



(11) **EP 2 787 065 A1**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
08.10.2014 Patentblatt 2014/41

(51) Int Cl.:
C11D 1/06 (2006.01) C11D 1/37 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: **14158279.1**

(22) Anmeldetag: **07.03.2014**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AL 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 RS SE SI SK SM TR**
Benannte Erstreckungsstaaten:
BA ME

- **Kottke, Ulrike**
63589 Linsengericht-Großenhausen (DE)
- **Lattich, Jürgen**
61130 Nidderau-Ostheim (DE)
- **Volk, Magdalena**
63755 Alzenau (DE)
- **Wenk, Hans Henning**
45470 Mülheim an der Ruhr (DE)
- **Cabirol, Fabien**
507740 Singapore (SG)
- **Schilling, Martin**
53121 Bonn (DE)
- **Schaffer, Steffen**
45699 Herten (DE)
- **Allef, Petra**
45128 Essen (DE)

(30) Priorität: **02.04.2013 DE 102013205755**

(71) Anmelder: **Evonik Industries AG**
45128 Essen (DE)

(72) Erfinder:
• **Kuppert, Dirk**
63739 Aschaffenburg (DE)

(54) **Waschmittelformulierung für Textilien enthaltend Rhamnolipide mit einem überwiegenden Gehalt an di-Rhamnolipiden**

(57) Gegenstand der Erfindung sind Waschmittelformulierungen für Textilien enthaltend Rhamnolipide, wobei der Gehalt an di-Rhamnolipiden überwiegt, sowie die Verwendung von bestimmten Rhamnolipid-Mischungs-
zusammensetzungen und der vorgenannten Waschmit-

telformulierungen zur Beschleunigung von Schaument-
stehung und/oder zur Schaumstabilisierung sowie die
Verwendung von Rhamnolipiden zur Verhinderung der
Vergrauung eines Textils.

EP 2 787 065 A1

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

5 **[0001]** Gegenstand der Erfindung sind Waschmittelformulierungen für Textilien enthaltend Rhamnolipide, wobei der Gehalt an di-Rhamnolipiden überwiegt, sowie die Verwendung von bestimmten Rhamnolipid-Mischungszusammensetzungen und der vorgenannten Waschmittelformulierungen zur Beschleunigung von Schaumentstehung und/oder zur Schaumstabilisierung sowie die Verwendung von Rhamnolipiden zur Verhinderung der Vergrauung eines Textils.

10 Stand der Technik

[0002] Wässrige Tensidlösungen zeigen in Abhängigkeit ihrer Zusammensetzung unterschiedlich schnellen Schaumbau und eine unterschiedliche Schaumstabilität. Schaumbildung und -zerfall werden durch die Anwesenheit von Schmutz beeinflusst. Schaumstabilität ist insbesondere beim Waschen von Wäsche bzw. Gewebe ein für den Verbraucher wichtiges Qualitätsmerkmal.

Wünschenswert sind Waschmittelformulierungen mit hoher Schaumstabilität.

[0003] Überraschend wurde gefunden, dass Rhamnolipide (RL) mit einem hohen Gehalt an di-Rhamnolipiden in Waschmittelformulierungen einen stabileren Schaum und/oder mehr Schaumbildung zeigen als Tenside nach dem Stand der Technik, insbesondere in Gegenwart von hoher Schmutzlast.

20 Beschreibung der Erfindung

[0004] Überraschenderweise wurde gefunden, dass die im Folgenden beschriebenen Formulierungen die der Erfindung gestellt Aufgabe zu lösen vermögen.

25 **[0005]** Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher Waschmittelformulierungen für Textilien enthaltend eine Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung mit einem erhöhten Anteil an di-Rhamnolipiden.

[0006] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von bestimmten Rhamnolipid-Mischungszusammensetzungen und der vorgenannten Waschmittelformulierungen zur Beschleunigung von Schaumentstehung und/oder zur Schaumstabilisierung sowie die Verwendung von Rhamnolipiden zur Verhinderung der Vergrauung eines Textils

30 **[0007]** Ein Vorteil der Erfindung ist es, dass die eingesetzten Tenside in der Waschmittelformulierung biologisch abbaubar sind.

Ein Vorteil der erfindungsgemäßen Formulierungen ist deren überragende Schaumstabilität im Wässrigen.

Noch ein Vorteil der erfindungsgemäßen Formulierungen ist deren überragendes Schaumvolumen im Wässrigen.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Formulierungen ist deren hervorragendes Anschäumverhalten.

35 Noch ein Vorteil der erfindungsgemäßen Formulierungen ist deren einfache Formulierbarkeit in beliebigen wässrigen, tensidischen Systemen.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Formulierungen ist deren gute Verdickbarkeit mit konventionellen Verdickern in Formulierungen.

Noch ein Vorteil ist ihre gute Auswaschbarkeit von Textilien.

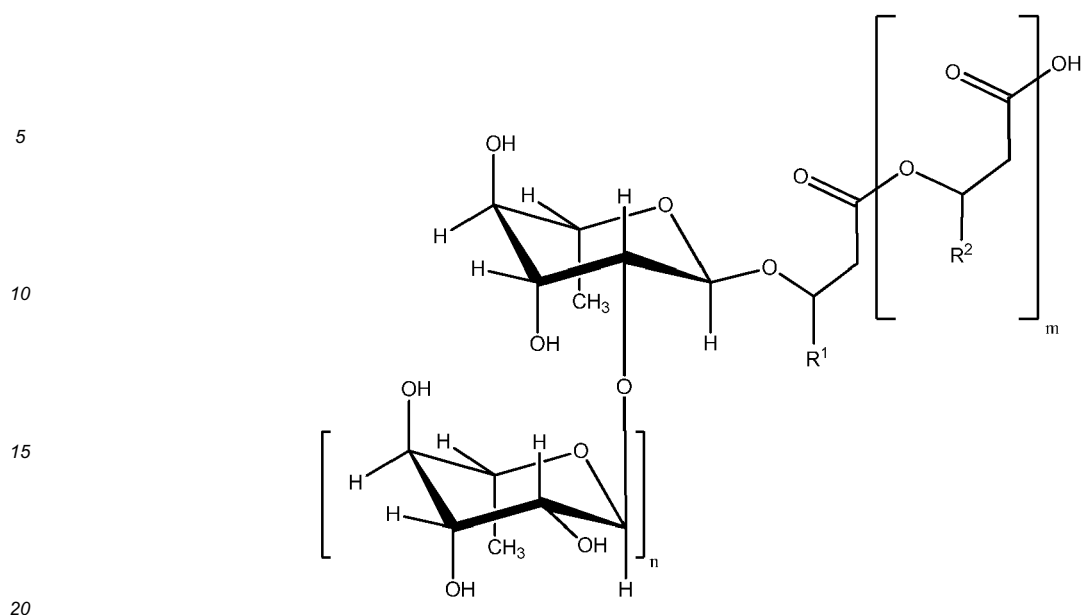
40 Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Formulierungen ist ihre Mildheit bzw. gute physiologische Verträglichkeit, insbesondere charakterisiert durch einen hohen Wert im Red Blood-Cell (RBC) Test.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Formulierungen ist, dass sie einen angenehmen Weichgriff des Textils nach dem Waschen hinterlassen.

45 **[0008]** Unter dem Begriff "Rhamnolipid" im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung werden insbesondere Verbindungen der allgemeinen Formel (I) oder deren Salze verstanden,

50

55



Formel (I)

wobei

$m = 2, 1$ oder 0 ,

$n = 1$ oder 0 ,

R^1 und R^2 = unabhängig voneinander gleicher oder verschiedener organischer Rest mit 2 bis 24, bevorzugt 5 bis 13 Kohlenstoffatomen, insbesondere gegebenenfalls verzweigter, gegebenenfalls substituierter, insbesondere hydroxy-substituierter, gegebenenfalls ungesättigter, insbesondere gegebenenfalls einfach, zweifach oder dreifach ungesättigter, Alkylrest, bevorzugt solcher ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Pentenyl, Heptenyl, Nonenyl, Undecenyl und Tridecenyl und $(CH_2)_o-CH_3$ mit $o = 1$ bis 23, bevorzugt 4 bis 12.

Unter dem Begriff "di-Rhamnolipid" im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung werden Verbindungen der allgemeinen Formel (I) oder deren Salze verstanden, bei denen $n = 1$.

Unter dem Begriff "mono-Rhamnolipid" im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung werden Verbindungen der allgemeinen Formel (I) oder deren Salze verstanden, bei denen $n = 0$.

Distinkte Rhamnolipide werden gemäß folgender Nomenklatur abgekürzt:

Unter "diRL-CXCY" werden di-Rhamnolipide der allgemeinen Formel (I) verstanden, bei denen einer der Reste R^1 und $R^2 = (CH_2)_o-CH_3$ mit $o = X-4$ und der verbleibende Rest R^1 oder $R^2 = (CH_2)_o-CH_3$ mit $o = Y-4$.

Unter "monoRL-CXCY" werden mono-Rhamnolipide der allgemeinen Formel (I) verstanden, bei denen einer der Reste R^1 und $R^2 = (CH_2)_o-CH_3$ mit $o = X-4$ und der verbleibende Rest R^1 oder $R^2 = (CH_2)_o-CH_3$ mit $o = Y-4$.

[0009] Die verwendete Nomenklatur unterscheidet somit nicht zwischen "CXCY" und "CYCX". Für Rhamnolipide mit $m=0$ wird entsprechend monoRL-CX bzw. diRL-CX verwendet. Ist einer der oben genannten Indices X und/oder Y mit „Z" versehen, so bedeutet dies, dass der jeweilige Rest R^1 und/oder $R^2 =$ ein unverzweigter, unsubstituierter Kohlenwasserstoffrest mit X-3 bzw. Y-3 Kohlenstoffatomen aufweisend Z Doppelbindungen darstellt.

[0010] Der "pH-Wert" im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ist definiert als der Wert, welcher für entsprechenden Stoff bei 25 °C nach fünf Minuten Rühren mit einer gemäß ISO 4319 (1977) kalibrierten pH-Elektrode gemessen wird.

Unter dem Begriff "wässriges" im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ist eine Zusammensetzung zu verstehen, die mindestens 5 Gew.-% Wasser, bezogen auf die betrachtete Gesamtzusammensetzung enthält.

[0011] Alle angegebenen Prozent (%) sind, wenn nicht anders angegeben, Massenprozent. Beansprucht wird somit eine Waschmittelformulierung für Textilien enthaltend eine mono- und di-Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, dass das Gewichtsverhältnis von di-Rhamnolipiden zu mono-Rhamnolipiden größer als 51:49, bevorzugt größer 75:25, besonders bevorzugt 97:3, insbesondere größer 98:2 ist.

Durch den Begriff "mono- und di-Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung" im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ist herausgestellt, dass die erfindungsgemäße Mischungszusammensetzung mono-Rhamnolipide enthält. Bevorzugt ist die erfindungsgemäße Waschmittelformulierung bei Raumtemperatur flüssig.

[0012] Erfindungsgemäß bevorzugte Waschmittelformulierung ist dadurch gekennzeichnet, dass die Rhamnolipid-

Mischungszusammensetzung

51 Gew.-% bis 95 Gew.-%, bevorzugt 70 Gew.-% bis 90 Gew.-%, besonders bevorzugt
75 Gew.-% bis 85 Gew.-%, diRL-C10C10 und
0,5 Gew.-% bis 9 Gew.-%, bevorzugt 0,5 Gew.-% bis 3 Gew.-%, besonders bevorzugt
0,5 Gew.-% bis 2 Gew.-%, monoRL-C10C10

enthält,

wobei sich die Gewichtsprozentage auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen,

[0013] Erfindungsgemäß bevorzugte Waschmittelformulierung ist dadurch gekennzeichnet, dass die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung neben den oben genannten diRL-C10C10- und monoRL-C10C10 Gehalten

0,5 Gew.-% bis 15 Gew.-%, bevorzugt 3 Gew.-% bis 12 Gew.-%, besonders bevorzugt
5 Gew.-% bis 10 Gew.-%, diRL-C10C12:1

enthält,

wobei sich die Gewichtsprozentage auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

[0014] Erfindungsgemäß bevorzugte Waschmittelformulierung ist dadurch gekennzeichnet, dass die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung neben den oben genannten diRL-C10C10- und monoRL-C10C10 Gehalten

0,5 bis 25 Gew.-%, bevorzugt 5 Gew.-% bis 15 Gew.-%, besonders bevorzugt 7 Gew.-% bis 12 Gew.-%, diRL-C10C12

enthält,

wobei sich die Gewichtsprozentage auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

[0015] Erfindungsgemäß bevorzugte Waschmittelformulierung ist dadurch gekennzeichnet, dass die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung neben den oben genannten diRL-C10C10- und monoRL-C10C10 Gehalten

0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-%, bevorzugt 0,5 Gew.-% bis 3 Gew.-%, besonders bevorzugt
0,5 Gew.-% bis 2 Gew.-%, monoRL-C10C12 und/oder, bevorzugt und
0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-%, bevorzugt 0,5 Gew.-% bis 3 Gew.-%, besonders bevorzugt
0,5 Gew.-% bis 2 Gew.-%, monoRL-C10C12:1,

enthält,

wobei sich die Gewichtsprozentage auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

[0016] Es kann vorteilhaft sein und ist daher bevorzugt, wenn die in der erfindungsgemäßen Formulierung enthaltene Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung neben den oben genannten diRL-C10C10- und monoRL-C10C10 Gehalten

0,1 Gew.-% bis 25 Gew.-%, bevorzugt 2 Gew.-% bis 10 Gew.-%, besonders bevorzugt
4 Gew.-% bis 8 Gew.-%, diRL-C8C10,

enthält,

wobei sich die Gewichtsprozentage auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

[0017] Erfindungsgemäß besonders bevorzugte Waschmittelformulierung ist dadurch gekennzeichnet, dass die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung neben den oben genannten diRL-C10C10- und monoRL-C10C10 Gehalten

0,5 Gew.-% bis 15 Gew.-%, bevorzugt 3 Gew.-% bis 12 Gew.-%, besonders bevorzugt
5 Gew.-% bis 10 Gew.-%, diRL-C10C12:1,
0,5 bis 25 Gew.-%, bevorzugt 5 Gew.-% bis 15 Gew.-%, besonders bevorzugt 7 Gew.-% bis 12 Gew.-%, diRL-C10C12,
0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-%, bevorzugt 0,5 Gew.-% bis 3 Gew.-%, besonders bevorzugt
0,5 Gew.-% bis 2 Gew.-%, monoRL-C10C12 und
0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-%, bevorzugt 0,5 Gew.-% bis 3 Gew.-%, besonders bevorzugt
0,5 Gew.-% bis 2 Gew.-%, monoRL-C10C12:1,

enthält,

wobei sich die Gewichtsprozentage auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

[0018] Es ist überdies hinaus bevorzugt, wenn die in der erfindungsgemäßen Formulierung enthaltene Rhamnolipid-

Mischungszusammensetzung Rhamnolipide der Formel monoRL-CX bzw. diRL-CX in nur kleinen Mengen enthält. Insbesondere enthält die erfindungsgemäße Mischungszusammensetzung bevorzugt

0 Gew.-% bis 5 Gew.-%, bevorzugt 0 Gew.-% bis 3 Gew.-%, besonders bevorzugt 0 Gew.-% bis 1 Gew.-%, diRLC10, wobei sich die Gewichtsprozent auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen, und unter dem Begriff "0 Gew.-%" keine nachweisbare Menge zu verstehen ist.

[0019] Es ist erfindungsgemäß bevorzugt, dass die erfindungsgemäßen Formulierungen im Wesentlichen frei von fettem Öl (bei 20 °C flüssigen Acylglycerolen) sind und somit insbesondere weniger als 0,5 Gew.-%, insbesondere weniger als 0,1 Gew.-%, besonders bevorzugt keine nachweisbaren Mengen fettes Öl bezogen auf die gesamte Mischungszusammensetzung enthalten.

[0020] Die in den erfindungsgemäßen Formulierungen enthaltenen Mischungszusammensetzungen lassen sich durch Abmischen der Reinsubstanzen herstellen, wobei die Reinsubstanzen aus herkömmlich hergestellten Rhamnolipid-Mischungen aufgereinigt werden können. Entsprechende Aufreinigungsverfahren sind beispielsweise selektive Kristallisationen und chromatographische Methoden. Entsprechende Verfahren sind in Heyd et al., Development and trends of biosurfactant analysis and purification using rhamnolipids as an example, Anal Bioanal Chem. 2008 Jul;391(5):1579-90 beschrieben.

[0021] Insbesondere die im Folgenden beschriebenen Verfahren eignen sich zur Herstellung von den in den erfindungsgemäßen Formulierungen enthaltenen Mischungszusammensetzungen.

Ein erstes Verfahren umfasst die Verfahrensschritte:

Ia) Bereitstellen einer *Pseudomonas putida* Zelle, die derart gentechnisch verändert wurde, dass sie jeweils mindestens ein Gen der Gruppe rhIA, rhIB und rhIC überexprimiert,

IIa) in Kontakt Bringen der erfindungsgemäßen Zelle mit einem Medium beinhaltend mindestens eine Kohlenstoffquelle

IIIa) Kultivieren der Zelle unter Bedingungen, die es der Zelle ermöglichen, aus der Kohlenstoffquelle Rhamnolipid zu bilden und

IVa) gegebenenfalls Isolierung der gebildeten Rhamnolipide,

dadurch gekennzeichnet, dass das Gen rhIC verglichen zu rhIB stärker, insbesondere mindestens 1,5-fach, bevorzugt mindestens 2-fach, besonders bevorzugt mindestens 10-fach stärker, überexprimiert wird.

Die relative Stärke der oben beschriebenen Überexpression lässt sich beispielsweise mit Hilfe von RT-PCR bestimmen, bei der die Menge an gebildeter mRNA für das jeweilige Gen bestimmt wird.

Eine Regulierung der Stärke der Expression kann der Fachmann gezielt beispielsweise durch die Wahl von Promotoren oder durch den Einsatz induzierbarer Promotoren in Kombination mit Menge an Induktor erreichen oder auch durch Genvervielfachungen. Ein alternatives Verfahren umfasst die Verfahrensschritte:

Ib) Bereitstellen einer *Pseudomonas putida* Zelle, die derart gentechnisch verändert wurde, dass sie jeweils mindestens ein exogenes Gen der Gruppe rhIA, rhIB und rhIC, von denen mindestens eines unter der Kontrolle eines induzierbaren Promotors steht, aufweist,

IIb) in Kontakt Bringen und Kultivieren der erfindungsgemäßen Zelle mit einem Medium beinhaltend mindestens eine Kohlenstoffquelle unter Erreichung einer Zelldichte von 1-30 g Zelltrockenmasse pro L Fermentationsbrühe, bevorzugt 2-20 g Zelltrockenmasse pro L Fermentationsbrühe, besonders bevorzugt 5-15 g Zelltrockenmasse pro L Fermentationsbrühe,

IIIb) Induzieren des mindestens einen induzierbaren Promotors und Kultivieren der Zelle unter Bedingungen, die es der Zelle ermöglichen, aus der Kohlenstoffquelle Rhamnolipid zu bilden und

IVb) gegebenenfalls Isolierung der gebildeten Rhamnolipide.

Unter dem Begriff "induzierbarer Promotor" ist im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein Promotor zu verstehen, der durch eine Veränderung des die Zelle umgebenden Mediums seine Aktivität ändert. Veränderungen können zum Beispiel Temperaturänderungen und Konzentrationsänderungen von bestimmten Substanzen umfassen.

Unter dem Begriff "Induzieren des mindestens einen induzierbaren Promotors" ist im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung zu verstehen, dass die Aktivität des induzierbaren Promotors durch eine Veränderung des die Zelle umgebenden Mediums erhöht wird.

Geeignete induzierbare Promotoren im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung sind beispielsweise Promotoren, die durch Zugabe chemischer Induktoren (etwa Laktose, IPTG, Dicyclopropylketon, Tetracyclin, Doxycyclin, Propionat, Cumat, Benzoat, Arabinose, Rhamnose, Nikotinsäure, etc.) induziert werden, die durch veränderte Umweltbedingungen (etwa auftretender Phosphat- oder Schwefelmangel, veränderte Temperaturen oder pH, etc.) induziert werden, oder die durch bestimmte physiologische Zustände (etwa bestimmte Zelldichten oder Wachstumsraten bzw. -phasen) induziert werden.

Insbesondere bevorzugt in dem Verfahren eingesetzte induzierbare Promotoren sind ausgewählt aus der Gruppe der durch Dicyclopropylketon, Tetracyclin, Doxycyclin, Propionat, Cumat, Benzoat, Phosphatmangel, Schwefelmangel oder eine verminderte Wachstumsrate induzierbaren Promotoren.

Die Gene *rhIA*, *rhIB* und *rhIC* sind in beiden oben beschriebenen Verfahren bevorzugt ausgewählt aus denen aus *P. aeruginosa*.

[0022] Bevorzugte erfindungsgemäße Formulierungen enthalten neben der Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung mindestens ein weiteres Tensid, wobei beispielsweise anionische, nichtionische, kationische und/oder amphotere Tenside eingesetzt werden können, wobei anionische Tenside bevorzugt sind.

[0023] Bevorzugt sind aus anwendungstechnischer Sicht Mischungen aus anionischen und nichtionischen Tensiden in den erfindungsgemäßen Formulierungen enthalten.

Der Gesamttensidgehalt der erfindungsgemäßen Formulierung beträgt vorzugsweise 5 bis 40 Gew.-% und besonders bevorzugt 9 bis 35 Gew.-%, bezogen auf die gesamte Formulierung.

[0024] Als nichtionische Tenside werden vorzugsweise alkoxylierte, vorteilhafterweise ethoxylierte, insbesondere primäre Alkohole mit vorzugsweise 8 bis 18 C-Atomen und durchschnittlich 1 bis 12 Mol Ethylenoxid (EO) pro Mol Alkohol eingesetzt, in denen der Alkoholrest linear oder bevorzugt in 2-Stellung methylverzweigt sein kann bzw. lineare und methylverzweigte Reste im Gemisch enthalten kann, so wie sie üblicherweise in Oxoalkoholresten vorliegen. Insbesondere sind jedoch Alkoholethoxylate mit linearen Resten aus Alkoholen nativen Ursprungs mit 12 bis 18 C-Atomen, zum Beispiel aus Kokos-, Palm-, Talgfett- oder Oleylalkohol, und durchschnittlich 2 bis 8 EO pro Mol Alkohol bevorzugt. Zu den bevorzugten ethoxylierten Alkoholen gehören beispielsweise C12-C14-Alkohole mit 3 EO, 4 EO oder 7 EO, C9-C11-Alkohol mit 7 EO, C13-C15-Alkohole mit 3 EO, 5 EO, 7 EO oder 8 EO, C12-C18-Alkohole mit 3 EO, 5 EO oder 7 EO und Mischungen aus diesen, wie Mischungen aus C12-C14-Alkohol mit 3 EO und C12-C18-Alkohol mit 7 EO. Die angegebenen Ethoxylierungsgrade stellen statistische Mittelwerte dar, die für ein spezielles Produkt eine ganze oder eine gebrochene Zahl sein können. Bevorzugte Alkoholethoxylate weisen eine eingeeengte Homologenverteilung auf. Zusätzlich zu diesen nichtionischen Tensiden können auch Fettalkohole mit mehr als 12 EO eingesetzt werden. Beispiele hierfür sind Talgfettalkohol mit 14 EO, 25 EO, 30 EO oder 40 EO. Auch nichtionische Tenside, die EO- und PO(Propylenoxid)-Gruppen zusammen im Molekül enthalten, sind einsetzbar. Hierbei können Blockcopolymere mit EO-PO-Blockeinheiten bzw. PO-EO-Blockeinheiten eingesetzt werden, aber auch EO-PO-EO-Copolymere bzw. PO-EO-PO-Copolymere.

Selbstverständlich sind auch gemischt alkoxylierte nichtionische Tenside einsetzbar, in denen EO- und PO-Einheiten nicht blockweise, sondern statistisch verteilt sind. Solche Produkte sind durch gleichzeitige Einwirkung von Ethylen- und Propylenoxid auf Fettalkohole erhältlich.

Außerdem können als weitere nichtionische Tenside auch Alkylglykoside eingesetzt werden.

Eine weitere Klasse bevorzugt eingesetzter nichtionischer Tenside, die entweder als alleiniges nichtionisches Tensid oder in Kombination mit anderen nichtionischen Tensiden eingesetzt werden, sind alkoxylierte, vorzugsweise ethoxylierte oder ethoxylierte und propoxylierte Fettsäurealkylester, vorzugsweise mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen in der Alkylkette, insbesondere Fettsäuremethylester, wie sie beispielsweise in der japanischen Patentanmeldung JP 58/217598 beschrieben sind oder die vorzugsweise nach dem in der internationalen Patentanmeldung WO-A-90/13533 beschriebenen Verfahren hergestellt werden.

Auch nichtionische Tenside vom Typ der Aminoxide, beispielsweise N-Kokosalkyl-N,N-dimethylaminoxid und N-Talgalalkyl-N,N-dihydroxyethylaminoxid, und der Fettsäurealkanolamide können geeignet sein. Die Menge dieser nichtionischen Tenside beträgt vorzugsweise nicht mehr als die der ethoxylierten Fettalkohole, insbesondere nicht mehr als die Hälfte davon.

Weitere geeignete Tenside sind Polyhydroxyfettsäureamide; bei den Polyhydroxyfettsäureamiden handelt es sich um Stoffe, die üblicherweise durch reduktive Aminierung eines reduzierenden Zuckers mit Ammoniak, einem Alkylamin oder einem Alkanolamin und nachfolgende Acylierung mit einer Fettsäure, einem Fettsäurealkylester oder einem Fettsäurechlorid erhalten werden können.

[0025] Der Gehalt an nichtionischen Tensiden beträgt in den erfindungsgemäßen Formulierungen bevorzugt 5 bis 30 Gew.-%, vorzugsweise 7 bis 20 Gew.-% und insbesondere 9 bis 15 Gew.-%, jeweils bezogen auf die gesamte Formulierung.

[0026] Als anionische Tenside werden beispielsweise solche vom Typ der Sulfonate und Sulfate eingesetzt. Als Tenside vom Sulfonat-Typ kommen dabei vorzugsweise C9-C13-Alkylbenzolsulfonate, Olefinsulfonate, d.h. Gemische aus Alken- und Hydroxyalkansulfonaten sowie Disulfonaten, wie man sie beispielsweise aus C12-C18-Monoolefinen mit end- oder innenständiger Doppelbindung durch Sulfonieren mit gasförmigem Schwefeltrioxid und anschließende alkalische oder saure Hydrolyse der Sulfonierungsprodukte erhält, in Betracht. Geeignet sind auch Alkansulfonate, die aus C12-C18-Alkanen beispielsweise durch Sulfochlorierung oder Sulfoxidation mit anschließender Hydrolyse bzw. Neutralisation gewonnen werden. Ebenso sind auch die Ester von α -Sulfofettsäuren (Estersulfonate), zum Beispiel die α -sulfonylierten Methylester der hydrierten Kokos-, Palmkern- oder Talgfettsäuren geeignet.

Weitere geeignete anionische Tenside sind sulfierte Fettsäureglycerinester. Unter Fettsäureglycerinestern sind die Mo-

no-, Di- und Triester sowie deren Gemische zu verstehen, wie sie bei der Herstellung durch Veresterung von einem Monoglycerin mit 1 bis 3 Mol Fettsäure oder bei der Umesterung von Triglyceriden mit 0,3 bis 2 Mol Glycerin erhalten werden. Bevorzugte sulfurierte Fettsäureglycerinester sind dabei die Sulfierprodukte von gesättigten Fettsäuren mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen, beispielsweise der Capronsäure, Caprylsäure, Caprinsäure, Myristinsäure, Laurinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure oder Behensäure.

Als Alk(en)ylsulfate werden die Alkali- und insbesondere die Natriumsalze der Schwefelsäurehalbester der C12-C18-Fettalkohole, beispielsweise aus Kokosfettalkohol, Talgfettalkohol, Lauryl-, Myristyl-, Cetyl- oder Stearylalkohol oder der C10-C20-Oxoalkohole und diejenigen Halbestere sekundärer Alkohole dieser Kettenlängen bevorzugt. Weiterhin bevorzugt sind Alk(en)ylsulfate der genannten Kettenlänge, welche einen synthetischen, auf petrochemischer Basis hergestellten geradkettigen Alkylrest enthalten, die ein analoges Abbauverhalten besitzen wie die adäquaten Verbindungen auf der Basis von fettchemischen Rohstoffen. Aus waschtechnischem Interesse sind die C12-C16-Alkylsulfate und C12-C18-Alkylsulfate sowie C14-C18-Alkylsulfate bevorzugt. Auch 2,3-Alkylsulfate, welche beispielsweise gemäß den US-Patentschriften 3,234,258 oder 5,075,041 hergestellt werden und als Handelsprodukte der Shell Oil Company unter dem Namen DAN® erhalten werden können, sind geeignete anionische Tenside.

Auch die Schwefelsäuremonoester der mit 1 bis 6 Mol Ethylenoxid ethoxylierten geradkettigen oder verzweigten C7-C20-Alkohole, wie 2-Methyl-verzweigte C9-C11-Alkohole mit im Durchschnitt 3,5 Mol Ethylenoxid (EO) oder C12-C18-Fettalkohole mit 1 bis 4 EO, sind geeignet. Sie werden in Reinigungsmitteln aufgrund ihres hohen Schaumverhaltens nur in relativ geringen Mengen, beispielsweise in Mengen von 1 bis 5 Gew.-%, eingesetzt.

Weitere geeignete anionische Tenside sind auch die Salze der Alkylsulfobernsteinsäure, die auch als Sulfosuccinate oder als

Sulfobernsteinsäureester bezeichnet werden und die Monoester und/oder Diester der Sulfobernsteinsäure mit Alkoholen, vorzugsweise Fettalkoholen und insbesondere ethoxylierten Fettalkoholen darstellen. Bevorzugte Sulfosuccinate enthalten C8-C18-Fettalkoholreste oder Mischungen aus diesen. Insbesondere bevorzugte Sulfosuccinate enthalten einen Fettalkoholrest, der sich von ethoxylierten Fettalkoholen ableitet. Dabei sind wiederum Sulfosuccinate, deren Fettalkohol-Reste sich von ethoxylierten Fettalkoholen mit enger Homologenverteilung ableiten, besonders bevorzugt. Ebenso ist es auch möglich, Alk(en)ylbernsteinsäure mit vorzugsweise 8 bis 18 Kohlenstoffatomen in der Alk(en)ylkette oder deren Salze einzusetzen. Insbesondere bevorzugte anionische Tenside sind Seifen. Geeignet sind gesättigte und ungesättigte Fettsäureseifen, wie die Salze der Laurinsäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, (hydrierten) Erucasäure und Behensäure sowie insbesondere aus natürlichen Fettsäuren, zum Beispiel Kokos-, Palmkern-, Olivenöl- oder Talgfettsäuren, abgeleitete Seifengemische.

Die anionischen Tenside einschließlich der Seifen können in Form ihrer Natrium-, Kalium- oder Ammoniumsalze sowie als lösliche Salze organischer Basen, wie Mono-, Di- oder Triethanolamin, vorliegen. Vorzugsweise liegen die anionischen Tenside in Form ihrer Natrium- oder Kaliumsalze, insbesondere in Form der Natriumsalze vor.

[0027] Der Gehalt an anionischen Tensiden der erfindungsgemäßen Formulierung beträgt vorzugsweise 2 bis 30 Gew.-%, vorzugsweise 4 bis 25 Gew.-% und insbesondere 5 bis 22 Gew.-% bezogen auf die gesamte Formulierung.

[0028] Als amphotere Tenside können erfindungsgemäß solche oberflächenaktiven Verbindungen eingesetzt werden, die im Molekül mindestens eine quartäre Ammoniumgruppe und mindestens eine -COO- oder -SO_3^- -Gruppe tragen. Besonders bevorzugte amphotere Tenside sind in diesem Zusammenhang Betain-Tenside wie Alkyl- oder Alkylamidopropylbetaine. Insbesondere sind hier Betaine wie die N-Alkyl-N,N-dimethylammonium-glycinate, z. B. das Kokosalkyl-dimethylammoniumglycinat, N-Acyl-aminopropyl-N,N-dimethylammoniumglycinate, z. B. das Kokosacylamino-propyldimethylammoniumglycinat, das C12-C18-Alkyl-dimethyl-acetobetain, das Kokosamidopropyl-dimethyl-acetobetain, 2-Alkyl-3-carboxymethyl-3-hydroxyethyl-imidazoline und Sulfobetaine mit jeweils 8 bis 18 C-Atomen in der Alkyl-oder Acylgruppe sowie das Kokosacylaminoethylhydroxyethylcarboxymethylglycinat bevorzugt. Ein besonders bevorzugtes zwitterionisches Tensid ist das unter der INCI-Bezeichnung Cocamidopropyl Betaine bekannte N,N-Dimethyl-N-(lauroylamidopropyl)ammoniumacetobetain.

Weitere geeignete amphotere Tenside bildet die Gruppe der Amphoacetate und Amphodiacetate, insbesondere beispielsweise Kokos- oder Laurylamphoacetate oder-diacetate, die Gruppe der Amphopropionate und Amphodipropionate sowie die Gruppe der aminosäurebasierten Tenside wie Acylglutamate, insbesondere Disodium Cocoyl Glutamate und Sodium Cocoyl Glutamate, Acylglycinate, insbesondere Cocoyl Glycinate, und Acylsarcosinate, insbesondere Ammonium Lauroyl Sarcosinate und Sodium Cocoyl Sarcosinate.

[0029] Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Waschmittelformulierungen sind dadurch gekennzeichnet, dass das Tensid ausgewählt ist aus der Gruppe der Sulfonate und Sulfate, bevorzugt der linearen Alkyl-Benzol-Sulfonate, insbesondere aus der Gruppe der C_9 - C_{13} Alkyl-Benzol-Sulfonate, ganz besonders bevorzugt Natrium-(n- C_{10} - C_{13})-Alkyl-Benzol-Sulfonat.

[0030] Zusätzlich zu den Tensiden können die Waschmittelformulierungen weitere Inhaltsstoffe enthalten, die die anwendungstechnischen und/oder ästhetischen Eigenschaften der Waschmittelformulierung weiter verbessern. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung enthalten bevorzugte Waschmittelformulierungen zusätzlich einen oder mehrere Stoffe aus der Gruppe der Gerüststoffe, Bleichmittel, Bleichaktivatoren, Enzyme, Parfüme, Parfümträger, Fluoreszenzmittel,

Farbstoffe, Schauminhibitoren, Silikonöle, Antiredepositionsmittel, optischen Aufheller, Vergrauungsinhibitoren, Einlaufverhinderer, Knitterschutzmittel, Farbübertragungsinhibitoren, antimikrobiellen Wirkstoffe, Germizide, Fungizide, Antioxidantien, Konservierungsmittel, Korrosionsinhibitoren, Antistatika, Bittermittel, Bügelhilfsmittel, Phobier- und Imprägniermittel, Quell- und Schiebefestmittel, neutrale Füllsalze sowie UV-Absorber.

[0031] Beispiele für Gerüststoffe, Builder, Bleichmittel, Bleichaktivatoren, Bleichkatalysatoren und Enzymen werden in der WO 2007/115872, Seite 22, Zeile 7 bis Seite 25, Zeile 26 beschrieben, deren diesbezüglicher expliziter Offenbarungsgehalt durch diese Bezugnahme Teil dieser Offenbarung wird. Antiredepositionsmittel, optischen Aufheller, Vergrauungsinhibitoren, Farbübertragungsinhibitoren werden beispielhaft in der WO 2007/115872 auf Seite 26, Zeile 15 bis Seite 28, Zeile 2 beschrieben, deren diesbezüglicher expliziter Offenbarungsgehalt durch diese Bezugnahme Teil dieser Offenbarung wird. Beispiele von Knitterschutzmittel, antimikrobiellen Wirkstoffe, Germizide, Fungizide, Antioxidantien, Konservierungsmittel, Antistatika, Bügelhilfsmittel, UV-Absorber werden in der WO 2007/115872 auf den Seiten 28, Zeile 14 bis Seite 30, Zeile 22 beispielhaft beschrieben, deren diesbezüglicher expliziter Offenbarungsgehalt durch diese Bezugnahme Teil dieser Offenbarung wird.

[0032] Insbesondere können die Waschmittelformulierungen zwischen 0,001 und 90, besonders bevorzugt 0,01 bis 45 Gew.-% eines oder mehrerer der hier genannten weiteren Inhaltsstoffe enthalten, wobei sich die Gew.-% auf die gesamte Waschmittelformulierung beziehen.

[0033] Die erfindungsgemäßen Waschmittelformulierungen lassen sich vorteilhaft zur Beschleunigung von Schaumentstehung und/oder zur Schaumstabilisierung verwenden. Bevorzugt werden die erfindungsgemäßen Waschmittelformulierungen zur Schaumstabilisierung verwendet, wobei diese erfindungsgemäße Verwendung insbesondere in Gegenwart von Schmutz durchgeführt wird.

Im Rahmen der vorgenannten erfindungsgemäßen Verwendung zur Beschleunigung von Schaumentstehung und/oder zur Schaumstabilisierung werden bevorzugt die Waschmittelformulierungen verwendet, die oben als bevorzugte Waschmittelformulierungen genannt sind.

[0034] Ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der in den erfindungsgemäßen Waschmittelformulierungen enthaltenen Rhamnolipid-Mischungszusammensetzungen zur Beschleunigung von Schaumentstehung und/oder zur Schaumstabilisierung. Bevorzugt werden die in den erfindungsgemäßen Waschmittelformulierungen enthaltenen Rhamnolipid-Mischungszusammensetzungen zur Schaumstabilisierung verwendet, wobei diese erfindungsgemäße Verwendung insbesondere in Gegenwart von Schmutz durchgeführt wird.

Im Rahmen der vorgenannten erfindungsgemäßen Verwendung zur Beschleunigung von Schaumentstehung und/oder zur Schaumstabilisierung werden bevorzugt die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzungen verwendet, die in den oben als bevorzugt genannten Waschmittelformulierungen enthalten sind.

[0035] Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung einer erfindungsgemäßen Waschmittelformulierung zur Verhinderung der Vergrauung eines Textils und/oder als Antiredepositionsmittel.

Im Rahmen der vorgenannten erfindungsgemäßen Verwendung zur Verhinderung der Vergrauung eines Textils und/oder als Antiredepositionsmittel werden bevorzugt die Waschmittelformulierungen verwendet, die oben als bevorzugte Waschmittelformulierungen genannt sind.

[0036] Noch ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung mindestens eines Rhamnolipides zur Verhinderung der Vergrauung eines Textils und/oder als Antiredepositionsmittel, wobei bevorzugt die in den erfindungsgemäßen Waschmittelformulierungen enthaltenen Rhamnolipid-Mischungszusammensetzungen verwendet werden. Besonders bevorzugt werden im Rahmen der vorgenannten erfindungsgemäßen Verwendung zur Verhinderung der Vergrauung eines Textils und/oder als Antiredepositionsmittel bevorzugt die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzungen verwendet, die in den oben als bevorzugt genannten Waschmittelformulierungen enthalten sind.

[0037] In den nachfolgend aufgeführten Beispielen wird die vorliegende Erfindung beispielhaft beschrieben, ohne dass die Erfindung, deren Anwendungsbreite sich aus der gesamten Beschreibung und den Ansprüchen ergibt, auf die in den Beispielen genannten Ausführungsformen beschränkt sein soll.

Beispiele:

*Beispiel 1: Herstellung von Rhamnolipiden mit *rhlABC* aus *P. aeruginosa* PAO1 in *P. putida*, wobei die Expression des für die Rhamnosyltransferase *RHIC* kodierenden Gens vielfach stärker ist, als die des für die Rhamnosyltransferase *RhIB* kodierenden Gens *rnI6**

[0038] Um Rhamnolipide mit *rhlABC* aus *P. aeruginosa* PAO1 in einem *P. putida*-Stamm herzustellen, in dem die Expression des für die Rhamnosyltransferase *RHIC* kodierenden Gens vielfach stärker erfolgt, als die des für die Rhamnosyltransferase *RhIB* kodierenden Gens *rhIB*, wird das Plasmid pBBR1 MCS2-Plac-*rhlABC*-T-Ptac-*rhIC*-T (Seq ID Nr. 1) konstruiert. Dazu wurden folgende DNA-Fragmente synthetisiert: *P. aeruginosa* PAO1-Gene *rhIA*, *rhIB* und *rhIC*, gefolgt von einem Terminator, gefolgt vom synthetischen *tac*-Promoter, gefolgt vom *P. aeruginosa* PAO1-Gene *rhIC* und einem Terminator, flankiert von einer *HindIII*- (5'-Ende) bzw. *Bsu36I*-Schnittstelle (3'-Ende) (Seq ID Nr. 2).

Die vom DNA-Synthese-Provider gelieferten Vektoren, die das synthetisierte DNA Fragment enthalten, werden mit *Hind*III und *Bsu*36I geschnitten und in den ebenfalls mit *Hind*III und *Bsu*36I geschnittenen Vektor pBBR1 MCS-2 (Seq ID 3) mittels Fast Link Ligation Kit (Epicentre Technologies; Madison, WI, USA) ligiert. Der erhaltene Zielvektor pBBR1 MCS2-Plac-rhlABC-T-Ptac-rhIC-T (pBBR1 MCS-2 mit synthetisiertem Fragment Seq ID Nr. 2) hat eine Größe von 9336 Basenpaaren.

Die Transformation von *Pseudomonas putida* KT2440 mit dem Vektor pBBR1 MCS2-Plac-rhlABC-T-Ptac-rhIC-T (Seq ID Nr. 1) erfolgt wie vorbeschrieben (Iwasaki et al. Biosci. Biotech. Biochem. 1994. 58(5):851-854). Die Plasmid-DNA von je 10 Klonen wird isoliert und analysiert. Der erhaltene, das Plasmid tragende Stamm wird *P. putida* KT2440 pBBR1 MCS2-Plac-rhlABC-T-Ptac-rhIC-T genannt.

[0039] Der rekombinante Stamm *P. putida* KT2440 pBBR1 MCS2-Plac-rhlABC-T-Ptac-rhIC-T wird auf LB-Agar-Kanamycin (50 µg/ml)-Platten kultiviert.

Zur Produktion der Rhamnolipide wird das im Folgenden als M9-Medium bezeichnete Medium verwendet. Dieses Medium besteht aus 2 % (w/v) Glukose, 0,3 % (w/v) KH_2PO_4 , 0,679 % Na_2HPO_4 , 0,05 % (w/v) NaCl, 0,2 % (w/v) NH_4Cl , 0,049 % (w/v) $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$ und 0,1 % (v/v) einer Spurenelementlösung. Diese besteht aus 1,78 % (w/v) $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,191 % (w/v) $\text{MnCl}_2 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 3,65 % (w/v) HCl, 0,187 % (w/v) $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,084 % (v/v) Na-EDTA $\times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 0,03 % (v/v) H_3BO_3 , 0,025 % (w/v) $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ und 0,47 % (w/v) $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$. Der pH-Wert des Mediums wird mit NH_4OH auf 7,4 eingestellt und das Medium folgend mittels Autoklav (121 °C, 20 min) sterilisiert. Ein Einstellen des pH-Wertes während der Kultivierung ist nicht nötig.

[0040] Zur Untersuchung der Rhamnolipidproduktion im Schüttelkolben wird zunächst eine Vorkultur angesetzt. Hierzu wird eine Kolonie eines frisch auf LB-Agar-Platte ausgestrichenen Stammes verwendet und 10 ml LB-Medium in einem 100 ml Erlenmeyerkolben beimpft. Alle rekombinanten *P. putida*-Stämme werden im LB-Medium, dem 50 µg/ml Kanamycin zugesetzt wird, kultiviert. Die Kultivierung der *P. putida*-Stämme erfolgt bei 30 °C und 200 rpm über Nacht.

Die Vorkulturen werden verwendet, um 50 ml M9-Medium (+ 50 µg/ml Kanamycin) im 250 ml Erlenmeyerkolben zu beimpfen (Start-OD₆₀₀ 0,1). Die Kulturen werden bei 200 rpm und 30 °C kultiviert. Nach 24 h wird eine Probe von 1 ml Kulturbrühe dem Kulturkolben entnommen.

Fermentation und Aufreinigung

[0041] Für die Hauptkultur kommt ebenfalls ein Mineralmedium (M9) zum Einsatz. Die Fermentation nach Animpfen mit 10 vol. % Vorkultur und Verbrauch der vorgelegten Glucose erfolgt kohlenstofflimitiert über eine Glukosezufütterung in einem 2 Liter Fermenter mit einem Arbeitsvolumen von 1,2 L. Die Glukosezufütterung erfolgt anhand des Gelöstsauerstoffsignals. Der Gelöstsauerstoff wird bei 20 % Sättigung über die Rührerdrehzahl reguliert. Der pH Wert wird über eine pH Elektrode und Zugabe von NH_4SO_4 auf 7 reguliert. Die Fermentation wird über 4 Tage bis zu einer Biotrockenmasse von 15 g/l geführt. Die Rhamnolipidkonzentration wird über HPLC ermittelt und beträgt 9,8 g/l. Nach Abtrennen der Zellen mittels Zentrifugation bei 10.000 g wird die Fermentationsbrühe durch Zugabe konzentrierter HCl auf einen pH-Wert von 4,0 eingestellt. Anschließend wird mit gleichem Volumen Ethylacetat extrahiert. Die rhamnolipidhaltige organische Phase wird abgetrennt und weiter verarbeitet. Durch Zugabe von 50 Gew %iger KOH (aq) wird der pH-Wert der Lösung auf pH 7 eingestellt. Hierbei kommt es zur Bildung zweier flüssiger Phasen. Die untere Phase enthält die von lipophilen und hydrophilen Verunreinigungen befreiten Rhamnolipide in hoher Reinheit. Die Zusammensetzung der Rhamnolipid-Mischung wird hierdurch nicht beeinflusst. Die untere Phase wird abgenommen und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Dann wird erneut Wasser zugegeben und die wässrige Rhamnolipid Lösung gefriergetrocknet. Das erhaltene Pulver wird mittels HPLC analysiert und anwendungstechnisch charakterisiert.

Quantifizierung von Rhamnolipiden

[0042] Die Probenvorbereitung für die nachfolgenden chromatographischen Analysen erfolgt folgendermaßen Mit einer Verdrängerpipette (Combitip) wird in einem 2 ml-Reaktionsgefäß 1 ml Aceton vorgelegt und das Reaktionsgefäß zur Minimierung von Verdunstung unmittelbar verschlossen. Es folgt die Zugabe von 1 ml Kulturbrühe. Nach Vortexen des Kulturbrühe/Acetongemisches wird dieses für 3 min bei 13.000 rpm abzentrifugiert, und 800 µl des Überstands in ein HPLC-Gefäß überführt.

Zum Nachweis und zur Quantifizierung von Rhamnolipiden wird ein Evaporative Light Scattering Detektor (Sedex LT-ELSD Model 85LT) benutzt. Die eigentliche Messung wird mittels Agilent Technologies 1200 Series (Santa Clara, Kalifornien) und der Zorbax SB-C8 Rapid Resolution Säule (4,6 x 150 mm, 3,5 µm, Agilent) durchgeführt. Das Injektionsvolumen beträgt 5 µl und die Laufzeit der Methode 20 min. Als mobile Phase wird wässrige 0,1 % TFA (Trifluor-Essigsäure, Lösung A) und Methanol (Lösung B) verwendet. Die Säulentemperatur beträgt 40 °C. Als Detektoren dienen der ELSD (Detektortemperatur 60 °C) und der DAD (Diodenarray, 210 nm). Der in der Methode verwendete Gradient ist:

EP 2 787 065 A1

t [min]	Lösung B vol.-%	Fluss [ml/min]
0,00	70%	1,00
15,00	100%	1,00
15,01	70%	1,00
20,00	70%	1,00

[0043] Die mit oben beschriebenen Verfahren erhaltene Rhamnolipidzusammensetzung aus *P. putida* KT2440 pBBR1 MCS2-Plac-rhlABC-T-Ptac-rhlC-T enthält:

diRL-C10C10	81 Gew.-%
diRL-C10C12	10 Gew.-%
diRL-C10C12:1	8 Gew.-%
monoRL-C10C10	1 Gew.-%

woraus ein Gewichtsverhältnis von di-Rhamnolipiden zu mono-Rhamnolipiden von 99:1 resultiert.

Beispiel 2: Anwendungstechnische Austestung - Beschreibung der Methode:

[0044] Das Rührwerk mit einer Halterung für 4 verschließbare Zylinder mit einem Volumen von 300 ml wird im Winkel von 90° platziert. Die 300 ml Messzylinder mit Verschluss sind so angeordnet, dass die Drehung der Zylinder horizontal erfolgt. Vor der eigentlichen Messung werden die Messzylinder mit der Tensidlösung benetzt. Diese Lösung wird anschließend verworfen.

In jeden Messzylinder werden möglichst schaumfrei je 60 ml zu prüfende Tensidlösung eingefüllt. Die verschlossenen Messzylinder werden in den entsprechenden Halterungen befestigt und das Mischgerät mit 20 U/min gestartet. Zeitgleich wird eine Stoppuhr betätigt. Um die Schaumhöhen in Abhängigkeit der Zeit zu messen wird nach entsprechenden Zeitabständen das Mischwerk angehalten, 30 Sekunden gewartet, und die Schaumhöhe notiert.

Soll das Schaumverhalten unter Schmutzbelastung beobachtet werden, so erfolgt die Schmutzzugabe zu definierten Zeitpunkten.

[0045] Die Konzentration des Tensids beträgt in allen Fällen 0,4 g Aktivsubstanz pro Liter Lösung.

Die Lösung wurde jeweils 2 min ohne Zugabe von Schmutz im Zylinder geschüttelt. Anschließend erfolgte die Zugabe der ersten Portion Schmutz, dann wurde weitere 10 min geschüttelt. Nach dem Ablesen der Schaumhöhe erfolgte die zweite Zugabe einer definierten Schmutzmenge und es wurden nochmals 10 min geschüttelt. Nach dem Ablesen der Schaumhöhe erfolgte die dritte Zugabe einer definierten Schmutzmenge und es wurde nochmals 10 min geschüttelt und die Schaumhöhe gemessen.

[0046] Die gemessenen Schaumhöhen stellen Mittelwerte aus 4 Einzelmessungen dar.

[0047] Als Schmutz wurde Standardschmutzgewebe SBL 2004 der Firma wfk Testgewebe GmbH aus Krefeld benutzt. Die Schmutzbelastung des Gewebes beträgt 8g Schmutz pro Gewebestück (zertifiziert von der Firma wfk Testgewebe GmbH aus Krefeld). SBL 2004 ist ein weit verbreiteter Industrieschmutzstandard, um die Waschleistung von Waschmitteln in Gegenwart von Schmutz zu untersuchen.

Die typische Zusammensetzung des Standardschmutzes ist nach Angaben der Firma wfk Testgewebe GmbH wie folgt:

- 18,4 % Olivenöl (Olio Extra Vergine di Oliva)
- 18,4 % Synthetisches Sebum nach Bey
- 9,4 % Kaolin
- 9,2 % Protein (aus Eiweißpulver)
- 8,0 % Bleach consuming agent
- 6,9 % Stärke
- 6,9 % Salz
- 6,9 % Mineralöl
- 6,9 % Lanolin
- 2,8 % Emulgator (Uniperol® Dispergiermittel Handelsname der, BASF SE)
- 2,3 % Harnstoff (synthetic)
- 2,0 % Quartz

EP 2 787 065 A1

1,8 % Calciumchlorid
0,075 % Ruß
0,025 % Eisenoxid

5 Beispiel 3: Schaumvermögen ohne Schmutzzugabe

Bedingungen:

10 [0048]

Wasserhärte: Gemessen in Grad deutscher Härte °dH, Verhältnis von Ca und Mg = 2:1 molarM
Wasser 5° dH,
0,4 g/L Aktivkonzentration an Tensid.

15

Messwerte Schaumhöhe nach angegebener Minutenzahl:

Tensid	°dH	2 Min	5 Min	10 Min	15 Min	20 Min	25 Min	30 Min
LAS	5	185	200	225	230	235	235	235
Bsp. 1	5	162	200	227	227	227	227	227
Jeneil	5	152	198	200	200	200	200	200

20

Eingesetzte Tenside:

25

[0049] LAS = MARLON ARL® der Firma Sasol, Natrium-(n-C₁₀-C₁₃)-alkylbenzolsulphonat mit einem Aktivgehalt von 80 Gew.-%, ist ein bekanntes, stark schäumendes Anionentensid, welches breite Verwendung in Waschmittelformulierungen findet.

Jeneil: Kommerzielle Probe mit einem hohen mono-Rhamnolipid-Anteil

30

[0050] Die Zusammensetzung des Beispiels 1 zeigt ein etwas langsames Anschäumverhalten, erreicht aber nach 10 min ein ähnlich gutes Niveau, wie das Anionentensid LAS. Jeneil mit seinem hohen monoRL Anteil und geringem diRL Anteil zeigt ein langsames Anschäumverhalten als Beispiel 1, welches einen geringen monoRL Anteil und einen hohen diRL Anteil aufweist, und erreicht am Ende auch nur ein deutlich kleineres Schaumniveau als LAS oder das Beispiel 1.

35

Beispiel 4: Schaumverhalten in Gegenwart von Schmutz:

[0051] Bei dreimaliger Zugabe (vgl. Beispiel 2) von je 76 mg Schmutz in einen Zylinder zeigt die Zusammensetzung des Beispiels 1 im Vergleich zu LAS nach 15 min eine etwas höhere Schaumbildung als LAS. Nach der dritten Schmutzzugabe (nach 20 min) ist die Schaumhöhe immer noch stabil und deutlich höher als bei LAS. Die kommerzielle Probe von Jeneil zeigt bereits ohne Schmutzzugabe ein verringertes Anschäumverhalten als LAS oder die Zusammensetzung des Beispiels 1 (= Schaumhöhe bei 2 min)

40

Messwerte Schaumhöhe nach angegebener Minutenzahl:

Tensid	°dH	2 Min	5 Min	10 Min	15 Min	20 Min	25 Min	30 Min
LAS	5	165	20	18	9	7	4	4
Bsp. 1	5	162	17	17	10	10	10	10
Jeneil	5	132	20	20	10	10	10	10

45

50

Beispiel 5: Schaumverhalten von Mischungen von LAS und Rhamnolipiden:

[0052] Schmutzbelastung: 3 x 76 mg bei 0,4 g/L Aktivsubstanz Tensid. Es wurden Mischungen von LAS und Zusammensetzung des Beispiels 1 in den angegebenen Gewichtsverhältnissen eingesetzt.

55

EP 2 787 065 A1

Messwerte Schaumhöhe nach angegebener Minutenzahl:

Tensid	°dH	2 Min	5 Min	10 Min	15 Min
LAS	5	165	20	18	9
Bsp. 1	5	162	17	17	10
LAS/Bsp. 1 75:25	5	167	20	18	10
LAS/Bsp. 1 50:50	5	193	34	22	12
LAS/Bsp. 1 25:75	5	182	41	25	12

[0053] Ohne Schmutzzugabe im Anschäumverhalten, d. h. im Aufbau von Schaum, zeigen Mischungen von LAS und der Zusammensetzung des Beispiels 1 eine deutlich höheres Schaumvolumen als die jeweilige Komponente alleine. Nach der ersten Schmutzzugabe (bei t = 2 min) zeigen die Mischungen von LAS und der Zusammensetzung des Beispiels 1 im Verhältnis 50:50 (w/w) und 25:75 (w/w) ein deutlich höheres Schaumvolumen und eine verstärkt Schaumstabilität als die jeweilige Komponente alleine. Es konnte damit gezeigt werden, dass Mischungen von LAS und Rhamnolipiden sich im Schaumverhalten positiv synergistisch verhalten.

Beispiel 6: Waschleistung

[0054] Die Wirksamkeit der Fleckentfernung wird in einem Liniwaschgerät (Prinzip: geschlossene Metallgefäße, die in einem temperierten Wasserbad um eine horizontale Achse bewegt werden) an verschiedenen, künstlich angeschmutzten Testgeweben ermittelt.

Verwendete Schmutzarten (flächig angeschmutztes Baumwollgewebe):

Anschmutzung	Hersteller / Lieferant	Bestellnr.
Soja	wfk	10080
Curry	wfk	10075
Ruß	EMPA	114
Hautfett	wfk	10013
Milch/Kakao	wfk	10017
wfk = wfk Testgewebe GmbH, Krefeld EMPA = Eidgenössische Materialprüfanstalt		

[0055] Mit einem Spektralphotometer der Marke Datacolor Elrepho SF450 mit Auswertesoftware ColorTools wird die Reflexion der Testgewebe vor und nach dem Waschen gemessen. Dabei werden unter Zuhilfenahme der CIE-Lab Farbraumklassifikation die Helligkeit L^* , der Wert a^* auf der rot - grün Farbachse und der Wert b^* auf der gelb- blau Farbachse vor und nach dem Waschen gemessen. Die Änderung des Farbwertes (ΔE -Wert) ist dabei ein Maß für den erzielten Reinigungseffekt.

Der ΔE -Wert ist definiert als und wird errechnet, wobei die Errechnung automatisch über die Auswertesoftware ColorTools erfolgt, über folgende Formel

$$\Delta E = \sqrt{((\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2)}$$

[0056] d.h. je besser die Schmutzentfernung ist, desto größer wird der ΔE -Wert.

Für die Effizienz der Fleckentfernung kann folgende Einteilung verwendet werden:

ΔE -Wert	Beschreibung
>2	Visuell feststellbarer Verringerung der Verschmutzung

EP 2 787 065 A1

(fortgesetzt)

ΔE -Wert	Beschreibung
4-10	Mittelmäßige Fleckentfernung
10-20	Signifikante Fleckentfernung
>20	Vollständige Fleckentfernung

[0057] Die Bedingungen der Waschversuche waren wie folgt:

Waschflotte:	Zusammensetzung vgl. Tabelle unten
Wasserhärte:	16 °dH
Flottenvolumen:	200 ml
Waschbehälter:	500 ml
Gewebebelastung pro Waschbehälter:	3 Anschmutzungen einer Sorte (10 x 10 cm) und 1 weißes Baumwollgewebe (10 x 20 cm). Die Größe der Lappchen sollte so angepasst werden, dass sie zusammen mit dem weißen Baumwollgewebe etwa 10 g wiegen. (Flottenverhältnis 1:20)
Waschmechanik:	10 Stahlkugeln Ø 6 mm
Waschtemperatur:	25°C
Waschzeit:	30 min
Spülen:	3 x 30 s mit Leitungswasser (ca. 5° dH)

[0058] Um gesicherte Messergebnisse zu erhalten, werden die Waschgänge mit jeder Waschmittelformulierung an jeder Anschmutzung 3x durchgeführt. D.h. es werden pro Waschmittelformulierung 9 Testgewebe jeder Schmutz-Sorte gewaschen.

Waschmittelformulierung A:

	Konzentration Gew.-% (100 % aktiv Basis)
Bsp. 1	37,60
Glycerin	5
Propylenglykol	9
Triethanolamin	11,05
Zitronensäure	1,71
Wasser	Rest

[0059] Die Waschmittelformulierungen wurden mit Natronlauge auf pH 8.2 eingestellt. Als Vergleich wurde ein käufliches Persil® Universal Gel der Firma Henkel verwendet. Persil Universal Gel wurde nach Dosierungsempfehlung 40 ml/ 10L eingesetzt. Bei der Waschmittelformulierung A betrug die Gesamttensidkonzentration in der Waschflotte 0,5 g/L.

Resultate der Fleckentfernung:

	ΔE -Werte				
Fleck	Soja	Curry	Ruß	Hautfett	Milch/Kakao
Persil®	23,98	3,7	3,97	4,57	13,11
A	24,69	3,34	3,48	3,67	11,14

[0060] Eine Waschmittelformulierung enthaltend als wirksames Tensid ausschließlich eine Zusammensetzung des

Beispiels 1 ist in Bezug auf die Fleckentfernung von Soja, Curry, Ruß und Hautfett genau so effektiv wie ein kommerzielles Flüssigwaschmittel auf der Basis eines optimierten Tensid-Verhältnisses von LAS, weiteren Anionentensiden und nicht-ionischen Tensiden.

5 Beispiel 7: Vergrauungsinhibierung / Antiredeposition von Schmutz

Messung der Vergrauung bzw. Antiredeposition von Schmutz:

10 **[0061]** Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Reinigung von Textilien ist, dass einmal in der Waschflotte dispergierter, gelöster oder emulgierter Schmutz sich nicht wieder auf sauberes Gewebe ablagert. Dieser unerwünschte Ablagerungseffekt ist als Vergrauung bekannt.

Um diesen Effekt messen zu können, wurde bei allen Waschversuchen ein sauberer weißer Baumwollappen mitgewaschen (s.o.) und anschließend ebenfalls der ΔE -Wert von diesem gemessen. In diesem Fall liefert der reziproke ΔE -Wert ein Maß für die Vergrauung; je niedriger der reziproke ΔE -Wert desto geringer die Vergrauung.

15

	1/ ΔE -Werte				
Fleck	Soja	Curry	Ruß	Hautfett	Milch/Kakao
Persil®	0,14	0,12	0,18	0,28	0,30
A	0,15	0,10	0,15	0,35	0,22

20

25 **[0062]** Es ist deutlich zu sehen, dass Rhamnolipide der spezifischen Zusammensetzung des Beispiels 1 einen geringeren Vergrauungseffekt zeigen bei Curry, Ruß, Milch/Kakao als das kommerzielle, auf LAS-Basis aufgebaute Flüssigwaschmittel und somit als Antiredepositionsmittel wirken.

Patentansprüche

30 **1.** Waschmittelformulierung für Textilien enthaltend eine mono- und di-Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Gewichtsverhältnis von di-Rhamnolipiden zu mono-Rhamnolipiden größer als 51:49, bevorzugt größer 97:3, besonders bevorzugt größer 98:2 ist.

35 **2.** Waschmittelformulierung gemäß Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung

51 Gew.-% bis 95 Gew.-% diRL-C10C10 und
0,5 Gew.-% bis 9 Gew.-% monoRL-C10C10

40

enthält,
wobei sich die Gewichtsprozente auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen,

3. Waschmittelformulierung gemäß Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung

45

0,5 Gew.-% bis 15 Gew.-% diRL-C10C12:1

enthält,
wobei sich die Gewichtsprozente auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

50

4. Waschmittelformulierung gemäß Anspruch 2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung

0,5 bis 25 Gew.-% diRL-C10C12

55

enthält,
wobei sich die Gewichtsprozente auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

5. Waschmittelformulierung gemäß mindestens einem der Ansprüche 2 bis 4, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung

0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-% monoRL-C10C12 und/oder, bevorzugt und
0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-% monoRL-C10C12:1,

enthält,
wobei sich die Gewichtsprozente auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

6. Waschmittelformulierung gemäß mindestens einem der Ansprüche 2 bis 5, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung

0,5 Gew.-% bis 15 Gew.-% diRL-C10C12:1,
0,5 bis 25 Gew.-% diRL-C10C12,
0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-% monoRL-C10C12 und
0,1 Gew.-% bis 5 Gew.-% monoRL-C10C12:1,

enthält,
wobei sich die Gewichtsprozente auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

7. Waschmittelformulierung gemäß mindestens einem der Ansprüche 2 bis 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung

0 Gew.-% bis 5 Gew.-% diRLC10

enthält,
wobei sich die Gewichtsprozente auf die Summe aller enthaltenen Rhamnolipide beziehen.

8. Waschmittelformulierung gemäß mindestens einem der vorherigen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** sie zusätzlich mindestens ein Tensid enthält.

9. Waschmittelformulierung gemäß Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Tensid ausgewählt ist aus der Gruppe umfassend:

anionische Tenside, kationische Tenside, nichtionische Tenside und amphotere Tenside, wobei anionische Tenside bevorzugt sind.

10. Waschmittelformulierung gemäß Anspruch 8 oder 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** das Tensid ausgewählt ist aus der Gruppe der Sulfonate und Sulfate, bevorzugt der linearen Alkyl-Benzol-Sulfonate, insbesondere aus der Gruppe der C₉-C₁₃ Alkyl-Benzol-Sulfonate, ganz besonders bevorzugt Natrium-(n-C₁₀-C₁₃)-Alkyl-Benzol-Sulfonat.

11. Verwendung einer Waschmittelformulierung gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Beschleunigung von Schaumentstehung und/oder zur Schaumstabilisierung

12. Verwendung einer Rhamnolipid-Mischungszusammensetzung wie in mindestens einem der Ansprüche 1 bis 7 benannt zur Beschleunigung von Schaumentstehung und/oder zur Schaumstabilisierung.

13. Verwendung einer Waschmittelformulierung gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Verhinderung der Vergrauung eines Textils und/oder zur Verwendung als Antiredepositionsmittel.

14. Verwendung mindestens eines Rhamnolipides zur Verhinderung der Vergrauung eines Textils und/oder zur Verwendung als Antiredepositionsmittel.



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 14 15 8279

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	WO 2012/010406 A1 (UNILEVER PLC [GB]; UNILEVER NV [NL]; UNILEVER HINDUSTAN [IN]) 26. Januar 2012 (2012-01-26) * Seite 10; Tabellen *	1-7	INV. C11D1/06 C11D1/37
X	EP 2 410 039 A1 (UNILEVER PLC [GB]) 25. Januar 2012 (2012-01-25) * Ansprüche; Tabellen *	1-10,13,14	
X	WO 2013/037643 A1 (UNILEVER PLC [GB]; UNILEVER NV [NL]; UNILEVER HINDUSTAN [IN]) 21. März 2013 (2013-03-21) * Ansprüche; Beispiele *	1-14	
X	EP 1 445 302 A1 (ECOVER BELGIUM [BE]) 11. August 2004 (2004-08-11) * Ansprüche; Beispiele 1-5 *	1-14	
A	HENNING K: "Natürliche Inhaltsstoffe für Wasch- und Reinigungsmittel durch Biotechnologie", SOFW-JOURNAL SEIFEN, ÖLE, FETTE, WACHSE, VERLAG FÜR CHEMISCHE INDUSTRIE, AUGSBURG, DE, Bd. 139, Nr. 1-2, 1. Januar 2013 (2013-01-01), Seiten 47-48,50, XP001580129, ISSN: 0942-7694 * Seite 48 *	1-14	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
			C11D
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort München		Abschlußdatum der Recherche 13. Juni 2014	Prüfer Pfannenstein, Heide
KATEGORIE DER GENANNTE DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 14 15 8279

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

13-06-2014

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2012010406 A1	26-01-2012	CN 103052704 A EP 2596087 A1 WO 2012010406 A1	17-04-2013 29-05-2013 26-01-2012
EP 2410039 A1	25-01-2012	KEINE	
WO 2013037643 A1	21-03-2013	KEINE	
EP 1445302 A1	11-08-2004	AT 328989 T DE 60305861 T2 DK 1445302 T3 EP 1445302 A1 ES 2266767 T3 PT 1445302 E US 2004152613 A1	15-06-2006 04-01-2007 09-10-2006 11-08-2004 01-03-2007 31-10-2006 05-08-2004

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

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

- JP 58217598 A [0024]
- WO 9013533 A [0024]
- US 3234258 A [0026]
- US 5075041 A [0026]
- WO 2007115872 A [0031]

In der Beschreibung aufgeführte Nicht-Patentliteratur

- **HEYD et al.** Development and trends of biosurfactant analysis and purification using rhamnolipids as an example. *Anal Bioanal Chem.*, Juli 2008, vol. 391 (5), 1579-90 [0020]
- **IWASAKI et al.** *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1994, vol. 58 (5), 851-854 [0038]