



(11)

EP 3 083 923 B1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des Hinweises auf die Patenterteilung:
06.02.2019 Patentblatt 2019/06

(51) Int Cl.:
C11D 3/386 ^(2006.01) **C11D 11/00** ^(2006.01)

(21) Anmeldenummer: **14809627.4**

(86) Internationale Anmeldenummer:
PCT/EP2014/076874

(22) Anmeldetag: **08.12.2014**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:
WO 2015/091053 (25.06.2015 Gazette 2015/25)

(54) **WASCH- ODER REINIGUNGSMITTEL MIT REDUZIERTEM TENSIDGEGHALT**

WASHING OR CLEANING PRODUCT WITH REDUCED SURFACTANT CONTENT

LESSIVE OU AGENT NETTOYANT PRÉSENTANT UNE TENEUR RÉDUITE EN TENSIOACTIFS

(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

(30) Priorität: **20.12.2013 DE 102013226835**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
26.10.2016 Patentblatt 2016/43

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

(72) Erfinder:
• **STEHR, Regina**
41468 Neuss (DE)
• **WERNER, Helga**
41569 Rommerskirchen (DE)

• **WATTEBLED, Carine**
40589 Düsseldorf (DE)

(56) Entgegenhaltungen:
WO-A1-2012/028483 WO-A1-2013/165725
US-A1- 2003 203 466

• **"A guide to Novozymes household care",**
INTERNET CITATION, 29. August 2013
(2013-08-29), XP002735833, Gefunden im
Internet:
URL:https://web.archive.org/web/2013082912
3603/http://novozymes.com/en/solutions/hou
sehold-care/Dishwashing/soil-removal/Docum
ents/FINAL-Mini-guide-Household-Care.pdf
[gefunden am 2015-02-11]

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents im Europäischen Patentblatt kann jedermann nach Maßgabe der Ausführungsordnung beim Europäischen Patentamt gegen dieses Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

EP 3 083 923 B1

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft die Reinigung und Pflege von Oberflächen, insbesondere von Textilien, sowie die Bereitstellung flüssiger Zusammensetzungen für diesen Zweck.

[0002] Zur Gewährleistung einer zufriedenstellenden Reinigungsleistung enthalten konventionelle Wasch- und Reinigungsmittel üblicherweise einen hohen Anteil an Tensiden. Mit Hilfe der Tenside wird der Schmutz von der zu reinigenden Oberfläche abgelöst und in der Waschflotte dispergiert. Es ist insbesondere aus ökologischen Gründen wünschenswert, den Tensidgehalt in Wasch- oder Reinigungsmitteln zu reduzieren. Die Reinigungsleistung soll sich jedoch trotz Verringerung der Tensidmenge nicht verschlechtern.

[0003] Während des Waschvorgangs kann sich der von den Textilien entfernte Schmutz oder die aus den Textilien herausgelösten Farbpigmente aus dem Reinigungsmedium der Flotte heraus wieder an die in der Flotte befindlichen Textilien anlagern. Dieser Vorgang ist dem Fachmann unter Redeposition bekannt. Insbesondere nach mehreren Waschzyklen ist eine Vergrauung heller und insbesondere weißer Wäsche mit bloßem Auge feststellbar. Auch die Verfärbung und/oder Vergrauung farbiger Textilien kann beobachtet werden.

[0004] Um die Wiederanlagerung von Schmutz und Farbpigmenten an das Textil zu verhindern, werden während des Reinigungsvorganges neben Tensiden einerseits sogenannte schmutzablösende Polymere (SRP = Soil Release Polymers) als Waschkraftverstärker und/oder andererseits Farbübertragungsinhibitoren als Farbfänger (DTI = Dye Transfer Inhibitor) in der Reinigungsflotte eingesetzt.

[0005] Zur visuellen Verstärkung des Eindrucks weißer Wäsche werden den Wasch- oder Reinigungsmitteln zusätzlich oftmals sogenannte optische Aufheller zugesetzt. Insbesondere in flüssigen Waschmitteln lassen sich die Farbfänger und optischen Aufheller gemeinsam nicht ohne Weiteres stabil einarbeiten. Meist bildet sich nach einer Lagerzeit, insbesondere bei Zusammensetzungen mit stark basischem pH-Wert, ein Niederschlag.

[0006] Die Anmelderin hat es sich zur Aufgabe gemacht, flüssige Zusammensetzungen (insbesondere Wasch- oder Reinigungszusammensetzungen für Textilien) bereitzustellen, die einen reduzierten Gehalt an Tensid besitzen und dennoch eine hervorragende Waschkraft aufweisen. Insbesondere soll zusätzlich die Vergrauung von Textilien verhindert oder nahezu komplett eingedämmt werden. Weiße Wäsche soll auch ohne Zusatz eines konventionellen optischen Aufhellers ein wahrnehmbar verstärktes und über die zu reinigende Oberfläche homogen erscheinendes Weiß erhalten.

[0007] Ein erster Gegenstand der Erfindung ist eine flüssige Zusammensetzung, insbesondere für die Wäsche oder Reinigung von Textilien, enthaltend

- (a) Wasser,
- (b) mindestens ein Tensid,
- (c) mindestens eine Lipase
- (d) mindestens eine Mannanase,
- (e) mindestens eine α -Amylase,

mit der Maßgabe, dass - auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung bezogen - die Gesamtmenge an Tensid zwischen 0,1 und 13 Gew.-%, bevorzugt von 3,0 bis 10,0 Gew.-%, beträgt, und bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung Enzym mit Proteaseaktivität in einer Gesamtmenge von 0 bis 0,0005 Gew.-% enthalten ist.

[0008] Im Sinne der Erfindung gilt für die Definition eines Zahlenbereichs, welcher "zwischen" zwei Bereichsgrenzen liegen soll, dem allgemeinen Sprachgebrauch folgend, dass die Bereichsgrenzen nicht mit eingeschlossen sind. Zahlenbereiche, die von einer Bereichsgrenze bis zu einer anderen Bereichsgrenze definiert sind, schließen die Bereichsgrenzen mit ein.

[0009] Die erfindungsgemäße Zusammensetzung ist bei 20 °C flüssig.

[0010] Als ersten Inhaltsstoff enthält die erfindungsgemäße Zusammensetzung Wasser. Erfindungsgemäß bevorzugte Zusammensetzungen enthalten Wasser in einer Menge von 2 bis 90 Gew.-%, insbesondere von 5 bis 80 Gew.-%, jeweils bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung.

[0011] Dabei ist es bevorzugt, dass das Waschmittel mehr als 5 Gew.-%, bevorzugt mehr als 15 Gew.-% und insbesondere bevorzugt mehr als 25 Gew.-%, jeweils bezogen auf die Gesamtmenge an Waschmittel, Wasser enthält. Alternativ kann es sich bei den Waschmitteln um wasserarme Waschmittel handeln, wobei der Gehalt an Wasser in einer bevorzugten Ausführungsform weniger als 10 Gew.-% und mehr bevorzugt weniger als 8 Gew.-%, jeweils bezogen auf das gesamte flüssige Waschmittel, beträgt. Wasserarme flüssige Zusammensetzungen werden erfindungsgemäß bevorzugt in wasserlösliche Folien konfektioniert.

[0012] Daneben können dem Waschmittel nichtwässrige Lösungsmittel zugesetzt werden. Geeignete nichtwässrige Lösungsmittel umfassen ein- oder mehrwertige Alkohole, Alkanolamine oder Glykolether, sofern sie im angegebenen Konzentrationsbereich mit Wasser mischbar sind. Vorzugsweise werden die Lösungsmittel ausgewählt aus Ethanol, n-Propanol, i-Propanol, Butanolen, Glykol, Propandiol, Butandiol, Methylpropandiol, Glycerin, Diglykol, Propyldiglycol, Butyldiglykol, Hexylenglycol, Ethylenglykolmethylether, Ethylenglykolethylether, Ethylenglykolpropylether, Ethylengly-

kolmono-n-butylether, Diethylenglykolmethylether, Diethylenglykolethylether, Propylenglykolmethylether, Propylenglykolethylether, Propylenglykolpropylether, Dipropylenglykolmonomethylether, Dipropylenglykolmonoethylether, Methoxytriglykol, Ethoxytriglykol, Butoxytriglykol, 1-Butoxyethoxy-2-propanol, 3-Methyl-3-methoxybutanol, Propylen-glykol-t-butylether, Di-n-octylether sowie Mischungen dieser Lösungsmittel. Es ist allerdings bevorzugt, dass die erfindungsgemäße Zusammensetzung einen Alkohol, insbesondere Ethanol und/oder Glycerin, in Mengen von 0,5 und 5 Gew.-%, bezogen auf die gesamte Zusammensetzung enthält.

[0013] Zur Entfaltung einer Reinigungs- oder Waschleistung enthalten die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen mindestens ein Tensid, besonders bevorzugt eine Mischung mehrerer Tenside aus unterschiedlichen Stoffklassen.

[0014] Dabei ist es für die Erfindung wesentlich, dass die Gesamtmenge an Tensid zwischen 0,1 und 13 Gew.-%, bevorzugt von 2,5 bis 13 Gew.-%, besonders bevorzugt von 6,0 bis 11,0 Gew.-% und ganz besonders bevorzugt von 3,0 bis 10,0 Gew.-%, beträgt.

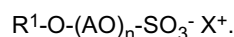
[0015] Als Tensid wird erfindungsgemäß bevorzugt mindestens ein anionisches Tensid eingesetzt.

[0016] Als anionische Tenside eignen sich in den Zusammensetzungen alle anionischen oberflächenaktiven Stoffe. Diese sind gekennzeichnet durch eine wasserlöslich machende, anionische Gruppe wie z.B. eine Carboxylat-, Sulfat-, Sulfonat- oder Phosphat-Gruppe und eine lipophile Alkylgruppe mit etwa 8 bis 30 C-Atomen. Zusätzlich können im Molekül Glykol- oder Polyglykolether-Gruppen, Ester-, Ether- und Amidgruppen sowie Hydroxylgruppen enthalten sein. Geeignete anionische Tenside liegen vorzugsweise in Form der Natrium-, Kalium- und Ammoniumsowie der Mono-, Di- und Trialkanolammoniumsalze mit 2 bis 4 C-Atomen in der Alkanolgruppe vor.

[0017] Bevorzugte Zusammensetzungen enthalten auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung bezogen anionisches Tensid in einer Gesamtmenge von 0,1 bis 10,0 Gew.-%, bevorzugt von 2,0 bis 9,0 Gew.-%, besonders bevorzugt von 4,0 bis 7,0 Gew.-%. Sollten zusätzlich weitere Tenside enthalten sein, ist die Menge der weiteren Tenside und die Menge der anionischen Tenside so zu wählen, dass die zuvor definierte Gesamtmenge an Tensid eingehalten wird und optional bevorzugt die Gesamtmenge an anionischen Tensiden innerhalb eines der zuvor als bevorzugt definierten Mengenbereiche liegt.

[0018] Bevorzugte anionische Tenside in den Zusammensetzungen sind Alkylsulfate, Alkylpolyglykolethersulfate und Ethercarbonsäuren, jeweils mit 10 bis 18 C-Atomen in der Alkylgruppe und bis zu 12 Glykolethergruppen im Molekül.

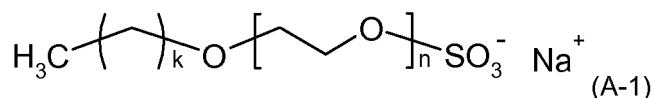
[0019] Bevorzugte erfindungsgemäß eingesetzte Zusammensetzungen enthalten mindestens ein Tensid der Formel



[0020] In dieser Formel steht R^1 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkyl-, Aryl- oder Alkylarylrest, vorzugsweise für einen linearen, unsubstituierten Alkylrest, besonders bevorzugt für einen Fettalkoholrest. Bevorzugte Reste R^1 sind ausgewählt aus Decyl-, Undecyl-, Dodecyl-, Tridecyl-, Tetradecyl-, Pentadecyl-, Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Nonadecyl-, Eicosylresten und deren Mischungen, wobei die Vertreter mit gerader Anzahl an C-Atomen bevorzugt sind. Besonders bevorzugte Reste R^1 sind abgeleitet von C_{12} - C_{18} -Fettalkoholen, beispielsweise von Kokosfettalkohol, Talgfettalkohol, Lauryl-, Myristyl-, Cetyl- oder Stearylalkohol oder von C_{10} - C_{20} -Oxoalkoholen.

[0021] AO steht für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung, vorzugsweise für eine Ethylenoxidgruppierung. Der Index n steht für eine ganze Zahl von 1 bis 50, vorzugsweise von 1 bis 20 und insbesondere von 2 bis 10. Ganz besonders bevorzugt steht n für die Zahlen 2, 3, 4, 5, 6, 7 oder 8. X steht für ein einwertiges Kation oder den n-ten Teil eines n-wertigen Kations, bevorzugt sind dabei die Alkalimetallionen und darunter Na^+ oder K^+ , wobei Na^+ äußerst bevorzugt ist. Weitere Kationen X^+ können ausgewählt sein aus NH_4^+ , $\frac{1}{2} Zn^{2+}$, $\frac{1}{2} Mg^{2+}$, $\frac{1}{2} Ca^{2+}$, $\frac{1}{2} Mn^{2+}$, und deren Mischungen.

[0022] Zusammenfassend enthalten besonders bevorzugte Zusammensetzungen mindestens ein anionisches Tensid, ausgewählt aus Fettalkoholethersulfaten der Formel A-1



mit $k = 11$ bis 19, $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 8. Ganz besonders bevorzugte Vertreter sind $Na-C_{12-14}$ Fettalkoholethersulfate mit 2 EO ($k = 11-13$, $n = 2$ in Formel A-1).

[0023] Bevorzugte Zusammensetzungen enthalten bezogen auf die Gesamtmenge der Zusammensetzung 0,1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise 1,0 bis 7,5 Gew.-%, weiter bevorzugt 2,0 bis 4,0 Gew.-% Fettalkoholethersulfat(e) (jeweils insbesondere der Formel A1). Sollten zusätzlich weitere Tenside enthalten sein, ist die Menge der eingesetzten Fettalkoholethersulfat(e) derart innerhalb der dafür bevorzugten Mengenbereiche (*vide supra*) zu wählen, dass - auf jeden Fall die zuvor definierte Gesamtmenge an Tensid eingehalten wird und

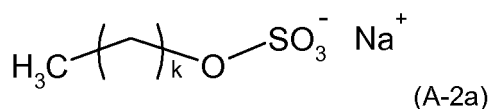
- optional bevorzugt die als bevorzugt definierte Gesamtmenge an anionischen Tensiden eingehalten wird.

[0024] Weitere bevorzugte Zusammensetzungen enthalten zusätzlich oder alternativ (insbesondere zusätzlich) mindestens ein Tensid der Formel (A-2)



[0025] In dieser Formel steht R^3 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkyl-, Aryl- oder Alkylarylrest und die Gruppierung -A- für -O- oder eine chemische Bindung. In anderen Worten lassen sich durch die vorstehende Formel Sulfat- ($A = O$) oder Sulfonat- ($A =$ chemische Bindung) -tenside beschreiben. In Abhängigkeit von der Wahl der Gruppierung A sind bestimmte Reste R^3 bevorzugt. Bei den Sulfattensiden ($A = O$) steht R^3 vorzugsweise für einen linearen, unsubstituierten Alkylrest, besonders bevorzugt für einen Fettalkoholrest. Bevorzugte Reste R^1 sind ausgewählt aus Decyl-, Undecyl-, Dodecyl-, Tridecyl-, Tetradecyl-, Pentadecyl-, Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Nonadecyl-, Eicosylresten und deren Mischungen, wobei die Vertreter mit gerader Anzahl an C-Atomen bevorzugt sind. Besonders bevorzugte Reste R^1 sind abgeleitet von C_{12} - C_{18} -Fettalkoholen, beispielsweise von Kokosfettalkohol, Talgfettalkohol, Lauryl-, Myristyl-, Cetyl- oder Stearylalkohol oder von C_{10} - C_{20} -Oxoalkoholen. Y steht für ein einwertiges Kation oder den n-ten Teil eines n-wertigen Kations, bevorzugt sind dabei die Alkalimetallionen und darunter Na^+ oder K^+ , wobei Na^+ äußerst bevorzugt ist. Weitere Kationen Y^+ können ausgewählt sein aus NH_4^+ , $\frac{1}{2} Zn^{2+}$, $\frac{1}{2} Mg^{2+}$, $\frac{1}{2} Ca^{2+}$, $\frac{1}{2} Mn^{2+}$, und deren Mischungen.

[0026] Solche besonders bevorzugten Tenside sind ausgewählt aus Fettalkoholsulfaten der Formel A-2a



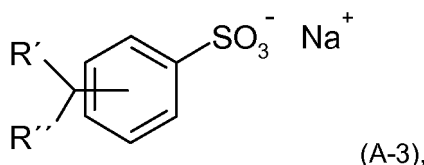
mit $k = 11$ bis 19. Ganz besonders bevorzugte Vertreter sind $Na-C_{12-14}$ Fettalkoholsulfate ($k = 11-13$ in Formel A-2a).

[0027] Weiter bevorzugte Zusammensetzungen enthalten bezogen auf die Gesamtmenge der Zusammensetzungen 0,1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise 0,5 bis 7,5 Gew.-%, weiter bevorzugt 1,0 bis 3,0 Gew.-% Tensid aus der Gruppe umfassend C_{9-13} -Alkylbenzolsulfonate, Olefinsulfonate, C_{12-18} -Alkansulfonate Estersulfonate, Alk(en)ylsulfate, und Mischungen daraus (insbesondere der Gruppe der C_{9-13} -Alkylbenzolsulfonate, bevorzugt der Gruppe gemäß Formel (A2)). Sollten zusätzlich weitere Tenside enthalten sein, ist die Menge der eingesetzten Tenside aus der Gruppe umfassend C_{9-13} -Alkylbenzolsulfonate, Olefinsulfonate, C_{12-18} -Alkansulfonate Estersulfonate, Alk(en)ylsulfate, und Mischungen daraus (insbesondere der Gruppe der C_{9-13} -Alkylbenzolsulfonate, bevorzugt der Gruppe gemäß Formel (A2)) derart innerhalb der dafür bevorzugten Mengenbereiche (*vide supra*) zu wählen, dass

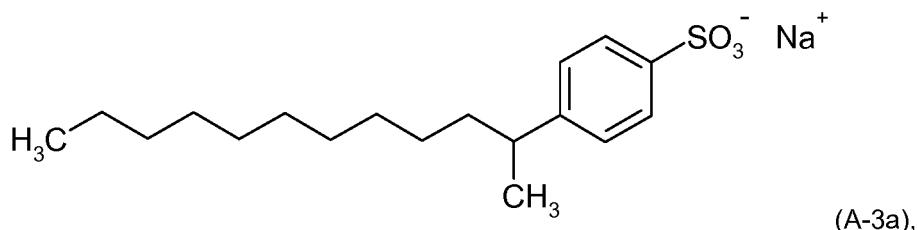
- auf jeden Fall die zuvor definierte Gesamtmenge an Tensid eingehalten wird und
- optional bevorzugt die als bevorzugt definierte Gesamtmenge an anionischen Tensiden eingehalten wird.

[0028] Bei den Sulfonatensiden ($A =$ chemische Bindung), welche gegenüber den Sulfattensiden obiger Formel bevorzugt sind, steht R^3 vorzugsweise für einen linearen oder verzweigten unsubstituierten Alkylarylrest. Auch hier steht X für ein einwertiges Kation oder den n-ten Teil eines n-wertigen Kations, bevorzugt sind dabei die Alkalimetallionen und darunter Na^+ oder K^+ , wobei Na^+ äußerst bevorzugt ist. Weitere Kationen X^+ können ausgewählt sein aus NH_4^+ , $\frac{1}{2} Zn^{2+}$, $\frac{1}{2} Mg^{2+}$, $\frac{1}{2} Ca^{2+}$, $\frac{1}{2} Mn^{2+}$, und deren Mischungen.

[0029] Solche äußerst bevorzugten Tenside sind ausgewählt aus linearen oder verzweigten Alkylbenzolsulfonaten der Formel A-3



in der R' und R'' zusammen 9 bis 19, vorzugsweise 11 bis 15 und insbesondere 11 bis 13 C-Atome enthalten. Ein ganz besonders bevorzugter Vertreter lässt sich durch die Formel A-3a beschreiben:

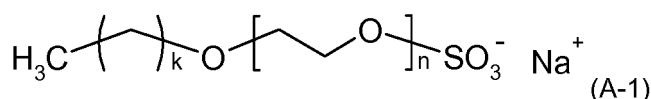


[0030] Es hat sich für die Kaltwaschleistung als vorteilhaft erwiesen, wenn die Zusammensetzungen als anionisches Tensid zusätzlich Seife(n) enthalten. Seifen sind die wasserlöslichen Natrium- oder Kaliumsalze der gesättigten und ungesättigten Fettsäuren mit 10 bis 20 Kohlenstoffatomen, der Harzsäuren des Kolophoniums (gelbe Harzseifen) und der Naphthensäuren, die als feste oder halbfeste Gemische in der Hauptsache für Wasch- und Reinigungszwecke verwendet werden. Natrium- oder Kaliumsalze der gesättigten und ungesättigten Fettsäuren mit 10 bis 20 Kohlenstoffatomen, insbesondere mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen, sind gemäß Erfindung bevorzugte Seifen. Besonders bevorzugte Zusammensetzungen sind dabei dadurch gekennzeichnet, dass sie - bezogen auf ihr Gewicht - 0,1 bis 1,5 Gew.-%, besonders bevorzugt 0,2 bis 1,0 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt 0,3 bis 0,8 Gew.-% Seife(n) enthalten. Sollten zusätzlich weitere Tenside enthalten sein, ist die Menge der eingesetzten Seife(n) derart innerhalb der dafür bevorzugten Mengenbereiche (*vide supra*) zu wählen, dass

- auf jeden Fall die zuvor definierte Gesamtmenge an Tensid eingehalten wird und
- optional bevorzugt die als bevorzugt definierte Gesamtmenge an anionischen Tensiden eingehalten wird.

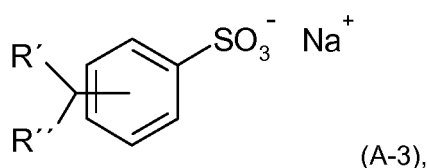
[0031] Zur verbesserten Lösung der technischen Aufgabe ist es erfindungsgemäß ganz besonders bevorzugt, eine Kombination aus

- mindestens einem Fettalkoholethersulfat der Formel A-1



mit $k = 11$ bis 19 , $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 8 (besonders bevorzugte Vertreter sind Na-C_{12-14} Fettalkoholethersulfate mit 2 EO ($k = 11-13$, $n = 2$ in Formel A-1), und

- mindestens einem linearen oder verzweigten Alkylbenzolsulfonaten der Formel A-3



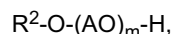
in der R' und R'' zusammen 9 bis 19, vorzugsweise 11 bis 15 und insbesondere 11 bis 13 C-Atome enthalten (insbesondere der obigen Formel (A-3a)),

in den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen zu verwenden. Bevorzugte Zusammensetzungen dieser Ausführungsform sind dabei optional bevorzugt dadurch gekennzeichnet, dass sie eine oder mehrere Seifen enthält (bevorzugt - bezogen auf ihr Gewicht - 0,1 bis 1,5 Gew.-%, besonders bevorzugt 0,2 bis 1,0 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt 0,3 bis 0,8 Gew.-% Seife(n)).

[0032] Zusätzlich zu dem oder den anionischen Tensid(en) oder an deren Stelle können die erfindungsgemäß eingesetzten Zusammensetzungen nichtionische(s) Tensid(e) enthalten.

[0033] Mit besonderem Vorzug enthalten die Zusammensetzungen mindestens ein nichtionisches Tensid aus der Gruppe der Fettalkoholethoxylate, da diese Tenside auch bei niedrigen Waschttemperaturen leistungsstarke Zusammensetzungen ergeben und im Falle flüssiger Zubereitungen exzellente Kältestabilität aufweisen.

[0034] Demnach enthalten bevorzugte Zusammensetzungen zusätzlich mindestens ein nichtionisches Tensid der Formel



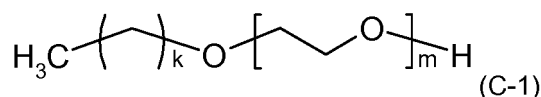
in der

R^2 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkyl-, Aryl- oder Alkylarylrest,
 AO für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung,
 m für ganze Zahlen von 1 bis 50 stehen.

[0035] In der vorstehend genannten Formel steht R^2 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkyl-, Aryl- oder Alkylarylrest, vorzugsweise für einen linearen, unsubstituierten Alkylrest, besonders bevorzugt für einen Fettalkoholrest. Bevorzugte Reste R^2 sind ausgewählt aus Decyl-, Undecyl-, Dodecyl-, Tridecyl-, Tetradecyl-, Pentadecyl-, Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Nonadecyl-, Eicosylresten und deren Mischungen, wobei die Vertreter mit gerader Anzahl an C-Atomen bevorzugt sind. Besonders bevorzugte Reste R^2 sind abgeleitet von C_{12} - C_{18} -Fettalkoholen, beispielsweise von Kokosfettalkohol, Talgfettalkohol, Lauryl-, Myristyl-, Cetyl- oder Stearylalkohol oder von C_{10} - C_{20} -Oxoalkoholen.

[0036] AO steht für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung, vorzugsweise für eine Ethylenoxidgruppierung. Der Index m steht für eine ganze Zahl von 1 bis 50, vorzugsweise von 1 bis 20 und insbesondere von 2 bis 10. Ganz besonders bevorzugt steht m für die Zahlen 2, 3, 4, 5, 6, 7 oder 8.

[0037] Zusammenfassend sind besonders bevorzugte Tenside ausgewählt aus Fettalkoholethoxylaten der Formel C-1



mit $k = 11$ bis 19, $m = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 8. Ganz besonders bevorzugte Vertreter sind C_{12-18} Fettalkohole mit 7 EO ($k = 11-17$, $m = 7$ in Formel C-1).

[0038] Insbesondere bevorzugte Zusammensetzungen enthalten nichtionische Tenside in bestimmten Mengen. Äußerst bevorzugte erfindungsgemäße Zusammensetzungen sind dadurch gekennzeichnet, dass die Gesamtmenge an nichtionischen Tensiden bezogen auf das Gewicht der Zusammensetzungen 0,1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise 0,5 bis 7,5 Gew.-%, weiter bevorzugt 2,0 bis 4,0 Gew.-% beträgt. Sollten zusätzlich weitere Tenside enthalten sein, ist die Menge der weiteren Tenside und die Menge der nichtionischen Tenside so zu wählen, dass die zuvor definierte Gesamtmenge an Tensid eingehalten wird und optional bevorzugt die Gesamtmenge an nichtionischen Tensiden innerhalb eines der zuvor als bevorzugt definierten Mengenbereiche liegt.

[0039] Weiter bevorzugte Zusammensetzungen enthalten bezogen auf die Gesamtmenge der Zusammensetzungen 0,1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise 1,0 bis 7,5 Gew.-%, weiter bevorzugt 2,0 bis 4,0 Gew.-% Fettalkoholethoxylat(e) (insbesondere der Formel (C-1)). Sollten zusätzlich weitere Tenside enthalten sein, ist die Gesamtmenge an eingesetztem erfindungsgemäßen Fettalkoholether derart innerhalb des dafür bevorzugten Mengenbereiches (*vide supra*) zu wählen, dass

- auf jeden Fall die zuvor definierte Gesamtmenge an Tensid eingehalten wird und
- optional bevorzugt die als bevorzugt definierte Gesamtmenge an nichtionischen Tensiden eingehalten wird.

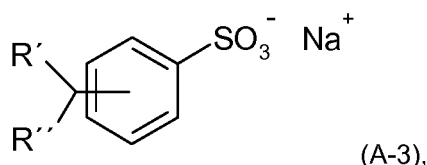
[0040] Bevorzugte Zusammensetzungen enthalten auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung bezogen

- anionisches Tensid in einer Gesamtmenge von 0,1 bis 10,0 Gew.-%, bevorzugt von 2,0 bis 9,0 Gew.-%, besonders bevorzugt von 4,0 bis 7,0 Gew.-%, und
- nichtionisches Tensid in einer Gesamtmenge von 0,1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise 0,5 bis 7,5 Gew.-%, weiter bevorzugt 2,0 bis 4,0 Gew.-%,

mit der Maßgabe, dass die Gesamtmenge an Tensid zwischen 0 und 16 Gew.-%, insbesondere von 2,5 bis 13 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt von 6,0 bis 11,0 Gew.-%, beträgt.

[0041] Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform sind solche Zusammensetzungen bevorzugt, die

- i) mindestens ein anionisches Tensid der Formel $R^1-O-(AO)_n-SO_3^- X^+$, und
- ii) mindestens ein anionisches Tensid der Formel A-3



und

iii) mindestens ein nichtionisches Tensid der Formel $R^2-O-(AO)_m-H$, enthalten, in denen

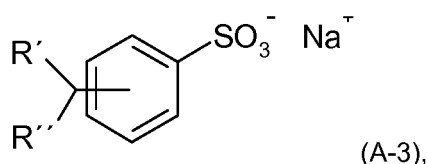
R^1 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkyl-, Aryl- oder Alkylarylrest,
 R' und R'' zusammen 9 bis 19, vorzugsweise 11 bis 15 und insbesondere 11 bis 13 C-Atome enthalten,
 AO unabhängig voneinander für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung,
 n, m unabhängig voneinander für ganze Zahlen von 1 bis 50,
 X für ein einwertiges Kation oder den n-ten Teil eines n-wertigen Kations stehen.

[0042] Die Tenside i) und ii) wurden weiter oben als bevorzugte Tenside a) mit den Formeln (A-1) und (A-3a) beschrieben, das Tensid iii) als bevorzugtes Tensid mit der Formel (C-1). Bevorzugte

[0043] Zusammensetzungen dieser Ausführungsform sind dabei wiederum dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich mindestens eine Seife enthalten.

[0044] Gemäß einer ganz besonders bevorzugten Ausführungsform sind solche Zusammensetzungen bevorzugt, die bezogen auf das Gewicht der Zusammensetzung

i) in einer Gesamtmenge von 0,1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise von 1,0 bis 7,5 Gew.-%, weiter bevorzugt von 2,0 bis 4,0 Gew.-% mindestens ein anionisches Tensid der Formel $R^1-O-(AO)_n-SO_3^- X^+$, und
 ii) in einer Gesamtmenge von 0,1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise 0,5 bis 7,5 Gew.-%, weiter bevorzugt 1,0 bis 3,0 Gew.-% mindestens ein anionisches Tensid der Formel A-3



und

iii) in einer Gesamtmenge von 0,1 bis 10 Gew.-%, vorzugsweise von 1,0 bis 7,5 Gew.-%, weiter bevorzugt von 2,0 bis 4,0 Gew.-% mindestens ein nichtionisches Tensid der Formel $R^2-O-(AO)_m-H$,

enthalten, in denen

R^1 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkyl-, Aryl- oder Alkylarylrest,
 R' und R'' zusammen 9 bis 19, vorzugsweise 11 bis 15 und insbesondere 11 bis 13 C-Atome enthalten,
 AO unabhängig voneinander für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung,
 n, m unabhängig voneinander für ganze Zahlen von 1 bis 50,
 X für ein einwertiges Kation oder den n-ten Teil eines n-wertigen Kations stehen,

mit der Maßgabe, dass die Gesamtmenge an Tensid zwischen 0,1 und 13 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt von 3,0 bis 10,0 Gew.-%, beträgt.

[0045] Die Tenside i) und ii) wurden weiter oben als bevorzugte Tenside a) mit den Formeln (A-1) und (A-3a) beschrieben, das Tensid iii) als bevorzugtes Tensid mit der Formel (C-1). Bevorzugte Zusammensetzungen dieser Ausführungsform sind dabei wiederum dadurch gekennzeichnet, dass sie - bezogen auf ihr Gewicht - 0,1 bis 1,5 Gew.-%, besonders bevorzugt 0,2 bis 1,0 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt 0,3 bis 0,8 Gew.-% Seife(n) enthalten.

[0046] Die erfindungsgemäße Zusammensetzung enthält weiterhin zwingend eine spezielle Kombination aus den drei Enzymen Lipase, Amylase und Mannanase. Folgende Begriffe und Definitionen gelten zusätzlich im Rahmen der vorliegenden Anmeldung mit Blick auf die Definition von Enzymen.

[0047] "Variante" ist auf der Ebene der Proteine der zu "Mutante" entsprechende Begriff auf der Ebene der Nukleinsäuren. Bei den Vorgänger- oder Ausgangsmolekülen kann es sich um Wildtypenzyme handeln, das heißt solche, die

aus natürlichen Quellen erhältlich sind. Es kann sich auch um Enzyme handeln, die an sich bereits Varianten darstellen, das heißt gegenüber den Wildtypmolekülen bereits verändert worden sind. Darunter sind beispielsweise Punktmutanten, solche mit Änderungen der Aminosäuresequenz, über mehrere Positionen oder längere zusammenhängende Bereiche, oder auch Hybridmoleküle zu verstehen, die aus einander ergänzenden Abschnitten verschiedener Wildtyp Enzyme zusammengesetzt sind.

[0048] Unter Aminosäureaustauschen sind Substitutionen einer Aminosäure gegen eine andere Aminosäure zu verstehen. Erfindungsgemäß werden solche Substitutionen unter Bezeichnung der Positionen, in der der Austausch erfolgt, gegebenenfalls kombiniert mit den betreffenden Aminosäuren im international gebräuchlichen Einbuchstabencode angegeben. "Austausch in Position 320" bedeutet beispielsweise, dass eine Variante in der Position, die in der Sequenz eines Referenzproteins die Position 320 aufweist, eine andere Aminosäure aufweist. Üblicherweise werden solche Austausche auf der DNA-Ebene über Mutationen einzelner Basenpaare durchgeführt (siehe oben). "R320K" bedeutet beispielsweise, dass das Referenzenzym an der Position 320 die Aminosäure Arginin aufweist, während die betrachtete Variante an der hiermit homologisierbaren Position über die Aminosäure Lysin verfügt. "320K" bedeutet, dass jede beliebige, das heißt in der Regel eine natürlicherweise vorgegebene Aminosäure an einer Position, die der Position 320 entspricht, gegen ein Lysin ersetzt ist, welches sich im vorliegenden Molekül eben an dieser Stelle befindet. "R320K, L" bedeutet, dass die Aminosäure Arginin in Position 320 gegen Lysin oder Leucin ersetzt ist. Und "R320X" bedeutet, dass die Aminosäure Arginin in Position 320 gegen eine prinzipiell beliebige andere Aminosäure ersetzt ist.

[0049] Grundsätzlich sind die mit der vorliegenden Anmeldung bezeichneten erfindungsgemäßen Aminosäureaustausche nicht darauf beschränkt, dass sie die einzigen Austausche sind, in denen sich die betreffende Variante von dem Wildtypmolekül unterscheidet. Es ist im Stand der Technik bekannt, dass sich die vorteilhaften Eigenschaften einzelner Punktmutationen einander ergänzen können. Somit umfassen Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung alle Varianten, die neben anderen Austauschen gegenüber dem Wildtypmolekül auch die erfindungsgemäßen Austausche aufweisen.

[0050] Ferner spielt es prinzipiell keine Rolle, in welcher Reihenfolge die betreffenden Aminosäureaustausche vorgenommen worden sind, das heißt ob eine entsprechende Punktmutante erfindungsgemäß weiterentwickelt wird oder zunächst beispielsweise aus einem Wildtypmolekül eine erfindungsgemäße Variante erzeugt wird, die entsprechend anderer im Stand der Technik zu findender Lehren weiterentwickelt wird. Es können auch gleichzeitig in einem Mutageneseansatz mehrere Austausche vorgenommen werden, etwa erfindungsgemäße und andere zusammen.

[0051] Die Bestimmung der Identität von Nukleinsäure- oder Aminosäuresequenzen erfolgt erfindungsgemäß durch einen Sequenzvergleich. Solch ein Vergleich erfolgt dadurch, dass ähnliche Abfolgen in den Nukleotidsequenzen oder Aminosäuresequenzen einander zugeordnet werden. Dieser Sequenzvergleich erfolgt vorzugsweise basierend auf dem im Stand der Technik etablierten und üblicherweise genutzten BLAST-Algorithmus (vgl. beispielsweise Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. & Lipman, D. J. (1990) "Basic local alignment search tool." J. Mol. Biol. 215:403-410, und Altschul, Stephan F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Hheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997): "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of Protein database search programs"; Nucleic Acids Res., 25, S. 3389-3402) und geschieht prinzipiell dadurch, dass ähnliche Abfolgen von Nukleotiden oder Aminosäuren in den Nukleinsäure- bzw. Aminosäuresequenzen einander zugeordnet werden. Eine tabellarische Zuordnung der betreffenden Positionen wird als Alignment bezeichnet. Ein weiterer im Stand der Technik verfügbarer Algorithmus ist der FASTA-Algorithmus. Sequenzvergleiche (Alignments), insbesondere multiple Sequenzvergleiche, werden üblicherweise mit Computerprogrammen erstellt. Häufig genutzt werden beispielsweise die Clustal-Serie (vgl. beispielsweise Chenna et al. (2003): Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. Nucleic Acid Research 31, 3497-3500), T-Coffee (vgl. beispielsweise Notredame et al. (2000): T-Coffee: A novel method for multiple sequence alignments. J. Mol. Biol. 302, 205-217) oder Programme, die auf diesen Programmen bzw. Algorithmen basieren. Häufig genutzt werden beispielsweise Clustal (vgl. beispielsweise Chenna et al. (2003): Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. Nucleic Acid Research 31, 3497-3500) oder T-Coffee (vgl. beispielsweise Notredame et al. (2000): T-Coffee: A novel method for multiple sequence alignments. J. Mol. Biol. 302, 205-217) sowie BLAST oder FASTA für die Datenbanksuche, beziehungsweise Programme, die auf diesen Programmen bzw. Algorithmen basieren. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden Sequenzvergleiche und Alignments bevorzugt mit dem Computer-Programm Vector NTI® Suite 10.3 (Invitrogen Corporation, 1600 Faraday Avenue, Carlsbad, Kalifornien, USA) mit den vorgegebenen Default-Parametern erstellt.

[0052] Solch ein Vergleich erlaubt eine Aussage über die Ähnlichkeit der verglichenen Sequenzen zueinander. Sie wird üblicherweise in Prozent Identität, das heißt dem Anteil der identischen Nukleotide oder Aminosäurereste an denselben bzw. in einem Alignment einander entsprechenden Positionen angegeben. Der weiter gefasste Begriff der Homologie bezieht bei Aminosäuresequenzen konservierte Aminosäure-Austausche in die Betrachtung mit ein, also Aminosäuren mit ähnlicher chemischer Aktivität, da diese innerhalb des Proteins meist ähnliche chemische Aktivitäten ausüben. Daher kann die Ähnlichkeit der verglichenen Sequenzen auch in Prozent Homologie oder Prozent Ähnlichkeit angegeben sein. Identitäts- und/oder Homologieangaben können über ganze Polypeptide oder Gene oder nur über einzelne Bereiche getroffen werden. Homologe bzw. identische Bereiche von verschiedenen Nukleinsäure- oder Ami-

nosäuresequenzen sind daher durch Übereinstimmungen in den Sequenzen definiert. Solche Bereiche weisen oftmals identische Funktionen auf. Sie können klein sein und nur wenige Nukleotide bzw. Aminosäuren umfassen. Oftmals üben solche kleinen Bereiche für die Gesamtaktivität des Proteins essentielle Funktionen aus. Es kann daher sinnvoll sein, Sequenzübereinstimmungen nur auf einzelne, gegebenenfalls kleine Bereiche zu beziehen. Soweit nicht anders angegeben beziehen sich Identitäts- bzw. Homologieangaben in der vorliegenden Anmeldung aber auf die Gesamtlänge der jeweils angegebenen Nukleinsäure- oder Aminosäuresequenz.

[0053] Unter Fragmenten werden alle Polypeptide, Proteine oder Peptide verstanden, die kleiner sind als entsprechende Vergleichsproteine oder solche, die vollständig translatierten Genen entsprechen, und beispielsweise auch synthetisch erhalten werden können. Aufgrund ihrer Aminosäuresequenzen können sie den betreffenden vollständigen Vergleichsproteinen zugeordnet werden. Sie können beispielsweise gleiche räumliche Strukturen annehmen oder proteolytische Aktivitäten oder Teilaktivitäten ausüben, wie beispielsweise die Komplexbildung eines Substrats. Fragmente und Deletionsvarianten von Ausgangsproteinen sind prinzipiell gleichartig; während Fragmente eher kleinere Bruchstücke darstellen, fehlen den Deletionsmutanten eher nur kurze Bereiche (unter Umständen nur ein oder mehrere Aminosäuren). So ist es beispielsweise möglich, an den Termini oder in den Loops des Enzyms weitere einzelne Aminosäuren zu deletieren, ohne dass dadurch die enzymatische Aktivität verloren oder vermindert wird.

[0054] Alle Mengenangaben von Enzymen beziehen sich auf aktives Protein. Die Proteinkonzentration kann mit Hilfe bekannter Methoden, zum Beispiel dem BCA-Verfahren oder dem Biuret-Verfahren bestimmt werden.

[0055] Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen enthalten zwingend mindestens eine Lipase. Eine in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung (insbesondere in einem erfindungsgemäß bevorzugten Wasch- und Reinigungsmittel für Textilien) enthaltene Lipase weist eine lipolytische Aktivität auf, das heißt, sie ist zur Hydrolyse (Lipolyse) von Lipiden wie Glyceriden oder Cholesterinestern befähigt. Diese Lipaseaktivität wird in fachüblicher Weise bestimmt, und zwar vorzugsweise wie beschrieben in Bruno Stellmach, "Bestimmungsmethoden Enzyme für Pharmazie, Lebensmittelchemie, Technik, Biochemie, Biologie, Medizin" (Steinkopff Verlag Darmstadt, 1988, S. 172 ff). Hierbei werden Lipasehaltige Proben zu einer Olivenölemulsion in emulgatorhaltigem Wasser gegeben und bei 30 °C und pH 9,0 inkubiert. Dabei werden Fettsäuren freigesetzt. Diese werden mit einem Autotitrator über 20 min. laufend mit 0,01 N Natronlauge titriert, so dass der pH-Wert konstant bleibt ("pH-stat-Titration"). Anhand des Natronlauge-Verbrauchs erfolgt mittels Bezug auf eine Referenzlipaseprobe die Bestimmung der Lipaseaktivität. Eine weitere geeignete Methode zur Messung der Lipaseaktivität ist die Freisetzung eines Farbstoff aus einem geeigneten pNP-gelabelten Substrat.

[0056] Bevorzugte Zusammensetzungen sind dadurch gekennzeichnet, dass bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung Lipase in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%, enthalten ist.

[0057] Erfindungsgemäß bevorzugte Lipase-Enzyme werden ausgewählt aus mindestens einem Enzym der Gruppe, die gebildet wird aus Triacylglycerol-Lipase (E.C. 3.1.1.3) und Lipoprotein-Lipase (E.C. 3.1.1.34) und Monoglycerid-Lipase (E.C. 3.1.1.23).

[0058] Das erfindungsgemäß bevorzugte Einsatzgebiet der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen ist die Reinigung von Textilien. Weil Wasch- und Reinigungsmittel für Textilien überwiegend alkalische pH-Werte aufweisen, werden hierfür insbesondere Lipasen eingesetzt, die im alkalischen Medium aktiv sind.

[0059] Ferner ist die in einer erfindungsgemäßen Zusammensetzung bevorzugt enthaltene Lipase natürlicherweise in einem Mikroorganismus der Art *Thermomyces lanuginosus* oder *Rhizopus oryzae* oder *Mucor javanicus* vorhanden oder von vorgenannten natürlicherweise vorhandenen Lipasen per Mutagenese abgeleitet. Besonders bevorzugt enthalten die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen mindestens eine Lipase, die natürlicherweise in einem Mikroorganismus der Art *Thermomyces lanuginosus* vorhanden oder sich von vorgenannten natürlicherweise in *Thermomyces lanuginosus* vorhandenen Lipasen per Mutagenese ableitet.

Natürlicherweise vorhanden bedeutet in diesem Zusammenhang, dass die Lipase ein eigenes Enzym des Mikroorganismus ist. Die Lipase kann folglich in dem Mikroorganismus von einer Nukleinsäuresequenz exprimiert werden, die Teil der chromosomalen DNA des Mikroorganismus in seiner Wildtyp-Form ist. Sie bzw. die für sie codierende Nukleinsäuresequenz ist folglich in der Wildtyp-Form des Mikroorganismus vorhanden und/oder kann aus der Wildtyp-Form des Mikroorganismus aus diesem isoliert werden. Im Gegensatz hierzu wäre eine nicht natürlicherweise in dem Mikroorganismus vorhandene Lipase bzw. die für sie codierende Nukleinsäuresequenz mit Hilfe gentechnischer Verfahren in den Mikroorganismus gezielt eingebracht worden, so dass der Mikroorganismus um die Lipase bzw. die für sie codierende Nukleinsäuresequenz bereichert worden wäre. Jedoch kann eine Lipase, die natürlicherweise in einem Mikroorganismus der Art *Thermomyces lanuginosus* oder *Rhizopus oryzae* oder *Mucor javanicus* vorhanden ist, aber durchaus rekombinant von einem anderen Organismus hergestellt worden sein.

[0060] Der Pilz *Thermomyces lanuginosus* (auch bekannt unter *Humicola lanuginosa*) zählt zur Klasse der Eurotiomycetes (Unterklasse Eurotiomycetidae), hierin zur Ordnung der Eurotiales und hierin zur Familie Trichocomaceae und der Gattung *Thermomyces*. Der Pilz *Rhizopus oryzae* zählt zur Klasse der Zygomyceten (Unterklasse Incertae sedis), hierin zur Ordnung Mucorales und hierin wiederum zur Familie Mucoraceae und der Gattung *Rhizopus*. Der Pilz *Mucor javanicus* zählt ebenfalls zur Klasse der Zygomyceten (Unterklasse Incertae sedis), hierin zur Ordnung Mucorales und

hierin wiederum zur Familie Mucoraceae, hierin dann zur Gattung Mucor. Die Bezeichnungen *Thermomyces lanuginosus*, *Rhizopus oryzae* und *Mucor javanicus* sind die biologischen Artbezeichnungen innerhalb der jeweiligen Gattung.

[0061] Erfindungsgemäß bevorzugte Lipasen sind die von dem Unternehmen Amano Pharmaceuticals unter den Bezeichnungen Lipase M-AP10®, Lipase LE® und Lipase F® (auch Lipase JV®) erhältlichen Lipaseenzyme. Die Lipase F® ist beispielsweise natürlicherweise in *Rhizopus oryzae* vorhanden. Die Lipase M-AP10® ist beispielsweise natürlicherweise in *Mucor javanicus* vorhanden.

[0062] Zusammensetzungen einer ganz besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung enthalten mindestens eine Lipase, die ausgewählt wird aus mindestens einem oder mehreren Polypeptiden mit einer Aminosäuresequenz, die zu mindestens 90% (und zunehmend bevorzugt zu mindestens 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) zur Wildtyp Lipase aus dem Stamm DSM 4109 *Thermomyces lanuginosus* identisch ist. Dabei ist es erneut bevorzugt, wenn ausgehend von besagter Wildtyp Lipase aus dem Stamm DSM 4109 zumindest die Aminosäureänderung N233R vorliegt.

[0063] Es sind im Rahmen einer weiteren Ausführungsform insbesondere solche Lipasen abgeleitet von der Wildtyp Lipase aus dem Stamm DSM 4109 erfindungsgemäß bevorzugt verwendbar, die ausgewählt werden aus mindestens einem Lipase-Enzym gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 13 der Druckschrift WO 00/60063 A1. Auf die Offenbarung Druckschrift WO 00/60063 A1 wird ausdrücklich vollumfänglich Bezug genommen.

[0064] Besonders bevorzugt wird in den Zusammensetzungen der Erfindung mindestens eine Lipase eingesetzt, die abgeleitet ist von der Wildtyp Lipase aus dem Stamm DSM 4109 und in der ausgehend von besagter Wildtyp Lipase mindestens eine Substitution einer elektrisch neutralen oder negativ geladenen Aminosäure durch eine positiv geladene Aminosäure erfolgte. Die Ladung wird in Wasser bei pH 10 bestimmt. Negative Aminosäuren im Sinne der Erfindung sind E, D, Y und C. Positiv geladene Aminosäuren im Sinne der Erfindung sind R, K und H, insbesondere R und K. Neutrale Aminosäure im Sinne der Erfindung sind G, A, V, L, I, P, F, W, S, T, M, N, Q und C, wenn C eine Disulfidbrücke ausbildet.

[0065] Im Rahmen dieser Ausführungsform der Erfindung ist es erneut bevorzugt, wenn ausgehend von der Wildtyp Lipase aus dem Stamm DSM 4109 mindestens einen der folgenden Aminosäureaustausche in den Positionen D96L, T213R und/oder N233R, besonders bevorzugt T213R und N233R, vorliegt.

[0066] Es hat sich herausgestellt, dass als ganz besonders bevorzugte Lipase in den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen mindestens eine Lipase enthalten ist, die ausgehend von besagter Wildtyp Lipase aus dem Stamm DSM 4109 *Thermomyces lanuginosus* eine der folgenden Aminosäureänderungen der Nummern (L1) bis (L41) als einzige Änderung aufweist (Änderungen in Klammern optional):

(L1)	T231R+ N233R
(L2)	N94K+ D96L+ T231R+ N233R+ Q249R+ 270P+ 271G+ 272L
(L3)	D96L+ T231R+ N233R
(L4)	G91A+ E99K+ T231R+ N233R+ Q249R
(L5)	(N33Q) +D96L + T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L6)	R209P +T231R +N233R
(L7)	(N33Q) +E99N +N101S +T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L8)	K24C +(N33Q) +D96S +T231R +N233R +Q249R +270 PCL
(L9)	(N33Q) +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L10)	E1A +(N33Q) +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L11)	(N33Q) +G91A +E99K +G255R +T231R +N233R +Q249R +270 PGL
(L12)	(N33Q) +G91A +E99K +T231R +N233R +T244R +Q249R +270 PGL
(L13)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R
(L14)	E87K +G91D +D96L +G225P +T231R +N233R +Q249R +N251D
(L15)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270AGVF
(L16)	G91A +E99K +T189G +T231R +N233R +Q249R
(L17)	D102G +T231R +N233R +Q249R
(L18)	T231R +N233R +Q249R +270AGVF

(fortgesetzt)

	(L19)	R209P +T231R +N233R
5	(L20)	N33Q +N94K +D96L +T231R +N233R +Q249R +270PGLPFKRV
	(L21)	N33Q +N94K +D96L +T231R +N233R +Q249R
	(L22)	N33Q +D96S +T231R +N233R +Q249R
	(L23)	N33Q +D96S +V228I +T231R +N233R +Q249R
10	(L24)	E1A +N33Q +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270PGLPFKRV
	(L25)	N33Q +S83T +E87K +G91A +E99K +T231R + N233R +Q249R +270PGLPFKRV
	(L26)	N33Q +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270PGLPFKRV
15	(L27)	T231R +N233R +270CP
	(L28)	T231R +N233R +270RE
	(L29)	N33Q +E99N +N101S +T231R +N233R +Q249R +270PGLPFKRV
	(L30)	D62A +S83T +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R
20	(L31)	E99N +N101S +T231R +N233R + Q249R
	(L32)	R84W +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R
	(L33)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270SPG
25	(L34)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270WVP
	(L35)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270LLA88GRGGHR
	(L36)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270VTT
	(L37)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270VLQ
30	(L38)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270T8T
	(L39)	G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R +270LRI
	(L40)	V60G +D62E +G91A +E99K +T231R +N233R +Q249R
35	(L41)	G91A +D96W +E99K +T231R +N233R +G263Q +L264A +1265T +G2668 +T267A +L269N +270AGGF8

[0067] Bevorzugte Zusammensetzungen dieser Ausführungsform sind dadurch gekennzeichnet, dass bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung besagtes Polypeptid in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%, enthalten ist.

[0068] Eine höchst bevorzugte Lipase ist kommerziell unter dem Handelsnamen Lipex® von dem Unternehmen Novozymes (Dänemark) zu beziehen und vorteilhaft in den erfindungsgemäßen Reinigungszusammensetzungen einsetzbar. Besonders bevorzugt ist hierbei die Lipase Lipex® 100 L (ex Novozymes A/S, Dänemark). Bevorzugte Zusammensetzungen sind dadurch gekennzeichnet, dass bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung besagtes Lipase-Enzym aus Lipex® 100 L in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%, enthalten ist.

[0069] Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen enthalten zwingend mindestens eine Mannanase. Eine in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung (insbesondere in einem erfindungsgemäß bevorzugten Wasch- und Reinigungsmittel für Textilien) enthaltene Mannanase katalysiert im Rahmen ihrer Mannanase-Aktivität die Hydrolyse von 1,4-beta-D-mannosidischen Bindungen in Mannanen, Galactomannanen, Glucomannanen und Galactoglucomannanen. Besagte erfindungsgemäße Mannanase-Enzyme werden gemäß Enzym Nomenklatur als E.C. 3.2.1.78 klassifiziert.

[0070] Die Mannanase-Aktivität eines Polypeptids bzw. Enzyms kann gemäß literaturbekannten Testmethoden bestimmt werden. Dabei wird beispielsweise eine Testlösung in Löcher mit 4 mm Durchmesser einer Agarplatte, enthaltend 0.2 Gew.-% AZGL Galactomannan (carob), i.e. Substrat für das endo-1,4-beta-D-Mannanase Essay, erhältlich unter Katalognummer I-AZGMA der Firma Megazyme (<http://www.megazyme.com>), eingebracht.

[0071] Geeignete erfindungsgemäße Zusammensetzungen enthalten beispielsweise die Mannanase, die unter dem Namen Mannaway® von der Firma Novozymes vermarktet wird.

[0072] Mannanase-Enzyme wurden in zahlreichen *Bacillus* Organismen identifiziert: WO 99/64619 offenbart Beispiele für flüssige, proteasehaltige Waschmittelzusammensetzungen mit hohem Gesamt-

tensidgehalt von mindestens 20 Gew.-%, die zusätzlich Mannanase-Enzym umfassen.

[0073] Bevorzugterweise enthalten die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung Mannanase in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%.

[0074] Mannanase-Polypeptide aus Stämmen der *Thermoanaerobacter* Gruppe, wie *Caldicellulosiruptor*, sind erfindungsgemäß bevorzugt geeignet. Gleichfalls im Rahmen der Erfindung einsetzbar sind Mannanase-Polypeptide der Pilze *Humicola* oder *Scytalidium*, insbesondere der Species *Humicola insolens* oder *Scytalidium thermophilum*.

[0075] Es ist erfindungsgemäß besonders bevorzugt, wenn die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen als Mannanase-Enzym mindestens ein Mannanase-Polypeptid aus gram-positiven alkalophilen Stämmen von *Bacillus*, insbesondere ausgewählt aus mindestens einem Vertreter der Gruppe aus *Bacillus subtilis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus clausii*, *Bacillus agaradhaerens*, *Bacillus brevis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus lautus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cheniformis*, and *Bacillus sp.*, besonders bevorzugt ausgewählt aus mindestens einem Vertreter der Gruppe aus *Bacillus sp. l633*, *Bacillus sp. AA/12*, *Bacillus clausii*, *Bacillus agaradhaerens* and *Bacillus licheniformis*.

[0076] Eine bevorzugte erfindungsgemäße Mannanase wird ausgewählt aus mindestens einem Vertreter aus der Gruppe, die gebildet wird aus

i) Polypeptiden, die eine Aminosäuresequenz umfassen, die mindestens 90% (zunehmend bevorzugt mindestens 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7% oder 99,8%) Sequenzidentität zu dem Polypeptid gemäß SEQ ID No.1 (vgl. Sequenzprotokoll), und

ii) Polypeptiden, die ein Fragment von (i) sind.

[0077] Dabei ist es wiederum bevorzugt, wenn besagte bevorzugte Mannanase in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%, jeweils bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung, in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung enthalten ist.

[0078] Unter dem jeweils oben unter (ii) definierten Fragment werden im Falle der bevorzugt einsetzbaren Mannanase und analog zu der eingangs erwähnten Definition alle Polypeptide, Proteine oder Peptide verstanden, die kleiner sind als die unter (i) fallenden Polypeptide oder solche, die vollständig translatierten Genen entsprechen, und beispielsweise auch synthetisch erhalten werden können. Aufgrund ihrer Aminosäuresequenzen können sie den betreffenden vollständigen Proteinen zugeordnet werden. Sie können beispielsweise gleiche Strukturen annehmen oder proteolytische Aktivitäten oder Teilaktivitäten ausüben, wie beispielsweise die Komplexbildung eines Substrats. Fragmente und Deletionsvarianten von Ausgangsproteinen sind prinzipiell gleichartig; während Fragmente eher kleinere Bruchstücke darstellen, fehlen den Deletionsmutanten eher nur kurze Bereiche (unter Umständen nur ein oder mehrere Aminosäuren). So ist es beispielsweise möglich, an den Termini oder in den Loops des Enzyms weitere einzelne Aminosäuren zu deletieren, ohne dass dadurch die enzymatische Aktivität verloren oder vermindert wird. Besonders bevorzugt sind Deletionen von insbesondere 1, bis zu 2, bis zu 3, bis zu 4, bis zu 5, insbesondere bis zu 10, bevorzugt bis zu 20, insbesondere bevorzugt bis zu 30 Aminosäuren auf der N-terminalen Seite des Polypeptids der SEQ. ID NO.1. Dabei wird die enzymatische Aktivität der Mannanase bevorzugt nicht oder nur in einem geringen Maße, insbesondere nur bis zu einer Reduktion von 15% der Aktivität des Ursprungszyms (besonders bevorzugt für Mannanase gemäß SeqID No. 1), reduziert.

[0079] Besonders bevorzugt wird die Mannanase ausgewählt aus mindestens einem Vertreter aus der Gruppe, die gebildet wird aus Polypeptiden, die eine Aminosäuresequenz umfassen, die mindestens 90% (zunehmend bevorzugt mindestens 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7% oder 99,8%) Sequenzidentität zu dem Polypeptid der Positionen 31 bis 490 gemäß SEQ ID No.1 (vgl. Sequenzprotokoll) aufweisen.

[0080] Ganz besonders bevorzugt weisen die Polypeptide eine Aminosäuresequenz auf, die mindestens 90% (zunehmend bevorzugt mindestens 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7% oder 99,8%) Sequenzidentität zu dem Polypeptid der Positionen 31 bis 490 gemäß SEQ ID No.1 (vgl. Sequenzprotokoll).

[0081] Insbesondere bevorzugt sind Polypeptide, deren Aminosäuresequenz zu mehr als 99,0% mit der Sequenz gemäß SEQ ID No.1 identisch ist.

[0082] Ein bevorzugtes Mannanase-Enzym wird gemäß Anspruch 1 der WO 99/64619 offenbart, in der Beschreibung dieser WO-Druckschrift näher beschrieben und ist demnach ausgewählt aus mindestens einem Mannanase-Enzym, dass ausgewählt wird aus mindestens einem Vertreter aus der Gruppe, die gebildet wird aus

i) Polypeptiden, die durch den für das Mannanaseenzym kodierenden Teil der DNA-Sequenz kodiert werden können, die in das in *Escherichia coli* DSM 12197 vorliegende Plasmid kloniert ist,

ii) Polypeptiden, die eine Aminosäuresequenz umfassen, wie an den Positionen 33-340 von SEQ ID NO: 1 in WO 99/64619 gezeigt,

iii) Polypeptiden, die eine Aminosäuresequenz umfassen, wie an den Positionen 31-990 oder den Positionen 91-1470, jeweils von SEQ ID NO: 1 in WO 99/64619 gezeigt, oder

iv) Analoga der in (i) oder (ii) definierten Polypeptide, die mindestens 90% (und zunehmend bevorzugt zu mindestens 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) Sequenzidentität zu dem Polypeptid haben, oder ein Fragment von (i), (ii) oder (iii) sind.

[0083] Die im Rahmen der vorliegenden Erfindung unter SEQ ID No.1 beschriebene Sequenz entspricht der in der WO 99/64619 offenbarten Sequenz unter SEQ ID No.2.

[0084] Zur Auslegung der Merkmale der zuvor definierten, erfindungsgemäß bevorzugten Mannanase-Enzyme (*vide supra*) ist ausdrücklich auch die Gesamtoffenbarung der WO 99/64619 vollumfänglich heranzuziehen. Ebenso gelten die in der WO 99/64619 als bevorzugt genannten Mannanase-Enzyme im Sinne der erfindungsgemäßen Zusammensetzung als bevorzugt.

[0085] Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen enthalten zwingend mindestens eine α -Amylase. α -Amylasen (E.C. 3.2.1.1) hydrolysieren als Enzym interne α -1,4-glycosidische Bindungen von Stärke und stärkeähnlichen Polymeren. Diese α -Amylase-Aktivität wird beispielsweise den Anmeldungen WO 97/03160 A1 und GB 1296839 zufolge in KNU (Kilo Novo Units) gemessen. Dabei steht 1 KNU für die Enzymmenge, die 5,25 g Stärke (erhältlich von der Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland) pro Stunde bei 37°C, pH 5,6 und in Gegenwart von 0,0043 M Calciumionen hydrolysiert. Eine alternative Aktivitäts-Bestimmungsmethode ist die sogenannte DNS-Methode, die beispielsweise in der Anmeldung WO 02/10356 A2 beschrieben wird. Danach werden die durch das Enzym bei der Hydrolyse von Stärke freigesetzten Oligosaccharide, Disaccharide und Glucoseeinheiten durch Oxidation der reduzierenden Enden mit Dinitrosalicylsäure (DNS) nachgewiesen. Die Aktivität wird in μ mol reduzierende Zucker (bezogen auf Maltose) pro min und ml erhalten; hierdurch ergeben sich Aktivitätswerte in TAU. Dasselbe Enzym kann über verschiedene Methoden bestimmt werden, wobei die jeweiligen Umrechnungsfaktoren je nach Enzym variieren können und somit anhand eines Standards festgelegt werden müssen. Näherungsweise kann man kalkulieren, daß 1 KNU ca. 50 TAU entspricht. Eine weitere Aktivitätsbestimmungsmethode ist die Messung mithilfe des Quick-Start®-Testkits der Fa. Abbott, Abbott Park, Illinois, USA.

[0086] Das erfindungsgemäß bevorzugte Einsatzgebiet der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen ist die Reinigung von Textilien. Weil Wasch- und Reinigungsmittel für Textilien überwiegend alkalische pH-Werte aufweisen, werden hierfür insbesondere α -Amylasen eingesetzt, die im alkalischen Medium aktiv sind. Solche werden von Mikroorganismen, das heißt Pilzen oder Bakterien, vor allem denen der Gattungen *Aspergillus* und *Bacillus* produziert und sekretiert. Ausgehend von diesen natürlichen Enzymen steht weiterhin eine nahezu unüberschaubare Fülle von Varianten zur Verfügung, die über Mutagenese abgeleitet worden sind und je nach Einsatzgebiet spezifische Vorteile aufweisen.

[0087] Beispiele hierfür sind die α -Amylasen aus *Bacillus licheniformis*, aus *B. amyloliquefaciens* und 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.

[0088] Beispiele für α -Amylasen aus anderen Organismen sind die unter den Handelsnamen Fungamyl® von der Firma Novozymes erhältlichen Weiterentwicklungen der α -Amylase aus *Aspergillus niger* und *A. oryzae*. Ein weiteres Handelsprodukt ist beispielsweise die Amylase-LT®.

[0089] Zum Stand der Technik gehören unter anderem die drei Patentanmeldungen WO 96/23873 A1, WO 00/60060 A2 und WO 01/66712 A2, die von der Fa. Novozymes angemeldet worden sind. WO 96/23873 A1 beschreibt zum Teil mehrere verschiedene Punktmutationen in insgesamt mehr als 30 verschiedenen Positionen in vier verschiedenen Wildtypamylasen und beansprucht solche für alle Amylasen mit mindestens 80% Identität zu einer dieser vier; sie sollen geänderte enzymatische Eigenschaften hinsichtlich der Thermostabilität, der Oxidationsstabilität und der Calciumabhängigkeit aufweisen. Die Anmeldung WO 00/60060 A2 benennt ebenfalls eine Vielzahl an möglichen Aminosäureaustauschen in 10 verschiedenen Positionen an den α -Amylasen aus zwei verschiedenen Mikroorganismen und beansprucht solche für alle Amylasen mit einer Homologie von mindestens 96% Identität zu diesen. WO 01/66712 A2, schließlich, bezeichnet 31 verschiedene, zum Teil mit den zuvor genannten identische Aminosäurepositionen, die in einer der beiden in der Anmeldung WO 00/60060 A2 genannten α -Amylasen mutiert worden sind.

[0090] Aus WO 96/23873 A1 geht beispielsweise konkret die Möglichkeit hervor, in den genannten α -Amylasen ein M in Position 9 gemäß der Zählung von AA560 gegen ein L zu ersetzen, in Position 202 M gegen L und die in den Positionen 182 und 183 (beziehungsweise 183 und 184) liegenden Aminosäuren zu deletieren. WO 00/60060 A2 of-

fenbart unter anderem konkret die Aminosäurevariation N195X (das heißt prinzipiell gegen jede andere Aminosäure). WO 01/66712 A2 offenbart unter anderem die Aminosäurevariationen R118K, G186X (darunter insbesondere den hier nicht relevanten Austausch G186R), N299X (darunter insbesondere den hier nicht relevanten Austausch N299A), R320K, E345R und R458K.

[0091] Erfindungsgemäß bevorzugte Zusammensetzungen enthalten α -Amylase in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%.

[0092] So stellt es eine Ausführungsform der vorliegenden Anmeldung dar, wenn das erfindungsgemäß Mittel als α -Amylase mindestens ein Polypeptid mit einer Identität von mindestens 92% (und zunehmend bevorzugt zu mindestens 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) zur Sequenz mit der SEQ ID NO. 2 (vgl. Sequenzprotokoll) enthält. Die SEQ ID NO. 2 ist identisch mit der in der WO 2005/108537 offenbarten SEQ ID NO. 2.

[0093] Die bevorzugte α -Amylase mit der Sequenz der SEQ ID NO. 2 ist eine Variante der α -Amylase AA349, die über die Punkt- beziehungsweise Deletionsmutationen R118K, G182-, D183-, N195F, R320K und R458K aus diesem Enzym abgeleitet werden kann.

[0094] Die α -Amylase AA349, geht als Sequenz unter SEQ ID NO. 3 der zuvor erwähnten Anmeldung WO 2005/108537 hervor. Sie ist auf Aminosäureebene mit der α -Amylase AA560 identisch, wie in derselben Anmeldung erwähnt. Beide Wildtypenzyme werden dieser Anmeldung zufolge natürlicherweise von *Bacillus species*-Stämmen gebildet, die unter den Nummern DSM 12648 beziehungsweise DSM 12649 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig (<http://www.dsmz.de>) von der Firma Novozymes hinterlegt worden sind.

[0095] Erfindungsgemäß bevorzugte Zusammensetzungen enthalten als α -Amylase mindestens ein Polypeptid mit einer Identität von mindestens 92%, (insbesondere mindestens 93%, bevorzugt mindestens 95%, besonders bevorzugt mindestens 96%, ganz besonders bevorzugt mindestens 98%) zur Sequenz mit der SEQ ID NO. 2 in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%.

[0096] Es ist gleichfalls bevorzugt, wenn die erfindungsgemäßen Mittel als Amylase-Enzym mindestens ein α -Amylase-Enzym enthalten, welches aus einer mit der α -Amylase AA560 homologisierbaren Ausgangs- α -Amylase über Aminosäureänderungen in folgenden Positionen erhalten werden kann: 9, 149, 182, 186, 202, 257, 295, 299, 323, 339, 345 und optional weiteren (in der Zählung gemäß der α -Amylase AA560). Dabei ist es bevorzugt, wenn ausgehend von einer mit der α -Amylase AA560 homologisierbaren Ausgangs- α -Amylase zumindest die Aminosäureänderung M202L vorliegt. Als Referenzenzym hinsichtlich der Numerierung der Positionen ist erfindungsgemäß die α -Amylase AA560 aus dem unter DSM 12649 hinterlegten Mikroorganismus gemäß WO 00/60060 A2 anzusehen, deren Aminosäuresequenz im dortigen Sequenzprotokoll dargestellt ist. Als mit der α -Amylase AA560 (AA560) homologisierbar wird im Sinne der vorliegenden Anmeldung jedes amylolytische Enzym angesehen, das zu der α -Amylase AA560 (AA560), das heißt der in SEQ ID NO. 4 von WO 00/60060 A2 gezeigten α -Amylase einen Mindesthomologiewert von 20% Identität besitzt, wie er beispielsweise nach der von D. J. Lipman und W. R. Pearson in Science 227 (1985), S. 1435-1441 angegebenen Methode bestimmt werden kann. Zunehmend bevorzugt weist das Molekül eine Identität von 30, 40, 50, 60, 70, 80 oder 90% zu einer dieser beiden α -Amylasen auf.

Erfindungsgemäß bevorzugte Zusammensetzungen enthalten besagte α -Amylase in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%.

[0097] Insbesondere wird das Amylase-Enzym ausgewählt aus mindestens einer α -Amylase, welche aus der α -Amylase AA560 über folgende Aminosäureänderungen erhalten werden kann:

- (A1) M9L / M202I,
- (A2) M9L / M202I / M323T,
- (A3) M9L / M202I / M323T / M382Y,
- (A4) M9L / M202I / Y295F / A339S,
- (A5) M9L / M202I / Y295F,
- (A6) M9L / M202I / A339S,
- (A7) M9L / M202I / Y295F / A339S,
- (A8) M9L / M202I / Y295F / A339S / E345R,
- (A9) M9L / G149A / M202I / Y295F / A339S / E345R,
- (A10) M9L / M202L,
- (A11) M9L / M202L / M323T,
- (A12) M9L / M202L / M323T / M382Y,
- (A13) M9L / M202L / Y295F / A339S,
- (A14) M9L / M202L / Y295F,

EP 3 083 923 B1

(fortgesetzt)

	(A15)	M9L / M202L / A339S,
	(A16)	M9L / M202L / Y295F / A339S,
5	(A17)	M9L / M202L / Y295F / A339S, E345R,
	(A18)	M9L / G149A / M202L / Y295F / A339S / E345R,
	(A19)	M9L / M202T,
	(A20)	M9L / M202T / M323T,
10	(A21)	M9L / M202T / M323T / M382Y,
	(A22)	M9L / M202T / Y295F / A339S,
	(A23)	M9L / M202T / Y295F,
	(A24)	M9L / M202T / A339S,
	(A25)	M9L / M202T / Y295F / A339S,
15	(A26)	M9L / M202T / Y295F / A339S / E345R,
	(A27)	M9L / G149A / M202T / Y295F / A339S / E345R,
	(A28)	M9L / G149A / M202I / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
	(A29)	M9L / G149A / M202L / V214I / Y295F / M323T / A339S / E345R / M382Y,
20	(A30)	M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / V214I / Y295F / N299Y / M323T / A339S,
	(A31)	M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / T257I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
	(A32)	M9L / G149A / M202L / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
	(A33)	M9L / G149A / M202I / V214I / Y295F / M323T / A339S / E345R / M382Y,
	(A34)	M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / V214I / Y295F / N299Y / M323T / A339S,
25	(A35)	M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / T257I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R,
	(A36)	M9L / G149A / M202I / V214T / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R / N471E,
	(A37)	M9L / G149A / M202L / V214I / Y295F / M323T / A339S / E345R / M382Y / N471E,
	(A38)	M9L / G149A / G182T / G186A / M202I / V214I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / N471E,
	(A39)	M9L / G149A / G182T / G186A / M202L / T257I / Y295F / N299Y / M323T / A339S / E345R / N471E,
30	(A40)	M202L / M105F / M208F,
	(A41)	G133E / M202L / Q361E,
	(A42)	G133E / M202L / R444E,
	(A43)	M202L / Y295F,
35	(A44)	M202L / A339S,
	(A45)	M202L / M323T,
	(A46)	M202L / M323T / M309L,
	(A47)	M202L / M323T / M430I,
	(A48)	M202L / V214T / R444Y,
40	(A49)	M202L / N283D / Q361E,
	(A50)	M202L / M382Y / K383R,
	(A51)	M202L / K446R / N484Q,
	(A52)	M202I / Y295F,
45	(A53)	M202I / A339S,
	(A54)	M202I / M105F / M208F,
	(A55)	G133E / M202I / Q361E,
	(A56)	G133E / M202I / R444E,
	(A57)	M202I / M323T,
50	(A58)	M202I / M323T / M309L,
	(A59)	M202I / M323T / M430I,
	(A60)	M202I / V214T / R444Y,
	(A61)	M202I / N283D / Q361E,
55	(A62)	M202I / M382Y / K383R,
	(A63)	M202I / K446R / N484Q,
	(A64)	M202V / M105F / M208F,
	(A65)	G133E / M202V / Q361E,

(fortgesetzt)

	(A66)	G133E / M202V / R444E,
	(A67)	M202V / M323T,
5	(A68)	M202V / M323T / M309L,
	(A69)	M202V / M323T / M430I,
	(A70)	M202V / M323T / M9L,
	(A71)	M202V / V214T / R444Y,
10	(A72)	M202V / N283D / Q361E,
	(A73)	M202V / M382Y / K383R,
	(A74)	M202V / K446R / N484Q,
	(A75)	M202T / M105F / M208F,
	(A76)	G133E / M202T / Q361E,
15	(A77)	G133E / M202T / R444E,
	(A78)	M202T / Y295F,
	(A79)	M202T / A339S,
	(A80)	M202T / M323T,
20	(A81)	M202T / M323T / M309L,
	(A82)	M202T / M323T / M430I,
	(A83)	M202T / M323T / M9L,
	(A84)	M202T / V214T / R444Y,
	(A85)	M202T / N283D / Q361E,
25	(A86)	M202T / A339S,
	(A87)	M202T / Y295F
	(A88)	M202T / N299F,Y,
	(A89)	M202T / M382Y / K383R oder
30	(A90)	M202T / K446R / N484Q

[0098] Mit Blick auf die obigen Amylasen (A1) bis (A90) wird wiederum unter den Amylasen mit der Aminosäurenänderung M202L bevorzugt ausgewählt.

[0099] Die in erfindungsgemäßen Zusammensetzungen eingesetzten α -Amylasen können nach an sich bekannten biotechnologischen Verfahren durch geeignete Mikroorganismen produziert werden, etwa durch filamentöse Fungi als transgene Expressionswirte oder vorzugsweise solchen der Gattungen *Bacillus*, weil es sich bei den Ausgangsenzymen AA349 und AA560 selbst um *Bacillus*-Enzyme handelt. Zur Herstellung entsprechender Expressionskonstrukte können beispielsweise die unter SEQ ID NO. 1 oder 3 in WO 00/60060 A2 angegebenen Nukleotidsequenzen verwendet werden und über Punktmutagenese, beispielsweise über Mismatch-Primer die in Figur 1 hervorgehobenen Austausche vorgenommen werden. Die hierfür erforderlichen Arbeitsschritte gehen beispielsweise aus dem Handbuch von Fritsch, Sambrook und Maniatis "Molecular cloning: a laboratory manual", Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, 1989, hervor. Zudem stehen hierfür inzwischen zahlreiche kommerzielle Baukästen zur Verfügung, etwa das QuickChange®-Kit der Firma Stratagene, La Jolla, USA. Das Prinzip besteht darin, daß Oligonukleotide mit einzelnen Austauschen (Mismatch-Primer) synthetisiert und mit dem einzelsträngig vorgelegten Gen hybridisiert werden; anschließende DNA-Polymerisation ergibt dann entsprechende Punktmutanten. Diese Gene werden über die bekannten Methoden in Vektoren integriert und diese zur Herstellung der gewünschten Expressionswirte verwendet.

[0100] Zur biotechnologischen Herstellung von Proteinen über derartige Expressionswirte steht ein reichhaltiger Stand der Technik zur Verfügung. Die Aufreinigung erfolgt günstigerweise über etablierte Verfahren, beispielsweise über Ausfällung, Sedimentation, Konzentrierung, Filtration der flüssigen Phasen, Mikrofiltration, Ultrafiltration, Einwirken von Chemikalien, etwa zum Fällern, chromatographische Schritte, Desodorierung oder geeignete Kombinationen dieser Schritte.

[0101] Die Lösung der technischen Aufgabe der vorliegenden Erfindung gestaltet sich besonders ausgeprägt aus, wenn erfindungsgemäße Zusammensetzungen zum Einsatz kommen, die höchstens geringste Mengen oder gar keine Protease enthalten. Aus diesem Grund ist es erfindungsgemäß bevorzugt, wenn die erfindungsgemäße Zusammensetzung bezogen auf ihr Gesamtgewicht Protease in einer Gesamtmenge von 0 bis 0,0005 Gew.-%, bevorzugt von 0 bis 0,0001 Gew.-%, äußerst bevorzugt von 0 bis 0,00005 Gew.-%, enthalten ist. Am bevorzugtesten sind die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen frei von Protease.

[0102] Eine Protease ist ein Enzym, das Peptidbindungen mittels Hydrolyse spaltet. Jedes der Enzyme aus der Klasse

E.C. 3.4 fällt erfindungsgemäß darunter (umfassend jede der darunterfallenden dreizehn Unterklassen). Die EC-Nummer entspricht der Enzyme Nomenklatur 1992 der NC-IUBMB, Academic Press, San Diego, California, eingeschlossen der Ergänzungen 1 bis 5, publiziert in Eur. J. Biochem. 1994, 223, 1-5; Eur. J. Biochem. 1995, 232, 1-6; Eur. J. Biochem. 1996, 237, 1-5; Eur. J. Biochem. 1997, 250, 1-6; and Eur. J. Biochem. 1999, 264, 610-650.

[0103] Subtilase benennt eine Untergruppe der Serinproteasen. Die Serinproteasen oder Serinpeptidasen sind eine Untergruppe der Proteasen, die Serin im aktiven Zentrums des Enzyms besitzen, das ein kovalentes Addukt mit dem Substrat bildet. Weiterhin sind die Subtilasen (und die Serineproteasen) dadurch charakterisiert, dass sie neben besagtem Serin mit Histidin und Aspartam zwei weitere Aminosäurereste im aktiven Zentrum aufweisen. Die Subtilasen können in 6 Unterklassen, nämlich die Subtilisin Familie, die Thermitase Familie, die Proteinase K Familie, die Familie der lantibiotischen Peptidasen, die Kexin Familie und die Pyrolysin Familie. Die als Bestandteil der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen bevorzugt ausgenommenen oder bevorzugt in reduzierten Mengen enthaltenen Proteasen sind Endopeptidasen (EC 3.4.21).

[0104] "Proteaseaktivität" liegt erfindungsgemäß vor, wenn das Enzym proteolytische Aktivität besitzt (EC 3.4). Verschiedenartige Proteaseaktivitäts-Typen sind bekannt: Die drei Haupttypen sind: Trypsin-artig, wobei eine Spaltung des Amidesubstrates nach den Aminosäuren Arg oder Lys bei P1 erfolgt; Chymotrypsin-artig, wobei eine Spaltung nach einer der hydrophoben Aminosäuren bei P1 erfolgt; und Elastase-artig, wobei eine Spaltung des Amidsubstrates nach Ala bei P1 erfolgt.

[0105] Die Proteaseaktivität kann nach der in Tenside, Band 7 (1970), S. 125-132 beschriebenen Methode ermittelt werden. Sie wird dementsprechend in PE (Protease-Einheiten) angegeben. Die Proteaseaktivität eines Enzyms lässt sich gemäß gängigen Standardmethoden, wie insbesondere unter Einsatz von BSA als Substrat (Rinderalbumin) und/oder mit der AAPF-Methode.

[0106] Es ist erfindungsgemäß bevorzugt, wenn die flüssigen Zusammensetzungen zusätzlich mindestens eine Cellulase enthalten. Eine Cellulase ist ein Enzym. Für Cellulasen können synonyme Begriffe verwendet werden, insbesondere Endoglucanase, Endo-1,4-beta-Glucanase, Carboxymethylcellulase, Endo-1,4-beta-D-Glucanase, beta-1,4-Glucanase, beta-1,4-Endoglucanhydrolase, Celluloxtrinoxidase oder Avicelase. Entscheidend dafür, ob ein Enzym eine Cellulase im Sinne der Erfindung ist, ist deren Fähigkeit zur Hydrolyse von 1,4-β-D-glucosidischen Bindungen in Cellulose.

[0107] Erfindungsgemäß konfektionierbare Cellulasen (Endoglucanasen, EG) umfassen beispielsweise die pilzliche, Endoglucanase(EG)-reiche Cellulase-Präparation beziehungsweise deren Weiterentwicklungen, die von dem Unternehmen Novozymes unter dem Handelsnamen Celluzyme® angeboten wird. Die ebenfalls von dem Unternehmen Novozymes erhältlichen Produkte Endolase® und Carezyme® basieren auf der 50 kD-EG, beziehungsweise der 43 kD-EG aus *Humicola insolens* DSM 1800. Weitere einsetzbare Handelsprodukte dieses Unternehmens sind Cellusoft®, Renozyme® und Celluclean®. Weiterhin einsetzbar sind beispielsweise Cellulasen, die von dem Unternehmen AB Enzymes, Finnland, unter den Handelsnamen Ecostone® und Biotouch® erhältlich sind, und die zumindest zum Teil auf der 20 kD-EG aus *Melanocarpus* basieren. Weitere Cellulasen von dem Unternehmen 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 dem Unternehmen Danisco/Genencor unter dem Handelsnamen Puradax® erhältlich ist. Weitere verwendbare Handelsprodukte des Unternehmens Danisco/Genencor sind "Genencor detergent cellulase L" und IndiAge®Neutra.

Auch durch Punktmutationen erhältliche Varianten dieser Enzyme können erfindungsgemäß eingesetzt werden. Besonders bevorzugte Cellulasen sind *Thielavia terrestris* Cellulasevarianten, die in der internationalen Offenlegungsschrift WO 98/12307 offenbart sind, Cellulasen aus *Melanocarpus*, insbesondere *Melanocarpus albomyces*, die in der internationalen Offenlegungsschrift WO 97/14804 offenbart sind, Cellulasen vom EGIII-Typ aus *Trichoderma reesei*, die in der europäischen Patentanmeldung EP 1 305 432 offenbart sind bzw. hieraus erhältliche Varianten, insbesondere diejenigen, die offenbart sind in den europäischen Patentanmeldungen EP 1240525 und EP 1305432, sowie Cellulasen, die offenbart sind in den internationalen Offenlegungsschriften WO 1992006165, WO 96/29397 und WO 02/099091. Auf deren jeweilige Offenbarung wird daher ausdrücklich verwiesen bzw. deren diesbezüglicher Offenbarungsgehalt wird daher ausdrücklich in die vorliegende Patentanmeldung mit einbezogen.

[0108] Erfindungsgemäß besonders bevorzugte Zusammensetzungen sind dadurch gekennzeichnet, dass als zusätzliche Cellulase mindestens eine Cellulase aus *Melanocarpus* sp. oder *Myriococcum* sp. erhältlich 20K-Cellulase oder solcher, die eine Homologie von über 80% (zunehmend bevorzugt von über 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) dazu aufweist.

[0109] Die aus *Melanocarpus* sp. oder *Myriococcum* sp. erhältliche 20K-Cellulase ist aus der internationalen Patentanmeldung WO 97/14804 bekannt. Sie besitzt wie dort beschrieben ein Molekulargewicht von etwa 20 kDa und weist bei 50 °C im pH-Bereich von 4 bis 9 mindestens 80% ihrer maximalen Aktivität auf, wobei noch fast 50% der maximalen Aktivität bei pH 10 erhalten bleiben. Sie kann, wie ebenfalls dort beschrieben, aus *Melanocarpus albomyces* isoliert und in gentechnisch hergestellten *Trichoderma reesei*-Transformanten produziert werden. Im Sinne der vorliegenden Erfindung brauchbar sind auch Cellulasen, die eine Homologie von über 80% (zunehmend bevorzugt von über 81%, 82%,

83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) zur 20K-Cellulase aufweisen.

[0110] K20-Cellulase wird vorzugsweise in solchen Mengen verwendet, dass eine erfindungsgemäße Zusammensetzung eine cellulolytische Aktivität von 1 NCU/g bis 500 NCU/g (bestimmbar durch die Hydrolyse von 1-gewichtsprozentiger Carboxymethylcellulose bei 50 °C und neutralem pH und Bestimmung der dabei freigesetzten reduzierenden Zucker mittels Dinitrosalicylsäure, wie von M.J.Bailey et al. in *Enzyme Microb. Technol.* 3: 153 (1981) beschrieben; 1 NCU definiert die Enzymmenge, die reduzierenden Zucker in einer Menge erzeugt, die 1 nmol Glukose pro Sekunde entspricht), insbesondere von 2 NCU/g bis 400 NCU/g und besonders bevorzugt von 6 NCU/g bis 200 NCU/g aufweist. Daneben kann die erfindungsgemäße Zusammensetzung gegebenenfalls noch weitere Cellulasen enthalten.

[0111] Eine erfindungsgemäße Zusammensetzung enthält vorzugsweise 0,001 mg bis 0,5 mg, insbesondere 0,02 mg bis 0,3 mg an cellulolytischem Protein pro Gramm der gesamten Zusammensetzung. Die Proteinkonzentration kann mit Hilfe bekannter Methoden, zum Beispiel dem Bicinchonsäure-Verfahren (BCA-Verfahren, Pierce Chemical Co., Rockford, IL) oder dem Biuret-Verfahren (A.G. Gornall, C.S. Bardawill und M.M. David, *J. Biol. Chem.* 177, 751-766, 1948) bestimmt werden.

[0112] Es ist erfindungsgemäß wiederum besonders bevorzugt, zusätzlich zu mindestens einer ersten Cellulase aus *Melanocarpus sp.* oder *Myriococcus sp.* erhältlicher 20K-Cellulase oder solcher, die eine Homologie von über 80% (zunehmend bevorzugt von über 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) dazu aufweist mindestens eine weitere von der ersten Cellulase verschiedene zweite Cellulase einzusetzen.

[0113] Im allgemeinen können die in einer erfindungsgemäßen Zusammensetzung enthaltenen Enzyme an Trägerstoffe adsorbiert und/oder in Hüllsubstanzen eingebettet sein, um sie gegen vorzeitige Inaktivierung zu schützen.

[0114] Erfindungsgemäße Zusammensetzungen können die erhaltenen Enzyme in jeder nach dem Stand der Technik etablierten Form zugesetzt werden. Hierzu gehören insbesondere die durch Granulation, Extrusion oder Lyophilisierung erhaltenen festen Präparationen, vorteilhafterweise möglichst konzentriert, wasserarm und/oder mit Stabilisatoren versetzt. In einer alternativen Darreichungsform können die Enzyme auch verkapselt werden, beispielsweise durch Sprühtrocknung oder Extrusion der Enzymlösung zusammen mit einem, vorzugsweise natürlichen Polymer oder in Form von Kapseln, beispielsweise solchen, bei denen die Enzyme wie in einem erstarrten Gel eingeschlossen sind, oder in solchen vom Kern-Schale-Typ, bei dem ein enzymhaltiger Kern mit einer Wasser-, Luft- und/oder Chemikalien-undurchlässigen Schutzschicht überzogen ist. In aufgelagerten Schichten können zusätzlich weitere Wirkstoffe, beispielsweise Stabilisatoren, Emulgatoren, Pigmente, Bleich- oder Farbstoffe aufgebracht werden. Derartige Kapseln werden nach an sich bekannten Methoden, beispielsweise durch Schüttel- oder Rollgranulation oder in Fluid-bed-Prozessen aufgebracht. Vorteilhafterweise sind derartige Granulate, beispielsweise durch Aufbringen polymerer Filmbildner, staubarm und aufgrund der Beschichtung lagerstabil.

[0115] Zusätzlich können die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen weitere Inhaltsstoffe enthalten, die die anwendungstechnischen und/oder ästhetischen Eigenschaften des Waschmittels weiter verbessern. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung enthält die erfindungsgemäße Zusammensetzung vorzugsweise zusätzlich einen oder mehrere Stoffe aus der Gruppe der Bleichmittel, Komplexbildner, Gerüststoffe, Elektrolyte, pH-Stellmittel, Parfüme, Parfümträger, Fluoreszenzmittel, Farbstoffe, Hydrotrope, Schauminhibitoren, Silikonöle, Antiredepositionsmittel, Einlaufverhinderer, Knitterschutzmittel, Farbübertragungsinhibitoren, antimikrobiellen Wirkstoffe, Germizide, Fungizide, Antioxidantien, Konservierungsmittel, Korrosionsinhibitoren, Antistatika, Bittermittel, Bügelhilfsmittel, Phobier- und Imprägniermittel, Quell- und Schiebefestmittel, weichmachenden Komponenten sowie UV-Absorber.

[0116] Als Bleichmittel können alle Stoffe dienen, die durch Oxidation, Reduktion oder Adsorption Farbstoffe zerstören bzw. aufnehmen und dadurch Materialien entfärben. Dazu gehören unter anderem hypohalogenenthaltige Bleichmittel, Wasserstoffperoxid, Perborat, Percarbonat, Peroxoessigsäure, Diperoxoazelaensäure, Diperoxododecandisäure und oxidative Enzymsysteme.

[0117] Als Gerüststoffe, die in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung enthalten sein können, sind insbesondere Silikate, Aluminiumsilikate (insbesondere Zeolithe), Carbonate, Salze organischer Di- und Polycarbonsäuren sowie Mischungen dieser Stoffe zu nennen.

[0118] Organische Gerüststoffe, welche in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung vorhanden sein können, sind beispielsweise die in Form ihrer Natriumsalze einsetzbaren Polycarbonsäuren, wobei unter Polycarbonsäuren solche Carbonsäuren verstanden werden, die mehr als eine Säurefunktion tragen. Beispielsweise sind dies Citronensäure, Adipinsäure, Bernsteinsäure, Glutarsäure, Äpfelsäure, Weinsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Zuckersäuren, Amino-carbonsäuren, sowie Mischungen aus diesen. Bevorzugte Salze sind die Salze der Polycarbonsäuren wie Citronensäure, Adipinsäure, Bernsteinsäure, Glutarsäure, Weinsäure, Zuckersäuren und Mischungen aus diesen.

[0119] Als Gerüststoffe sind weiter polymere Polycarboxylate geeignet. Dies sind beispielsweise die Alkalimetallsalze der Polyacrylsäure oder der Polymethacrylsäure, zum Beispiel solche mit einer relativen Molekülmasse von 600 bis

750.000 g/mol.

[0120] Geeignete Polymere sind insbesondere Polyacrylate, die bevorzugt eine Molekülmasse von 1.000 bis 15.000 g/mol aufweisen. Aufgrund ihrer überlegenen Löslichkeit können aus dieser Gruppe wiederum die kurzkettigen Polyacrylate, die Molmassen von 1.000 bis 10.000 g/mol, und besonders bevorzugt von 1.000 bis 5.000 g/mol, aufweisen, bevorzugt sein.

[0121] Geeignet sind weiterhin copolymere Polycarboxylate, insbesondere solche der Acrylsäure mit Methacrylsäure und der Acrylsäure oder Methacrylsäure mit Maleinsäure. Zur Verbesserung der Wasserlöslichkeit können die Polymere auch Allylsulfonsäuren, wie Allyloxybenzolsulfonsäure und Methallylsulfonsäure, als Monomer enthalten.

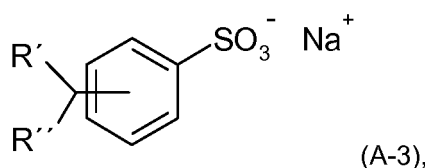
[0122] In den erfindungsgemäßen flüssigen Zusammensetzungen werden bevorzugt lösliche Gerüststoffe, wie beispielsweise Citronensäure, oder Acrylpolymere mit einer Molmasse von 1.000 bis 5.000 g/mol eingesetzt.

[0123] Eine erfindungsgemäß ganz besonders bevorzugte Flüssige Zusammensetzung, insbesondere für die Reinigung von Textilien, enthält

(a) Wasser,

(b1) mindestens ein anionisches Tensid der Formel $R^1-O-(AO)_n-SO_3^- X^+$, und

(b2) mindestens ein anionisches Tensid der Formel A-3



und

(b3) mindestens ein nichtionisches Tensid der Formel $R^2-O-(AO)_m-H$, wobei in den Formeln unter (b1), (b2), (b3)

R^1 R' und R'' für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkyl-, Aryl- oder Alkylarylrest, zusammen 9 bis 19, vorzugsweise 11 bis 15 und insbesondere 11 bis 13 C-Atome enthalten,

AO unabhängig voneinander für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung,

n, m unabhängig voneinander für ganze Zahlen von 1 bis 50,

X für ein einwertiges Kation oder den n-ten Teil eines n-wertigen Kations stehen,

(c) mindestens eine Lipase

(d) mindestens eine Mannanase,

(e) mindestens eine α -Amylase,

(f) bevorzugt mindestens eine Cellulase,

(g) bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung Enzym mit Proteaseaktivität in einer Gesamtmenge von 0 bis 0,0005 Gew.-% mit der Maßgabe, dass auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung bezogen die Gesamtmenge an Tensid zwischen 0,1 und 13 Gew.-%, bevorzugt von 3,0 bis 10,0 Gew.-%, beträgt. Dabei sind im Rahmen dieser Ausführungsform *mutatis mutandis* wiederum die zuvor als bevorzugt gekennzeichneten Vertreter (*vide supra*) der obigen Merkmale (a) bis (g) bevorzugt, insbesondere die bevorzugten Mengen der Inhaltsstoffe.

[0124] Ein zweiter Erfindungsgegenstand ist die Verwendung einer flüssigen Zusammensetzung des ersten Erfindungsgegenstandes gegen die Vergrauung von Textilien.

[0125] Ein dritter Erfindungsgegenstand ist die Verwendung einer flüssigen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 20 zur Reinigung von Textilien.

[0126] Ein vierter Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Textilreinigung, umfassend die Bereitstellung einer Waschflotte unter Einsatz von mindestens folgenden Komponenten

(i) mindestens einer Zusammensetzung des ersten Erfindungsgegenstandes,

(ii) bevorzugt mindestens einem Lösemittel, insbesondere Wasser, und

(iii) mindestens einem Textil.

[0127] Eine Waschflotte ist erfindungsgemäß zumindest die Gesamtmenge der unter (i) und (iii) aufgezählten Komponenten.

[0128] Verfahren zur Textilreinigung 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 einer Zusammensetzung des ersten Erfindungsgegenstandes oder einer Lösung dieser Zusammensetzung behandelt wird.

[0129] Wird der Waschflotte zusätzlich Komponente (ii) des erfindungsgemäßen Verfahrens zugeführt, so ist es erfindungsgemäß bevorzugt, einen Volumenteil der Komponente (i) mit 5 bis 3000 Volumenteilen der Komponente (ii) zu kombinieren.

[0130] In den beschriebenen Verfahren werden in verschiedenen Ausführungsformen der Erfindung Temperaturen von 60 °C oder weniger, 40 °C oder weniger, 30 °C oder weniger oder 20 °C oder weniger, eingesetzt. Diese Temperaturangaben beziehen sich auf die in den Waschschritten eingesetzten Temperaturen.

Beispiele

[0131] Folgende Zusammensetzungen wurden hergestellt:

Inhaltsstoff	V1 Menge in Gew.-%	E1 Menge in Gew.-%
Borsäure	0,5	0,5
Säure	ad pH 8,5	ad pH 8,5
Fettalkoholethersulfat mit 2 Mol EO	4,6	3,0
Fettalkoholether mit 7 EO	3,7	3,3
Alkylbenzolsulfonsäure	3,0	2,7
NaOH	0,6	0,6
Kokosnussfettsäureseife	1,3	0,5
Acusol OP 301	0,1	0,1
Amylase nach SEQ ID NO.2	-	0,04
Mannanase nach SEQ ID NO.1	-	0,04
Lipase	-	0,05
Cellulase gemäß Punkt 18 (<i>vide supra</i>)	0,07	0,07
Cellulase	0,02	0,02
Wasser	Ad 100	Ad 100

[0132] Darüber hinaus wurden als weitere Vergleichszusammensetzungen die erfindungsgemäße Zusammensetzung E1 ohne den Zusatz von Lipase, ohne den Zusatz von Mannanase und ohne den Zusatz von Lipase und ohne Mannanase hergestellt und der Enzymgehalt entsprechend durch Wasser ersetzt.

Ermittlung der Antigrau-Leistung im Waschtest

[0133] In einer Waschmaschine vom Typ Miele Softtronic W 1734 wurde im Waschprogramm "easy care" standardisierte weiße Testwäsche (2,5 kg) in Gegenwart von jeweils frisch standardisiert beschmutzter Wäsche für einen Zeitraum von 70 Minuten und einem Wasserlevel von 17 Litern (Härte 16 d) 5 mal gewaschen.

[0134] Mittels farbmeterischer Messungen wurde der Y-Wert des weißen Testwaschguts vor und nach dem Waschen gemessen und die Differenz dY vor und nach dem Waschen berechnet. Je größer der dY-Wert umso näher liegt der Weißwert des Waschguts nach der Wäsche am Ausgangswert und umso besser ist die Antigrauleistung.

Weisses Testwaschgut	V1	V2 (E1 ohne Lipase)	V3 E1 ohne Mannanase	V4 E1 ohne Lipase, Manannase	E1
Baumwolle	-5,3	-4,6	-4,2	-5,4	-3,4
Synthetics	-5,9	-6,1	-4,2	-6,3	-3,9
Standard Textilien	-5,9	-4,5	-4,5	-6,4	-3,7
Mittelwert	-5,7	-5,1	-4,3	-6,0	-3,7

[0135] Die erfindungsgemäße Zusammensetzung E1 weist trotz reduzierter Tensidmenge die beste Antigrauleistung auf.

SEQUENCE LISTING

5

[0136]

<110> Henkel AG & Co. KGaA

10

<120> Wasch- oder Reinigungsmittel mit reduziertem Tensidgehalt

<130> PT032362 EP

15

<140> EP 14809627.4

<141> 2014-12-08

<150> DE 10 2013 226 835.1

<151> 2013-12-20

20

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

25

<210> 1

<211> 490

<212> PRT

<213> Bacillus strain I633 Mannanase precursor

30

<400> 1

35

40

45

50

55

EP 3 083 923 B1

	Leu	Asn	Asn	Gly	Phe	Lys	Lys	Ile	Phe	Ser	Ile	Thr	Leu	Ser	Leu	Leu	
	1				5					10					15		
5	Leu	Ala	Ser	Ser	Ile	Leu	Phe	Val	Ser	Gly	Thr	Ser	Thr	Ala	Asn	Ala	
				20					25					30			
10	Asn	Ser	Gly	Phe	Tyr	Val	Ser	Gly	Thr	Thr	Leu	Tyr	Asp	Ala	Asn	Gly	
			35					40					45				
15	Asn	Pro	Phe	Val	Met	Arg	Gly	Ile	Asn	His	Gly	His	Ala	Trp	Tyr	Lys	
		50					55					60					
20	Asp	Gln	Ala	Thr	Thr	Ala	Ile	Glu	Gly	Ile	Ala	Asn	Thr	Gly	Ala	Asn	
	65					70					75					80	
25	Thr	Val	Arg	Ile	Val	Leu	Ser	Asp	Gly	Gly	Gln	Trp	Thr	Lys	Asp	Asp	
				85						90					95		
30	Ile	His	Thr	Val	Arg	Asn	Leu	Ile	Ser	Leu	Ala	Glu	Asp	Asn	His	Leu	
				100					105					110			
35	Val	Ala	Val	Pro	Glu	Val	His	Asp	Ala	Thr	Gly	Tyr	Asp	Ser	Ile	Ala	
			115					120					125				
40	Ser	Leu	Asn	Arg	Ala	Val	Asp	Tyr	Trp	Ile	Glu	Met	Arg	Ser	Ala	Leu	
		130					135					140					

EP 3 083 923 B1

	Ile	Gly	Lys	Glu	Asp	Thr	Val	Ile	Ile	Asn	Ile	Ala	Asn	Glu	Trp	Phe	
	145						150				155					160	
5	Gly	Ser	Trp	Glu	Gly	Asp	Ala	Trp	Ala	Asp	Gly	Tyr	Lys	Gln	Ala	Ile	
					165					170					175		
10	Pro	Arg	Leu	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu	Asn	His	Thr	Leu	Met	Val	Asp	Ala	
				180					185					190			
15	Ala	Gly	Trp	Gly	Gln	Phe	Pro	Gln	Ser	Ile	His	Asp	Tyr	Gly	Arg	Glu	
			195					200					205				
20	Val	Phe	Asn	Ala	Asp	Pro	Gln	Arg	Asn	Thr	Met	Phe	Ser	Ile	His	Met	
	210						215					220					
25	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Gly	Gly	Asn	Ala	Ser	Gln	Val	Arg	Thr	Asn	Ile	Asp	
	225					230					235					240	
30	Arg	Val	Leu	Asn	Gln	Asp	Leu	Ala	Leu	Val	Ile	Gly	Glu	Phe	Gly	His	
					245					250					255		
35	Arg	His	Thr	Asn	Gly	Asp	Val	Asp	Glu	Ala	Thr	Ile	Met	Ser	Tyr	Ser	
				260					265					270			
40	Glu	Gln	Arg	Gly	Val	Gly	Trp	Leu	Ala	Trp	Ser	Trp	Lys	Gly	Asn	Gly	
			275					280					285				
45	Pro	Glu	Trp	Glu	Tyr	Leu	Asp	Leu	Ser	Asn	Asp	Trp	Ala	Gly	Asn	Asn	
		290					295					300					
50	Leu	Thr	Ala	Trp	Gly	Asn	Thr	Ile	Val	Asn	Gly	Pro	Tyr	Gly	Leu	Arg	
	305					310					315					320	
55	Glu	Thr	Ser	Arg	Leu	Ser	Thr	Val	Phe	Thr	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Gly	
					325					330					335		
60	Gly	Thr	Ser	Pro	Thr	Thr	Leu	Tyr	Asp	Phe	Glu	Gly	Ser	Met	Gln	Gly	
				340					345					350			
65	Trp	Thr	Gly	Ser	Ser	Leu	Ser	Gly	Gly	Pro	Trp	Ala	Val	Thr	Glu	Trp	
			355					360					365				
70	Ser	Ser	Lys	Gly	Ser	His	Ser	Leu	Lys	Ala	Asp	Ile	Gln	Leu	Ser	Ser	
		370					375					380					
75	Asn	Ser	Gln	His	Tyr	Leu	His	Val	Ile	Gln	Asn	Thr	Ser	Leu	Gln	Gln	
	385					390					395					400	

EP 3 083 923 B1

	Asn	Ser	Arg	Ile	Gln	Ala	Thr	Val	Lys	His	Ala	Asn	Trp	Gly	Ser	Val	
					405					410					415		
5	Gly	Asn	Gly	Met	Thr	Ala	Arg	Leu	Tyr	Val	Lys	Thr	Gly	His	Gly	Tyr	
				420					425					430			
10	Thr	Trp	Tyr	Ser	Gly	Ser	Phe	Val	Pro	Ile	Asn	Gly	Ser	Ser	Gly	Thr	
			435					440					445				
15	Thr	Leu	Ser	Leu	Asp	Leu	Ser	Asn	Val	Gln	Asn	Leu	Ser	Gln	Val	Arg	
		450					455					460					
20	Glu	Ile	Gly	Val	Gln	Phe	Gln	Ser	Ala	Ser	Asp	Ser	Ser	Gly	Gln	Thr	
	465					470					475					480	
25	Ser	Ile	Tyr	Ile	Asp	Asn	Val	Ile	Val	Glu							
					485					490							
	<210> 2																
	<211> 483																
	<212> PRT																
	<213> Bacillus alpha amylase AA349 variant																
	<400> 2																
30	His	His	Asn	Gly	Thr	Asn	Gly	Thr	Met	Met	Gln	Tyr	Phe	Glu	Trp	Tyr	
	1				5					10					15		
35	Leu	Pro	Asn	Asp	Gly	Asn	His	Trp	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Ala	Ser	
				20					25					30			
40	Asn	Leu	Lys	Asp	Lys	Gly	Ile	Ser	Ala	Val	Trp	Ile	Pro	Pro	Ala	Trp	
			35					40					45				
45	Lys	Gly	Ala	Ser	Gln	Asn	Asp	Val	Gly	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Leu	Tyr	
		50					55					60					
50	Asp	Leu	Gly	Glu	Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Thr	Ile	Arg	Thr	Lys	Tyr	Gly	
	65					70					75					80	
55	Thr	Arg	Asn	Gln	Leu	Gln	Ala	Ala	Val	Asn	Ala	Leu	Lys	Ser	Asn	Gly	
					85					90					95		
	Ile	Gln	Val	Tyr	Gly	Asp	Val	Val	Met	Asn	His	Lys	Gly	Gly	Ala	Asp	
				100					105					110			
	Ala	Thr	Glu	Met	Val	Lys	Ala	Val	Glu	Val	Asn	Pro	Asn	Asn	Arg	Asn	
			115					120					125				

EP 3 083 923 B1

	Gln	Glu	Val	Ser	Gly	Glu	Tyr	Thr	Ile	Glu	Ala	Trp	Thr	Lys	Phe	Asp	
	130						135					140					
5	Phe	Pro	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	His	Ser	Asn	Phe	Lys	Trp	Arg	Trp	Tyr	
	145					150					155					160	
	His	Phe	Asp	Gly	Val	Asp	Trp	Asp	Gln	Ser	Arg	Lys	Leu	Asn	Asn	Arg	
10					165					170					175		
	Ile	Tyr	Lys	Phe	Arg	Gly	Lys	Gly	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Asp	Thr	Glu	
				180					185					190			
15	Phe	Gly	Asn	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Ile	Asp	Met	Asp	His	
			195					200					205				
	Pro	Glu	Val	Val	Asn	Glu	Leu	Arg	Asn	Trp	Gly	Val	Trp	Tyr	Thr	Asn	
20		210					215					220					
	Thr	Leu	Gly	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	His	Ile	Lys	
25	225					230					235					240	
	Tyr	Ser	Phe	Thr	Arg	Asp	Trp	Ile	Asn	His	Val	Arg	Ser	Ala	Thr	Gly	
					245					250					255		
30	Lys	Asn	Met	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Phe	Trp	Lys	Asn	Asp	Leu	Gly	Ala	
				260					265					270			
	Ile	Glu	Asn	Tyr	Leu	Asn	Lys	Thr	Asn	Trp	Asn	His	Ser	Val	Phe	Asp	
35			275					280					285				
	Val	Pro	Leu	His	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Asn	Ala	Ser	Lys	Ser	Gly	Gly	Asn	
		290					295					300					
40	Tyr	Asp	Met	Arg	Gln	Ile	Phe	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Gln	Lys	His	Pro	
	305					310					315					320	
	Met	His	Ala	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Ser	Gln	Pro	Glu	Glu	
45					325					330					335		
	Ala	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Glu	Glu	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala	Tyr	Ala	
50				340					345					350			
	Leu	Thr	Leu	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Tyr	Pro	Ser	Val	Phe	Tyr	Gly	Asp	
			355					360					365				
55	Tyr	Tyr	Gly	Ile	Pro	Thr	His	Gly	Val	Pro	Ala	Met	Lys	Ser	Lys	Ile	
		370					375					380					

Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Arg Gln Asn
385 390 395 400

Asp Tyr Leu Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu Gly Asn
405 410 415

Thr Ala His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp Gly Ala
420 425 430

Gly Gly Asn Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly Gln Val
435 440 445

Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Lys Ala Gly Thr Val Thr Ile Asn Ala
450 455 460

Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile Trp
465 470 475 480

Val Asn Lys

Patentansprüche

1. Flüssige Zusammensetzung, insbesondere für die Reinigung von Textilien, enthaltend

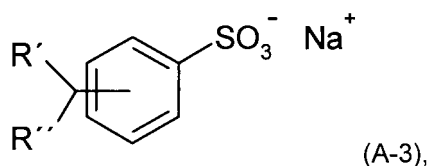
- (a) Wasser,
- (b) mindestens ein Tensid,
- (c) mindestens eine Lipase
- (d) mindestens eine Mannanase,
- (e) mindestens eine α -Amylase,

mit der Maßgabe, dass auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung bezogen die Gesamtmenge an Tensid zwischen 0,1 und 13 Gew.-% beträgt und bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung Enzym mit Proteaseaktivität in einer Gesamtmenge von 0 bis 0,0005 Gew.-% enthalten ist.

2. Flüssige Zusammensetzung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Tensid mindestens ein anionisches Tensid enthalten ist.

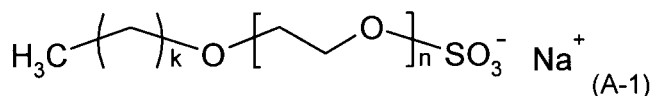
3. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** anionisches Tensid auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung bezogen in einer Gesamtmenge von 0,1 bis 10,0 Gew.-%, bevorzugt von 2,0 bis 9,0 Gew.-%, besonders bevorzugt von 4,0 bis 7,0 Gew.-%, enthalten ist.

4. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** als anionisches Tensid mindestens ein Tensid der Formel (A-3) enthalten,



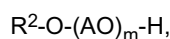
in der R' und R'' zusammen 9 bis 19, vorzugsweise 11 bis 15 und insbesondere 11 bis 13 C-Atome enthalten.

5. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet, dass** als anionisches Tensid mindestens ein Fettalkoholethersulfat der Formel A-1



mit $k = 11$ bis 19 , $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 8 , enthalten ist.

6. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Tensid mindestens ein nichtionisches Tensid enthalten ist.
7. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** nichtionisches Tensid auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung bezogen in einer Gesamtmenge von $0,1$ bis $10,0$ Gew.-%, bevorzugt von $1,0$ bis $5,0$ Gew.-%, besonders bevorzugt von $2,0$ bis $4,0$ Gew.-%, enthalten ist.
8. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** als nichtionisches Tensid mindestens ein nichtionisches Tensid der Formel



in der

R^2 für einen linearen oder verzweigten, substituierten oder unsubstituierten Alkyl-, Aryl- oder Alkylarylrest, AO für eine Ethylenoxid- (EO) oder Propylenoxid- (PO) Gruppierung, m für ganze Zahlen von 1 bis 50 stehen,

enthalten ist.

9. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** mindestens eine Lipase enthalten ist, ausgewählt aus einem oder mehreren Polypeptiden mit einer Aminosäuresequenz, die zu mindestens 90% zur Wildtyp Lipase aus dem Stamm DSM 4109 *Thermomyces lanuginosus* identisch ist.
10. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** mindestens eine Lipase enthalten ist, ausgewählt aus einem oder mehreren Polypeptiden mit einer Aminosäuresequenz abgeleitet von der Wildtyp Lipase aus dem Stamm DSM 4109, bei der mindestens einer der folgenden Aminosäureaustausche in den Positionen D96L und/oder T213R und/oder N233R, bevorzugt mindestens T213R und N233R, vorliegt.
11. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, **dadurch gekennzeichnet, dass** bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung Lipase-Enzym in einer Gesamtmenge von $0,01$ bis $1,0$ Gew.-%, insbesondere von $0,02$ bis $0,1$ Gew.-%, enthalten ist.
12. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** mindestens eine Mannanase enthalten ist, die ausgewählt wird aus mindestens einem Vertreter aus der Gruppe, die gebildet wird aus
- (i) Polypeptiden, die eine Aminosäuresequenz umfassen, die mindestens 90% (zunehmend bevorzugt $90,5\%$, 91% , $91,5\%$, 92% , $92,5\%$, 93% , $93,5\%$, 94% , $94,5\%$, 95% , $95,5\%$, 96% , $96,5\%$, 97% , $97,5\%$, 98% , $98,5\%$, $99,0\%$, $99,1\%$, $99,2\%$, $99,3\%$, $99,4\%$, $99,5\%$, $99,6\%$, $99,7\%$ oder $99,8\%$) Sequenzidentität zu dem Polypeptid gemäß SEQ ID NO.1 hat, und
- (ii) Polypeptiden, die ein Fragment von (i) sind.
13. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Mannanase ausgewählt aus mindestens einem Vertreter aus der Gruppe, die gebildet wird aus

(i) Polypeptiden, die eine Aminosäuresequenz umfassen, die mindestens 90% (zunehmend bevorzugt mindestens $90,5\%$, 91% , $91,5\%$, 92% , $92,5\%$, 93% , $93,5\%$, 94% , $94,5\%$, 95% , $95,5\%$, 96% , $96,5\%$, 97% , $97,5\%$, 98% , $98,5\%$, $99,0\%$, $99,1\%$, $99,2\%$, $99,3\%$, $99,4\%$, $99,5\%$, $99,6\%$, $99,7\%$ oder $99,8\%$) Sequenzidentität zu dem

Polypeptid der Positionen 31 bis 490 gemäß SEQ ID No.1 aufweisen, und

(ii) Polypeptiden, die ein Fragment von (i) sind.

14. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 13, **dadurch gekennzeichnet, dass** bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung Mannanase in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%, enthalten ist.

15. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 14, **dadurch gekennzeichnet, dass** mindestens ein α -Amylase-Enzym enthalten ist, das zu mindestens 92% identisch zum Polypeptid der Sequenz mit der SEQ ID NO. 2 ist.

16. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, **dadurch gekennzeichnet, dass** bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung α -Amylase-Enzym in einer Gesamtmenge von 0,01 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere von 0,02 bis 0,1 Gew.-%, enthalten ist.

17. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 16, **dadurch gekennzeichnet, dass** zusätzlich mindestens eine Cellulase enthalten ist.

18. Flüssige Zusammensetzung nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Cellulase-Enzym mindestens eine Cellulase aus *Melanocarpus sp.* oder *Myriococcum sp.* erhältlich 20K-Cellulase oder solcher, die eine Homologie von über 80% (zunehmend bevorzugt von über 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90,5%, 91%, 91,5%, 92%, 92,5%, 93%, 93,5%, 94%, 94,5%, 95%, 95,5%, 96%, 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) dazu aufweist.

19. Flüssige Zusammensetzung nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet, dass** mindestens eine von der gemäß Anspruch 18 definierten Cellulase verschiedene zusätzliche zweite Cellulase enthalten ist.

20. Flüssige Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 19, **dadurch gekennzeichnet, dass** bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung Enzym mit Proteaseaktivität in einer Gesamtmenge von 0 bis 0,0001 Gew.-%, bevorzugt von 0 bis 0,00005 Gew.-%, enthalten ist.

21. Verwendung einer flüssigen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 20 gegen die Vergrauung von Textilien.

22. Verwendung einer flüssigen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 20 zur Reinigung von Textilien.

23. Verfahren zur Textilreinigung, umfassend die Bereitstellung einer Waschflotte unter Einsatz von mindestens folgenden Komponenten

- (i) mindestens einer Zusammensetzung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 20,
- (ii) bevorzugt mindestens einem Lösemittel, insbesondere Wasser, und
- (iii) mindestens einem Textil.

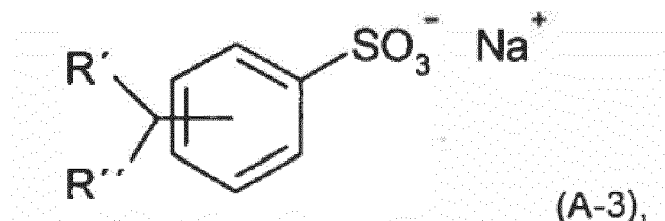
Claims

1. A liquid composition, in particular for cleaning textiles, containing

- (a) water,
- (b) at least one surfactant,
- (c) at least one lipase,
- (d) at least one mannanase,
- (e) at least one α -amylase,

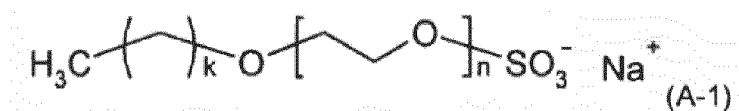
with the proviso that, based on the total weight of the composition, the total weight of surfactant is between 0.1 and 13 wt.% and, based on the total weight of the composition, enzyme having protease activity is contained in a total weight of from 0 to 0.0005 wt.%.

2. The liquid composition according to claim 1, **characterized in that** at least one anionic surfactant is contained as the surfactant.
3. The liquid composition according to one of claims 1 or 2, **characterized in that** anionic surfactant, based on the total weight of the composition, is contained in a total amount of from 0.1 to 10.0 wt.%, preferably from 2.0 to 9.0 wt.%, particularly preferably from 4.0 to 7.0 wt.%.
4. The liquid composition according to one of claims 1 to 3, **characterized in that** at least one surfactant of formula (A-3) is contained as the anionic surfactant,



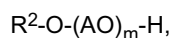
in which R' and R'' together contain 9 to 19, preferably 11 to 15, and in particular 11 to 13 C atoms.

5. The liquid composition according to one of claims 1 to 4, **characterized in that** at least one fatty alcohol ether sulfate of formula A-1 is contained as the anionic surfactant,



where k=11 to 19 and n=2, 3, 4, 5, 6, 7 or 8.

6. The liquid composition according to one of claims 1 to 5, **characterized in that** at least one non-ionic surfactant is contained as the surfactant.
7. The liquid composition according to one of claims 1 to 6, **characterized in that** non-ionic surfactant, based on the total weight of the composition, is contained in a total amount of from 0.1 to 10.0 wt.%, preferably from 1.0 to 5.0 wt.%, particularly preferably from 2.0 to 4.0 wt.%.
8. The liquid composition according to one of claims 1 to 7, **characterized in that** at least one non-ionic surfactant of the following formula is contained as the non-ionic surfactant



in which

R² represents a linear or branched, substituted or unsubstituted alkyl, aryl or alkylaryl functional group,
 AO represents an ethylene oxide (EO) or propylene oxide (PO) group,
 m represents integers from 1 to 50.

9. The liquid composition according to one of claims 1 to 8, **characterized in that** at least one lipase is contained, selected from one or more polypeptides having an amino acid sequence that is at least 90% identical to the wild type lipase of the strain DSM 4109 *Thermomyces lanuginosus*.
10. The liquid composition according to one of claims 1 to 9, **characterized in that** at least one lipase is contained, selected from one or more polypeptides having an amino acid sequence derived from the wild type lipase of the strain DSM 4109, in which at least one of the following amino acid substitutions is at the positions D96L and/or T213R and/or N233R, preferably at least T213R and N233R.

11. The composition according to one of claims 1 to 10, **characterized in that**, based on the total weight of the composition, lipase enzyme is contained in a total amount of from 0.01 to 1.0 wt.%, in particular from 0.02 to 0.1 wt.%.

12. The liquid composition according to one of claims 1 to 11, **characterized in that** at least one mannanase is contained which is selected from at least one representative from the group formed of

- (i) polypeptides which comprise an amino acid sequence of which the sequence is at least 90% (in order of increasing preference 90.5%, 91%, 91.5%, 92%, 92.5%, 93%, 93.5%, 94%, 94.5%, 95%, 95.5%, 96%, 96.5%, 97%, 97.5%, 98%, 98.5%, 99.0%, 99.1%, 99.2%, 99.3%, 99.4%, 99.5%, 99.6%, 99.7% or 99.8%) identical to the polypeptide according to SEQ ID NO:1, and
- (ii) polypeptides which are a fragment of (i).

13. The liquid composition according to one of claims 1 to 12, **characterized in that** the mannanase is selected from at least one representative from the group formed of

- (i) polypeptides which comprise an amino acid sequence of which the sequence is at least 90% (in order of increasing preference 90.5%, 91%, 91.5%, 92%, 92.5%, 93%, 93.5%, 94%, 94.5%, 95%, 95.5%, 96%, 96.5%, 97%, 97.5%, 98%, 98.5%, 99.0%, 99.1%, 99.2%, 99.3%, 99.4%, 99.5%, 99.6%, 99.7% or 99.8%) identical to the polypeptide of positions 31 to 490 according to SEQ ID NO:1, and
- (ii) polypeptides which are a fragment of (i).

14. The liquid composition according to one of claims 1 to 13, **characterized in that**, based on the total weight of the composition, mannanase is contained in a total amount of from 0.01 to 1.0 wt.%, in particular from 0.02 to 0.1 wt.%.

15. The liquid composition according to one of claims 1 to 14, **characterized in that** at least one α -amylase enzyme is contained that is at least 92% identical to the polypeptide of the sequence having SEQ ID NO:2.

16. The liquid composition according to one of claims 1 to 15, **characterized in that**, based on the total weight of the composition, α -amylase enzyme is contained in a total amount of from 0.01 to 1.0 wt.%, in particular from 0.02 to 0.1 wt.%.

17. The liquid composition according to one of claims 1 to 16, **characterized in that** at least one cellulase is additionally contained.

18. The liquid composition according to claim 17, **characterized in that** at least one cellulase of a 20K-cellulase that can be obtained from *Melanocarpus sp.* or *Myriococcum sp.* or of such a cellulase that has a homology thereto of more than 80% (in order of increasing preference 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 90.5%, 91%, 91.5%, 92%, 92.5%, 93%, 93.5%, 94%, 94.5%, 95%, 95.5%, 96%, 96.5%, 97%, 97.5%, 98%, 98.5%, 99.0%, 99.1%, 99.2%, 99.3%, 99.4%, 99.5%, 99.6%, 99.7%, 99.8% or 99.9%) as cellulase enzyme.

19. The liquid composition according to claim 18, **characterized in that** at least one additional second cellulase that is different from the cellulase defined in claim 18 is contained.

20. The liquid composition according to one of claims 1 to 19, **characterized in that**, based on the total weight of the composition, enzyme having protease activity is contained in a total amount of from 0 to 0.0001 wt.%, preferably from 0 to 0.00005 wt.%.

21. The use of a liquid composition according to one of claims 1 to 20 against the graying of textiles.

22. The use of a liquid composition according to one of claims 1 to 20 for cleaning textiles.

23. A method for cleaning textiles, comprising providing a washing liquor using at least the following components

- (i) at least one composition according to one of claims 1 to 20,
- (ii) preferably at least one solvent, in particular water, and
- (iii) at least one textile.

Revendications

1. Composition liquide, notamment pour le nettoyage des textiles, contenant

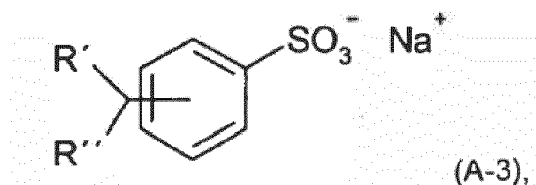
- (a) de l'eau,
 (b) au moins un tensioactif,
 (c) au moins une lipase
 (d) au moins une mannanase,
 (e) au moins une α -amylase,

à condition que, par rapport au poids total de la composition, la quantité totale de tensioactif soit comprise entre 0,1 et 13 % en poids et que, par rapport au poids total de la composition, une enzyme à activité de protéase soit présente en une quantité totale de 0 à 0,0005 % en poids.

2. Composition liquide selon la revendication 1, **caractérisée en ce qu'**au moins un tensioactif anionique est présent, en tant que tensioactif.

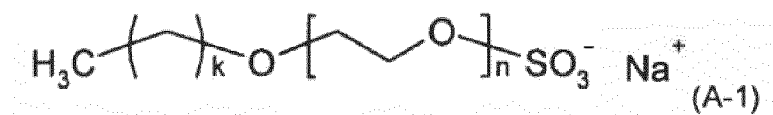
3. Composition liquide selon l'une des revendications 1 ou 2, **caractérisée en ce que** le tensioactif anionique, par rapport au poids total de la composition, est présent en une quantité totale de 0,1 à 10,0 % en poids, de préférence de 2,0 à 9,0 % en poids, de manière particulièrement préférée de 4,0 à 7,0 % en poids.

4. Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 3, **caractérisée en ce qu'**au moins un tensioactif de formule (A-3) est présent, en tant que tensioactif anionique,



formule dans laquelle R' et R'' contiennent ensemble de 9 à 19, de préférence de 11 à 15 et en particulier 11 à 13 atomes de carbone.

5. Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 4, **caractérisée en ce qu'**au moins un sulfate d'éther d'alcool gras de formule A-1 est présent, en tant que tensioactif anionique,

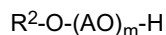


avec $k = 11$ à 19, $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ ou 8.

6. Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 5, **caractérisée en ce qu'**au moins un tensioactif non ionique est contenu, en tant que tensioactif.

7. Composition liquide selon l'une des revendications 1 ou 6, **caractérisée en ce que** le tensioactif non ionique est présent, par rapport au poids total de la composition, en une quantité totale de 0,1 à 10,0 % en poids, de préférence de 1,0 à 5,0 % en poids, de manière particulièrement préférée de 2,0 à 4,0 % en poids.

8. Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 7, **caractérisée en ce qu'**au moins un tensioactif non ionique de formule



est présent, en tant que tensioactif non ionique, formule dans laquelle

R² représente un radical alkyle, aryle ou alkylaryle, linéaire ou ramifié, substitué ou non substitué,
 AO, un groupement oxyde d'éthylène (OE) ou oxyde de propylène (OP),
 m, un nombre entier de 1 à 50.

- 5 **9.** Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 8, **caractérisée en ce qu'**au moins une lipase est présente, choisie parmi un ou plusieurs polypeptides ayant une séquence d'acides aminés identique à au moins 90% à la lipase de type sauvage de la souche DSM 4109 *Thermomyces lanuginosus*.
- 10 **10.** Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 9, **caractérisée en ce qu'**au moins une lipase est présente, choisie parmi un ou plusieurs polypeptides ayant une séquence d'acides aminés dérivée de la lipase de type sauvage de la souche DSM 4109, dans laquelle au moins l'une des substitutions d'acides aminés suivantes est présente aux positions D96L et/ou T213R et/ou N233R, de préférence au moins à T213R et N233R.
- 15 **11.** Composition selon l'une des revendications 1 à 10, **caractérisée en ce que**, par rapport au poids total de la composition, l'enzyme de lipase est présente en une quantité totale de 0,01 à 1,0 % en poids, en particulier de 0,02 à 0,1 % en poids.
- 20 **12.** Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 11, **caractérisée en ce qu'**au moins une mannanase est présente, choisie parmi au moins un représentant du groupe formé par
 - (i) des polypeptides comprenant une séquence d'acides aminés ayant une identité de séquence d'au moins 90 % (par ordre croissant de préférence, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99,0 %, 99,1 %, 99,2 %, 99,3 %, 99,4 %, 99,5 %, 99,6 %, 99,7 % ou 99,8 %) avec le polypeptide de SEQ ID No. 1, et
 - 25 (ii) les polypeptides qui sont un fragment de (i).
- 30 **13.** Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 12, **caractérisée en ce que** la mannanase est choisie parmi au moins un représentant du groupe formé par
 - (i) des polypeptides comprenant une séquence d'acides aminés présentant une identité de séquence d'au moins 90 % (par ordre croissant de préférence, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99,0 %, 99,1 %, 99,2 %, 99,3 %, 99,4 %, 99,5 %, 99,6 %, 99,7 % ou 99,8 %) avec le polypeptide des positions 31 à 490 de SEQ ID No. 1, et
 - 35 (ii) les polypeptides qui sont un fragment de (i).
- 40 **14.** Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 13, **caractérisée en ce que**, par rapport au poids total de la composition, la mannanase est présente en une quantité totale de 0,01 à 1,0 % en poids, en particulier de 0,02 à 0,1 % en poids.
- 45 **15.** Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 14, **caractérisée en ce qu'**au moins une enzyme α -amylase, qui est identique au moins à 92% au polypeptide de la séquence identifiée par SEQ ID NO. 2, est présente.
- 50 **16.** Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 15, **caractérisée en ce que**, par rapport au poids total de la composition, l'enzyme α -amylase est présente en une quantité totale de 0,01 à 1,0 % en poids, en particulier de 0,02 à 0,1 % en poids.
- 55 **17.** Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 16, **caractérisée en ce qu'**au moins une cellulase est présente en plus.
- 50 **18.** Composition liquide selon la revendication 17, **caractérisée en ce qu'**au moins une cellulase provenant d'une cellulase 20K pouvant être obtenue à partir de *Melanocarpus sp.* ou *Myriococcum sp.* ou une cellulase, présentant une homologie supérieure à 80 % avec celles-ci (par ordre croissant de préférence, à 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 90,5 %, 91 %, 91,5 %, 92 %, 92,5 %, 93 %, 93,5 %, 94 %, 94,5 %, 95 %, 95,5 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99,0 %, 99,1 %, 99,2 %, 99,3 %, 99,4 %, 99,5 %, 99,6 %, 99,7 %, 99,8 %, 99,9 %).
- 55 **19.** Composition liquide selon la revendication 18, **caractérisée en ce qu'**au moins une seconde cellulase supplémentaire différente de la cellulase définie selon la revendication 18 est présente.

20. Composition liquide selon l'une des revendications 1 à 19, **caractérisée en ce que**, par rapport au poids total de la composition, l'enzyme à activité de protéase est présente en une quantité totale de 0 à 0,0001 % en poids, de préférence de 0 à 0,00005 % en poids.

5 21. Utilisation d'une composition liquide selon l'une des revendications 1 à 20 pour lutter contre le grisaillement des textiles.

22. Utilisation d'une composition liquide selon l'une des revendications 1 à 20 pour le nettoyage des textiles.

10 23. Procédé de nettoyage de textiles, comprenant la fourniture d'un bain de lavage utilisant au moins les composants suivants

(i) au moins une composition selon l'une des revendications 1 à 20,

(ii) de préférence au moins un solvant, en particulier de l'eau, et

15 (iii) au moins un textile.

20

25

30

35

40

45

50

55

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

- WO 0060063 A1 [0063]
- WO 9964619 A [0072] [0082] [0083] [0084]
- WO 9703160 A1 [0085]
- GB 1296839 A [0085]
- WO 0210356 A2 [0085]
- WO 9623873 A1 [0089] [0090]
- WO 0060060 A2 [0089] [0090] [0096] [0099]
- WO 0166712 A2 [0089] [0090]
- WO 2005108537 A [0092] [0094]
- WO 9812307 A [0107]
- WO 9714804 A [0107] [0109]
- EP 1305432 A [0107]
- EP 1240525 A [0107]
- WO 1992006165 A [0107]
- WO 9629397 A [0107]
- WO 02099091 A [0107]
- EP 14809627 A [0136]
- DE 102013226835 [0136]

In der Beschreibung aufgeführte Nicht-Patentliteratur

- **ALTSCHUL, S. F. ; GISH, W. ; MILLER, W. ; MYERS, E. W. ; LIPMAN, D. J.** Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 1990, vol. 215, 403-410 [0051]
- **ALTSCHUL, STEPHAN F. ; THOMAS L. MADDEN ; ALEJANDRO A. SCHAFFER ; JINGHUI ZHANG ; HHENG ZHANG ; WEBB MILLER ; DAVID J. LIPMAN.** Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of Protein database search programs. *Nucleic Acids Res.*, 1997, vol. 25, 3389-3402 [0051]
- **CHENNA et al.** Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. *Nucleic Acid Research*, 2003, vol. 31, 3497-3500 [0051]
- **NOTREDAME et al.** T-Coffee: A novel method for multiple sequence alignments. *J. Mol. Biol.*, 2000, vol. 302, 205-217 [0051]
- Bestimmungsmethoden Enzyme für Pharmazie. **BRUNO STELLMACH.** Lebensmittelchemie, Technik, Biochemie, Biologie, Medizin. Steinkopff Verlag Darmstadt, 1988, 172 ff [0055]
- **D. J. LIPMAN ; W. R. PEARSON.** *Science*, 1985, vol. 227, 1435-1441 [0096]
- **FRITSCH ; SAMBROOK ; MANIATIS.** Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbour Laboratory Press, 1989 [0099]
- Enzyme Nomenklatur 1992 der NC-IUBMB. Academic Press [0102]
- *Eur. J. Biochem.*, 1994, vol. 223, 1-5 [0102]
- *Eur. J. Biochem.*, 1995, vol. 232, 1-6 [0102]
- *Eur. J. Biochem.*, 1996, vol. 237, 1-5 [0102]
- *Eur. J. Biochem.*, 1997, vol. 250, 1-6 [0102]
- *Eur. J. Biochem.*, 1999, vol. 264, 610-650 [0102]
- *Tenside*, 1970, vol. 7, 125-132 [0105]
- **M.J.BAILEY et al.** *Enzyme Microb. Technol.*, 1981, vol. 3, 153 [0110]
- **A.G. GORNALL ; C.S. BARDAWILL ; M.M. DAVID.** *J. Biol. Chem.*, 1948, vol. 177, 751-766 [0111]