C to 25 °C.
- 40 8. Use of a component which is a polyamino acid to achieve a synergistic cleaning performance in conjunction with a protease, wherein the component is present in the agent from 0.018 to 0.2 wt.%, in particular from 0.04 to 0.1 wt.%, and wherein the washing or cleaning agent contains the protease in an amount of from 2 μ g to 20 mg, preferably from 5 μ g to 17.5 mg, particularly preferably from 20 μ g to 15 mg and very particularly preferably from 50 μ g to 10 mg per g of the agent, wherein the polyamino acid is selected from the group consisting of polyglutamic acid, including γ -D polyglutamic acid, L-polyglutamic acid and DL-polyglutamic acid, polyaspartic acid, including β -D-polyaspartic acid and L-polyaspartic acid, polyglutamine, including γ -D-polyglutamine, L-polyglutamine and DL-polyglutamine, and polyasparagine, including β -D-polyasparagine and L-polyasparagine.
- 45 9. Use of a component which is a polyamino acid to increase the cleaning performance of a protease in a washing or cleaning process, wherein the component is present in the agent from 0.018 to 0.2 wt.%, in particular from 0.04 to 0.1 wt.%, and wherein the washing or cleaning agent contains the protease in an amount of from 2 μ g to 20 mg, preferably from 5 μ g to 17.5 mg, particularly preferably from 20 μ g to 15 mg and very particularly preferably from 50 μ g to 10 mg per g of the agent, wherein the polyamino acid is selected from the group consisting of polyglutamic acid, including γ -D polyglutamic acid, L-polyglutamic acid and DL-polyglutamic acid, polyaspartic acid, including β -D-polyaspartic acid and L-polyaspartic acid, polyglutamine, including γ -D-polyglutamine, L-polyglutamine and DL-polyglutamine, and polyasparagine, including β -D-polyasparagine and L-polyasparagine.
- 50 55

10. Use according to one of claims 8 to 9, **characterized in that** the component has a molecular weight (MW) of from 150 to 5×10^6 daltons, in particular from 200 to 1×10^6 daltons, from 220 to 0.75×10^6 daltons, and in particular from 400 to 0.5×10^6 daltons.

5

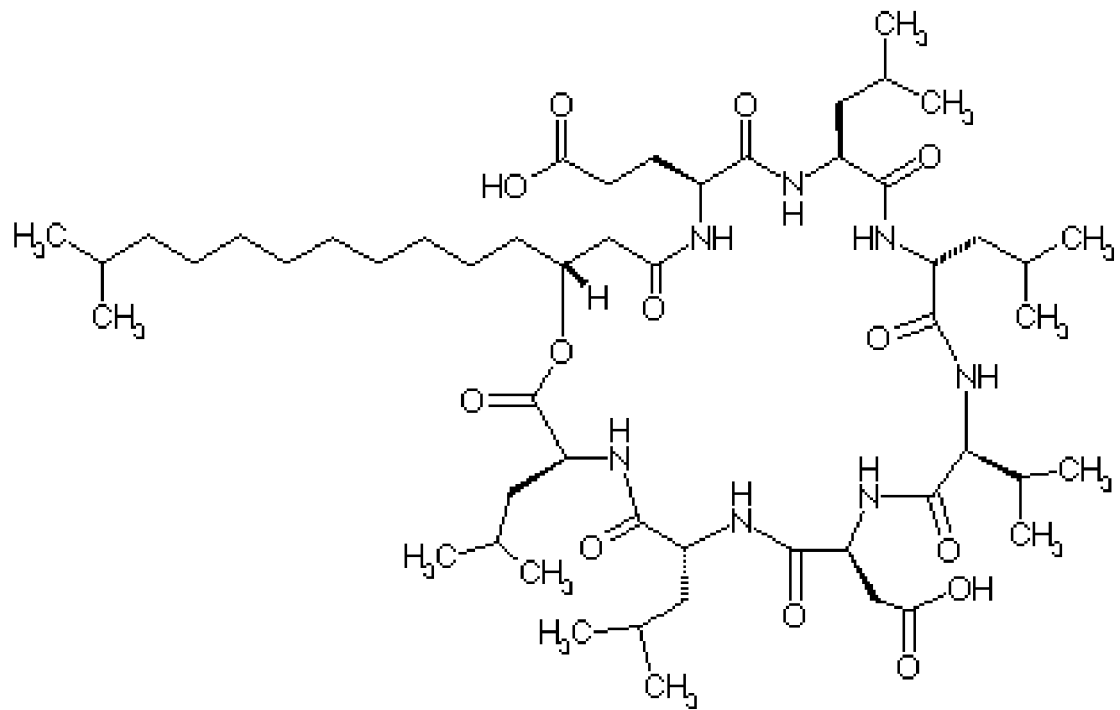
Revendications

1. Procédé d'amélioration du pouvoir nettoyant d'un agent de lavage ou de nettoyage, lequel comprend une protéase, **caractérisé en ce qu'**un composant est ajouté à l'agent de lavage ou de nettoyage qui génère un pouvoir nettoyant synergique en coopération avec la protéase lors de l'application de l'agent et qui est un polyaminoacide, le composant étant présent dans l'agent à raison de 0,018 à 0,2 % en poids, en particulier de 0,04 à 0,1 % en poids et l'agent de lavage ou de nettoyage contenant la protéase en une quantité de 2 μg à 20 mg, de préférence de 5 μg à 17,5 mg, plus préférentiellement de 20 μg à 15 mg et de manière tout particulièrement préférée de 50 μg à 10 mg par gramme de l'agent, le polyaminoacide étant choisi dans le groupe constitué par l'acide polyglutamique, dont l'acide γ -D-polyglutamique, l'acide L-polyglutamique et l'acide DL-polyglutamique, l'acide polyaspartique, dont l'acide β -D-polyaspartique et l'acide L-polyaspartique, la polyglutamine, dont la γ -D-polyglutamine, la L-polyglutamine et la DL-polyglutamine, et la polyasparagine, dont la β -D-polyasparagine et la L-polyasparagine.
2. Procédé selon la revendication 1, **caractérisé en ce que** le composant présente une masse moléculaire (MW) de 150 à 5×10^6 daltons, en particulier de 200 à 1×10^6 daltons, de 220 à $0,75 \times 10^6$ daltons et en particulier de 400 à $0,5 \times 10^6$ daltons.
3. Procédé selon l'une des revendications 1 à 2, **caractérisé en ce que** le composant est présent dans le bain de lavage ou de nettoyage à une concentration de 0,00025 à 0,6 % en poids, en particulier de 0,0003 à 0,5 % en poids.
4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, **caractérisé en ce que** la protéase est enrobée d'une substance imperméable à l'enzyme à température ambiante ou en l'absence d'eau dans l'agent de lavage ou de nettoyage.
5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, **caractérisé en ce que** l'agent de lavage ou de nettoyage est présent
- (a) sous forme solide, en particulier comme une poudre fluide d'une densité apparente de 300 à 1 200 g/l, en particulier de 500 à 900 g/l, ou
- (b) sous forme pâteuse ou liquide, et/ou
- (c) sous forme d'un système monocomposant, ou
- (d) est décomposé en plusieurs composants.
6. Procédé de lavage ou de nettoyage comprenant les étapes de
- (a) fourniture d'une solution de lavage ou de nettoyage comprenant un agent de lavage ou de nettoyage qui contient
- i. une protéase et
- ii. un composant qui génère un pouvoir nettoyant synergique en coopération avec la protéase lors de l'application de l'agent et qui est un polyaminoacide ;
- (b) mise en contact d'un textile ou d'une surface dure avec la solution de lavage ou de nettoyage selon (a), dans lequel le composant est présent dans l'agent à raison de 0,018 à 0,2 % en poids, en particulier de 0,04 à 0,1 % en poids et dans lequel l'agent de lavage ou de nettoyage contient la protéase en une quantité de 2 mg à 20 mg, de préférence de 5 mg à 17,5 mg, plus préférentiellement de 20 mg à 15 mg et de manière tout particulièrement préférée de 50 mg à 10 mg par gramme de l'agent, dans lequel le polyaminoacide est choisi dans le groupe constitué par l'acide polyglutamique, dont l'acide γ -D-polyglutamique, l'acide L-polyglutamique et l'acide DL-polyglutamique, l'acide polyaspartique, dont l'acide β -D-polyaspartique et l'acide L-polyaspartique, la polyglutamine, dont la γ -D-polyglutamine, la L-polyglutamine et la DL-polyglutamine, et la polyasparagine, dont la β -D-polyasparagine et la L-polyasparagine.
7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, **caractérisé en ce qu'**il est mis en œuvre dans une plage de température de 10 °C à 60 °C, en particulier de 10 °C à 50 °C, de 10 °C à 40°C, de 10 °C à 30°C, de 15 °C à 30 °C, de 10 °C à 25°C et de 15 °C à 25 °C.

8. Utilisation d'un composant, qui est un polyaminoacide, pour obtenir un pouvoir nettoyant synergique en coopération avec une protéase, le composant étant présent dans l'agent à raison de 0,018 à 0,2 % en poids, en particulier de 0,04 à 0,1 % en poids et l'agent de lavage ou de nettoyage contenant la protéase en une quantité de 2 µg à 20 mg, de préférence de 5 µg à 17,5 mg, plus préférablement de 20 µg à 15 mg et de manière tout particulièrement préférée de 50 µg à 10 mg par gramme de l'agent, le polyaminoacide étant choisi dans le groupe constitué par l'acide polyglutamique, dont l'acide γ -D-polyglutamique, l'acide L-polyglutamique et l'acide DL-polyglutamique, l'acide polyaspartique, dont l'acide β -D-polyaspartique et l'acide L-polyaspartique, la polyglutamine, dont la γ -D-polyglutamine, la L-polyglutamine et la DL-polyglutamine, et la polyasparagine, dont la β -D-polyasparagine et la L-polyasparagine.
9. Utilisation d'un composant, qui est un polyaminoacide, pour améliorer le pouvoir nettoyant d'une protéase dans un processus de lavage ou de nettoyage, le composant étant présent dans l'agent à raison de 0,018 à 0,2 % en poids, en particulier de 0,04 à 0,1 % en poids et l'agent de lavage ou de nettoyage contenant la protéase en une quantité de 2 µg à 20 mg, de préférence de 5 µg à 17,5 mg, plus préférablement de 20 µg à 15 mg et de manière tout particulièrement préférée de 50 µg à 10 mg par gramme de l'agent, le polyaminoacide étant choisi dans le groupe constitué par l'acide polyglutamique, dont l'acide γ -D-polyglutamique, l'acide L-polyglutamique et l'acide DL-polyglutamique, l'acide polyaspartique, dont l'acide β -D-polyaspartique et l'acide L-polyaspartique, la polyglutamine, dont la γ -D-polyglutamine, la L-polyglutamine et la DL-polyglutamine, et la polyasparagine, dont la β -D-polyasparagine et la L-polyasparagine.
10. Utilisation selon l'une des revendications 8 à 9, **caractérisée en ce que** le composant présente une masse moléculaire (MW) de 150 à 5×10^6 daltons, en particulier de 200 à 1×10^6 daltons, de 220 à $0,75 \times 10^6$ daltons et en particulier de 400 à $0,5 \times 10^6$ daltons.

Figur 1:

Surfactin Struktur :



IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente

- DE 1942236 A1 [0007]
- DE 1964792 A1 [0007]
- DE 2060485 A1 [0007]
- WO 9817770 A1 [0007]
- WO 9622352 A1 [0007]
- WO 2008086916 A [0015]
- WO 2007131656 A [0015] [0068]
- WO 03002711 A2 [0016]
- WO 03054177 A2 [0016]
- WO 2009021867 A [0046]
- WO 9221760 A [0068]
- WO 03057713 A [0068]

In der Beschreibung aufgeführte Nicht-Patentliteratur

- Subtilases: Subtilisin-like Proteases. **R. SIEZEN.** Subtilisin enzymes. 1996, 75-95 [0003]
- **A. G. GORNALL ; C. S. BARDAWILL ; M.M. DAVID.** *J. Biol. Chem.*, 1948, vol. 177, 751-766 [0023]
- *Beispielsweise sind Verfahren zur Bestimmung der Proteaseaktivität offenbart in Tenside*, 1970, vol. 7, 125-132 [0036]
- *J. Chem. Soc.*, 1931, 1451 [0041]
- **ANSON, M.L.** *J. Gen. Physiol.*, 1938, vol. 22, 79-89 [0042]
- **FOLIN, O. ; CIOCALTEU, V.** *J. Biol. Chem.*, 1929, vol. 73, 627 [0042]