



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**  
(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)** (11)   
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ  
(51)<sup>7</sup> **D06M 16/00, C12S 11/00, C11D 3/395, (13) B**  
D06P 5/06

---

(21) 1-2014-01142 (22) 07.09.2012  
(86) PCT/CN2012/081153 07.09.2012 (87) WO2013/040991 28.03.2013  
(30) PCT/CN2011/080113 23.09.2011 CN  
(45) 25.06.2019 375 (43) 25.09.2014 318  
(73) NOVOZYMES A/S (DK)  
Krogshoejvej 36, DK-2880 Bagsvaerd, Denmark  
(72) ZHOU, Yucheng (CN), WANG, Chu (CN), KALUM, Lisbeth (DE),  
OSTERGAARD, Lars Henrik (DE), HUANG, Wenqi (CN)  
(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK  
CO., LTD.)

---

(54) **PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SẢN PHẨM DỆT**

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp xử lý sản phẩm dệt để làm biến màu sản  
phẩm này, đặc biệt là ở vải sợi xenluloza nhuộm màu như vải bông chéo  
(denim), bằng peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian.

## **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến phương pháp xử lý sản phẩm dệt để làm biến màu sản phẩm này, đặc biệt là ở vải sợi xenluloza nhuộm màu như vải bông chéo (*denim*), bằng peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Hiện nay, đã biết rõ việc sử dụng enzym để xử lý sản phẩm dệt. Amylaza được sử dụng để giữ hồ và xenlulaza được sử dụng để làm mài xước. Các enzym như lacaza hoặc perhydrolaza còn được áp dụng trong quá trình xử lý sản phẩm dệt để làm biến màu, thay cho việc xử lý tẩy trắng bằng phương pháp hóa học độc hại.

WO 96/12845 mô tả quy trình để tạo ra vải bên ngoài được tẩy trắng về mặt độ màu của bề mặt vải sợi đã được nhuộm, quy trình này bao gồm bước cho vải sợi đã nhuộm tiếp xúc với hệ enzym oxy hóa phenol, như lacaza cùng với oxy và tác nhân làm tăng màu (chất trung gian) trong môi trường nước.

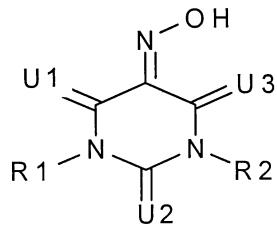
WO99/34054 mô tả quy trình loại bỏ thuốc nhuộm dư ra khỏi vải sợi đã nhuộm bằng nước rửa chứa ít nhất một chất peroxit hóa, tác nhân oxit hóa và ít nhất một chất trung gian, như chất lỏng chứa peroxidaza, hydro peroxit hóa và chất trung gian như 1-hydroxy-benzotriazol.

WO 2011/025861 mô tả chế phẩm và phương pháp để mài xước bằng enzym và làm biến màu sản phẩm dệt đã nhuộm màu bằng perhydrolaza.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

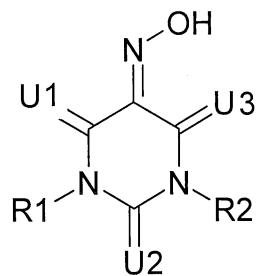
Mục đích của sáng chế là đề cập đến chế phẩm và phương pháp xử lý sản phẩm dệt.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề đề xuất chế phẩm, chế phẩm này chứa peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian có công thức hóa học:



trong đó, U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O, S hoặc NOH; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, formyl, carbamoyl hoặc gốc sulfono, este hoặc muối của gốc sulfono, sulfamoyl, nitro, nitroso, amino, xyano, phenyl, benzyl C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-carbonyl, hoặc carbonyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp xử lý sản phẩm dệt, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho sản phẩm dệt tiếp xúc với peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian, trong đó, chất trung gian có công thức hóa học:



trong đó, U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O, S hoặc NOH; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, formyl, carbamoyl hoặc gốc sulfono, este hoặc muối của gốc sulfono, sulfamoyl, nitro, nitroso, amino, xyano, phenyl, benzyl C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-carbonyl, hoặc carbonyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl.

Theo một số phương án, phương pháp của sáng chế gây ra sự biến màu ở sản phẩm dệt. Sự biến màu được chọn từ ít nhất một trong số các tác dụng sau đây: làm sáng màu, thay đổi màu, thay đổi sắc thái màu, giảm sự lắng ngược/nhuộm màu ngược và tẩy trắng.

Theo một số phương án, phương pháp xử lý sản phẩm dệt trong dung dịch nước bao gồm các bước: (a) cho sản phẩm dệt tiếp xúc với xenlulaza để làm mài xước sản phẩm dệt; (b) cho sản phẩm dệt tiếp xúc với peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian để làm biến màu của sản phẩm dệt. Theo một số phương án, giữa bước (a) và bước (b), có một bước giặt. Theo một số phương án, bước (a) và bước (b) được

thực hiện trong một thùng duy nhất mà không có bước giặt xen vào. Theo một số phương án, bước (a) và bước (b) được thực hiện liên tục hoặc đồng thời trong cùng một thùng. Theo một số phương án, bước (a) và bước (b) được thực hiện liên tục trong thùng duy nhất, trong đó, bước (a) được thực hiện trước bước (b).

Theo một số phương án, bước (a) được thực hiện trước bước giũ hò bằng enzym. Theo một số phương án, bước giũ hò bằng enzym có thể được thực hiện trong cùng một thùng với bước (a). Theo một số phương án, bước giũ hò bằng enzym được thực hiện liên tục hoặc đồng thời trong cùng một thùng với bước (a) và bước (b). Theo một số phương án, bước giũ hò bằng enzym được thực hiện liên tục trong cùng một thùng với bước (a) và bước (b), trong đó, trình tự của các bước là bước giũ hò bằng enzym, bước (a) và bước (b). Theo một số phương án, bước giũ hò bằng enzym được thực hiện trong một thùng, rồi đến bước lọc rửa và bước (a) và bước (b) được thực hiện trong cùng một thùng.

Theo một số phương án, enzym peroxidaza có thể là *Coprinus cinereus* peroxidaza hoặc peroxidaza đậu tương.

Theo một số phương án, sản phẩm dệt là sản phẩm dệt đã nhuộm. Theo một số phương án, sản phẩm dệt đã nhuộm là vải sợi đã nhuộm. Theo một số phương án, sản phẩm dệt đã nhuộm là vải bông chéo. Theo một số phương án, thuốc nhuộm là thuốc nhuộm màu chàm. Theo một số phương án, thuốc nhuộm là thuốc nhuộm lưu huỳnh.

Theo một số phương án, phương pháp xử lý sản phẩm dệt là phương pháp sản xuất sản phẩm dệt.

Theo một số phương án, phương pháp hoặc chế phẩm theo sáng chế đạt được sự biến màu trên mặt trước của sản phẩm dệt.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Thuật ngữ “peroxidaza” bao gồm việc sử dụng một hoặc nhiều peroxidaza. Thuật ngữ “bước” của phương pháp tức là ít nhất một bước và nó có thể là 1, 2, 3, 4, 5 hoặc thậm chí nhiều hơn 5 bước của phương pháp.

Như được sử dụng trong sáng chế này, thuật ngữ “liên tục” là chỉ nhiều bước xử lý bằng enzym vải dệt, tức là bước xử lý bằng enzym chỉ định thứ hai được thực

hiện sau khi bước xử lý bằng enzym chỉ định thứ nhất được thực hiện. Các bước xử lý liên tục có thể được tách riêng bằng các bước giặt xen vào. Khi được xác định, các bước xử lý bằng enzym liên tục có thể được thực hiện “trong cùng một thùng”, tức là gần như trong cùng một môi trường lỏng mà không có bước giặt xen vào. Việc xử lý liên tục trong một thùng duy nhất có thể bao gồm bước điều chỉnh độ pH, điều chỉnh nhiệt độ và/hoặc thêm muối, chất hoạt hóa, chất trung gian và các chất tương tự khác, nhưng không bao gồm nước rửa.

Như được sử dụng trong sáng chế này, thuật ngữ “đồng thời” là để chỉ nhiều bước xử lý vải dệt bằng enzym, tức là bước xử lý bằng enzym chỉ định thứ hai được thực hiện tại cùng thời điểm (tức là, ít nhất là trùng khít với nhau) với bước xử lý bằng enzym chỉ định thứ nhất. Các bước xử lý bằng enzym đồng thời nhất thiết phải được thực hiện “trong cùng một thùng” mà không có bước giặt xen vào.

### Enzym peroxidaza

Số EC có thể được sử dụng trong việc phân loại enzym. Tham khảo tài liệu: *the Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, Academic Press Inc., 1992.

Cần phải hiểu rằng, thuật ngữ enzym, cũng như tất cả các loại enzym và các nhóm enzym được đề cập đến trong bản mô tả này, bao gồm các enzym loại hoang dại, cũng như biến thể bất kỳ của nó mà vẫn giữ được hoạt tính đang được quan tâm. Những biến thể này có thể được tạo ra bằng kỹ thuật tái tổ hợp. Enzym loại hoang dại cũng có thể được tạo ra bằng kỹ thuật tái tổ hợp, hoặc bằng cách phân lập và tinh chế từ nguồn tự nhiên.

Theo một phương án cụ thể, enzym đang được quan tâm được tinh chế kỹ, tức là chỉ có một thành phần enzym chính là có mặt. Nó có thể được suy luận, ví dụ bằng cách phân đoạn trên cột giải phóng có cỡ thích hợp. Enzym được tinh chế kỹ hoặc tinh chế ở mức độ cao này có thể thu được như đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và/hoặc được mô tả trong các Công bố liên quan đến enzym cụ thể đang được quan tâm.

Peroxidaza theo sáng chế là peroxidaza enzym bao gồm nhóm phân loại enzym EC 1.11.1.7, hoặc đoạn bất kỳ được phân cắt ra từ nó, có hoạt tính peroxidaza.

Tốt hơn là, peroxidaza theo sáng chế là peroxidaza thực vật, ví dụ, peroxidaza đậu nành (xem SEQ ID NO:2), hoặc peroxidaza từ nấm hoặc vi khuẩn.

Một số loại nấm được ưu tiên bao gồm các chủng thuộc về phân nhom phụ *Deuteromycotina*, nhom *Hyphomycetes*, ví dụ, *Fusarium*, *Humicola*, *Trichoderma*, *Myrothecium*, *Verticillum*, *Arthromyces*, *Caldariomyces*, *Ulocladium*, *Embellisia*, *Cladosporium* hoặc *Dreschlera*, cụ thể là *Fusarium oxysporum* (DSM 2672), *Humicola insolens*, *Trichoderma reesei*, *Myrothecium verrucaria* (IFO 6113), *Verticillum alboatrum*, *Verticillum dahliae*, *Arthromyces ramosus* (FERM P-7754), *Caldariomyces fumago*, *Ulocladium chartarum*, *Embellisia allii* hoặc *Dreschlera halodes*.

Các loại nấm được ưu tiên khác bao gồm các chủng thuộc về phân nhom phụ *Basidiomycotina*, nhom *Basidiomycetes*, ví dụ, *Coprinus*, *Phanerochaete*, *Coriolus* hoặc *Trametes*, cụ thể là *Coprinus cinereus* f. *microsporus* (IFO 8371), *Coprinus macrorhizus*, *Phanerochaete chrysosporium* (ví dụ NA-12) hoặc *Trametes* (trước đây được gọi là *Polyporus*), ví dụ, *T. versicolor* (ví dụ PR4 28-A).

Các loại nấm được ưu tiên khác nữa bao gồm các chủng thuộc về phân nhom phụ *Zygomycotina*, nhom *Mycoraceae*, ví dụ, *Rhizopus* hoặc *Mucor*, cụ thể là *Mucor hiemalis*.

Một số loại vi khuẩn được ưu tiên bao gồm các chủng thuộc bộ *Actinomycetales*, ví dụ, *Streptomyces sphaeroides* (ATTC 23965), *Streptomyces thermophilus* (IFO 12382) hoặc *Streptoverticillium verticillium* ssp. *verticillium*.

Các loại vi khuẩn được ưu tiên khác bao gồm *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodomomas palustri*, *Streptococcus lactis*, *Pseudomonas purrocina* (ATCC 15958), *Pseudomonas fluorescens* (NRRL B-11) và chủng *Bacillus*, ví dụ, *Bacillus pumilus* (ATCC 12905) và *Bacillus stearothermophilus*.

Các loại vi khuẩn được ưu tiên khác bao gồm các chủng thuộc về *Myxococcus*, ví dụ, *M. virescens*.

Peroxidaza còn có thể là enzym mà có thể được tạo ra bằng phương pháp gồm bước nuôi cấy tế bào chủ được chuyển nhiễm bằng vectơ ADN tái tổ hợp mà mang trình tự ADN mã hóa peroxidaza này cũng như trình tự ADN mã hóa đoạn chức năng cho phép biểu hiện trình tự ADN mã hóa peroxidaza, trong môi trường nuôi cấy trong các điều kiện cho phép biểu hiện peroxidaza và thu hồi peroxidaza từ môi trường nuôi cấy.

Cụ thể, peroxidaza theo sáng chế là peroxidaza có nguồn gốc từ loài *Coprinus* (còn được gọi là loài *Coprinopsis*), cụ thể là *C. macrorhizus* hoặc *C. cinereus* (ví dụ, xem SEQ ID NO:1).

Theo phương án được ưu tiên, peroxidaza của phương pháp và chế phẩm theo sáng chế bao gồm hoặc chứa một trình tự axit amin kèm theo việc thay thế, xóa bỏ và/hoặc đưa vào một hoặc nhiều axit amin của polypeptit của SEQ ID NO: 1 hoặc 2, hoặc trình tự tương đồng của nó. Tốt hơn là, trình tự tương đồng ít nhất là 80%, như ít nhất 85%, ít nhất 90% hoặc ít nhất 95% tương đồng với SEQ ID NO:1 hoặc SEQ ID NO:2.

Đối với mục đích của sáng chế, mức độ tương đồng trình tự giữa 2 trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng thuật toán Needleman-Wunsch (Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443-453) như được cung cấp trong chương trình Needle của gói phần mềm EMBOSS (EMBOSS: *The European Molecular Biology Open Software Suite*, Rice *et al.*, 2000, *Trends Genet.* 16: 276-277), tốt hơn là phiên bản 3.0.0 hoặc mới hơn. Các thông số tùy ý được sử dụng là “điểm trừ khoảng trống” là 10, “điểm trừ mở rộng khoảng trống” là 0,5 và ma trận thế EBLOSUM62 (phiên bản EMBOSS của BLOSUM62). Sản lượng của Needle được đánh dấu là “độ tương đồng dài nhất” (thu được bằng cách sử dụng lựa chọn không ngắn gọn) được sử dụng làm độ tương đồng tính theo phần trăm và được tính toán như sau:

$$\text{(Số gốc giống nhau} \times 100) / (\text{Chiều dài đoạn xếp thảng} - \text{Tổng số khoảng trống} \text{ trong trình tự sắp xếp thảng})$$

Đối với mục đích của sáng chế, mức độ tương đồng trình tự giữa hai trình tự deoxyribonucleotit được xác định bằng cách sử dụng thuật toán Needleman-Wunsch

(Needleman and Wunsch, 1970, *supra*) như được cung cấp trong chương trình Needle của gói phần mềm EMBOSS (EMBOSS: *The European Molecular Biology Open Software Suite*, Rice *et al.*, 2000, *supra*), tốt hơn là phiên bản 3.0.0 hoặc mới hơn. Các thông số tùy ý được sử dụng là “điểm trừ khoảng trống” là 10, “điểm trừ mở rộng khoảng trống” là 0,5 và ma trận thê EDNAFULL (phiên bản EMBOSS của NCBI NUC4.4). Sản lượng của Needle được đánh dấu là “độ tương đồng dài nhất” (thu được bằng cách sử dụng lựa chọn không ngắn gọn) được sử dụng làm độ tương đồng tính theo phần trăm và được tính toán như sau:

(Deoxyribonucleotit giống nhau x 100)/ (Chiều dài đoạn xếp thẳng – Tổng số khoảng trống trong trình tự sắp xếp thẳng)

Trong sáng chế, trình tự polypeptit của peroxidaza có thể là sự biến đổi bao gồm thay thế, xóa bỏ và/hoặc đưa vào một hoặc nhiều axit amin của polypeptit có trình tự SEQ ID NO: 1 hoặc 2, hoặc trình tự tương đồng của nó. Tốt hơn là, sự thay đổi axit amin (tức là thay thế, xóa bỏ và/hoặc đưa vào một hoặc nhiều axit amin) là thuộc tính chất thứ yếu, mà là sự thay thế hoặc đưa vào axit amin bảo toàn, sự thay thế hoặc đưa vào này không làm ảnh hưởng đáng kể đến sự gấp nếp và/hoặc hoạt tính của protein, sự xóa bỏ ít, thường là xóa bỏ từ 1 đến khoảng 30 axit amin; kéo dài đầu tận cùng amino hoặc carboxyl nhỏ, như gốc methionin tận cùng amino; liên kết nhỏ peptit của tối đa khoảng 20-25 gốc; hoặc sự kéo dài ít mà tạo thuận lợi cho quá trình tinh chế bằng cách thay đổi sự nạp điện lưới hoặc chức năng khác, như đường poly-histidin, biểu vị (epitop) kháng nguyên của vùng gắn kết.

Ví dụ về sự thay thế bảo toàn cũng thuộc nhóm axit amin bazơ (arginin, lysin và histidin), axit amin axit (axit glutamic và axit aspartic), axit amin phân cực (glutamin và asparagin), axit amin kỵ nước (leuxin, isoleuxin và valin), axit amin thơm (phenylalanin, tryptophan và tyrosin) và axit amin nhỏ (glyxin, alanin, serin, threonin và methionin). Sự thê axit amin mà không làm thay đổi chung đến hoạt tính đặc hiệu là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả trong tài liệu: ví dụ H. Neurath và R.L. Hill, 1979, *In, The Proteins*, Academic Press, New York. Những thay đổi thường xảy ra nhất là Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu và Asp/Gly.

Các axit amin cần thiết trong polypeptit gốc có thể được xác định theo các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, như phát sinh đột biến trực tiếp tại chỗ hoặc phát sinh đột biến khi quét alanin (*Cunningham and Wells*, 1989, *Science* 244: 1081-1085). Trong các kỹ thuật sau này, sự đột biến alanin duy nhất được tạo ra ở mỗi gốc trong phân tử và các phân tử đột biến tạo thành được thử nghiệm về hoạt tính endoglucan để xác định các gốc axit amin mà là giới hạn với hoạt tính của phân tử. Cũng xem tài liệu: Hilton *et al.*, 1996, *J. Biol. Chem.* 271: 4699-4708. Vị trí có hoạt tính của enzym hoặc tương tác sinh học khác còn có thể được xác định bằng phép phân tích vật lý về cấu trúc, như được xác định bằng các kỹ thuật như phổ cộng hưởng từ hạt nhân, tinh thể học, nhiễu xạ điện tử hoặc đánh dấu quang ái lực, kết hợp với sự đột biến của các axit amin tại vị trí tiếp xúc giả định. Có thể xem tài liệu, ví dụ, de Vos *et al.*, 1992, *Science* 255: 306-312; Smith *et al.*, 1992, *J. Mol. Biol.* 224: 899-904; Wlodaver *et al.*, 1992, *FEBS Lett.* 309: 59-64. Nhận dạng của các axit amin cần thiết còn có thể được suy luận từ phân tích về nhận dạng của polypeptit mà liên quan đến polypeptit gốc.

Một hoặc nhiều sự thay thế, xóa bỏ và/hoặc đưa vào axit amin có thể được thực hiện và thử nghiệm bằng cách sử dụng các phương pháp phát sinh đột biến, tái tổ hợp và/hoặc xáo trộn đã biết, rồi bằng quy trình sàng lọc tương ứng, như các quy trình được mô tả trong tài liệu: Reidhaar-Olson and Sauer, 1988, *Science* 241: 53-57; Bowie and Sauer, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2152-2156; WO 95/17413; hoặc WO 95/22625. Các phương pháp khác mà có thể được sử dụng bao gồm PCR đọc sửa, biểu hiện pha (ví dụ, tài liệu Lowman *et al.*, 1991, *Biochemistry* 30: 10832-10837; patent Mỹ số 5,223,409; WO 92/06204) và phát sinh đột biến trực tiếp tại chỗ (Derbyshire *et al.*, 1986, *Gene* 46: 145; Ner *et al.*, 1988, *DNA* 7: 127).

Các phương pháp phát sinh đột biến/xáo trộn có thể được kết hợp với các phương pháp sàng lọc tự động hiệu suất cao để phát hiện ra hoạt tính của polypeptit dòng vô tính đã được gây đột biến được biểu hiện bởi các tế bào chủ (Ness *et al.*, 1999, *Nature Biotechnology* 17: 893-896). Các phân tử ADN đã được gây đột biến mà mã hóa polypeptit hoạt tính có thể được thu hồi từ các tế bào chủ và được xác định trình tự nhanh chóng bằng cách sử dụng các phương pháp tiêu chuẩn trong lĩnh vực kỹ

thuật này. Các phương pháp này cho phép xác định nhanh chóng tầm quan trọng của các gốc axit amin riêng biệt trong polypeptit.

Tốt hơn là, tổng số axit amin trong việc thay thế, xóa bỏ và/hoặc đưa vào của polypeptit SEQ ID NO: 1 hoặc 2 là không lớn hơn 10, ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 hoặc 9.

Polypeptit có thể là polypeptit lai hóa, trong đó một phần của một polypeptit được dung hợp ở tận cùng N hoặc tận cùng C của một phần của polypeptit khác.

Polypeptit có thể là polypeptit được dung hợp hoặc polypeptit dung hợp có thể phân cắt được, trong đó polypeptit khác được dung hợp ở tận cùng N hoặc tận cùng C của polypeptit theo sáng chế. Polypeptit dung hợp được tạo ra bằng cách dung hợp polypeptit mã hóa polypeptit khác với polynucleotit theo sáng chế. Kỹ thuật để tạo ra polypeptit dung hợp là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm nối trình tự mã hóa polypeptit sao cho chúng ở trong khung và sự biểu hiện của polypeptit dung hợp trong điều kiện kiểm soát gen khởi đầu và gen kết thúc giống nhau. Protein dung hợp còn có thể được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật intein (vùng nội protein) mà trong đó sự dung hợp được tạo ra sau khi chuyển nhiễm (Cooper *et al.*, 1993, *EMBO J.* 12: 2575-2583; Dawson *et al.*, 1994, *Science* 266: 776-779).

Polypeptit dung hợp còn có thể chứa vị trí phân cắt giữa 2 polypeptit. Sau khi tiết protein dung hợp, vị trí phân cắt giải phóng ra hai polypeptit. Ví dụ về vị trí phân cắt bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các vị trí được mô tả trong tài liệu: Martin *et al.*, 2003, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 3: 568-576; Svetina *et al.*, 2000, *J. Biotechnol.* 76: 245-251; Rasmussen-Wilson *et al.*, 1997, *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3488-3493; Ward *et al.*, 1995, *Biotechnology* 13: 498-503; và Contreras *et al.*, 1991, *Biotechnology* 9: 378-381; Eaton *et al.*, 1986, *Biochemistry* 25: 505-512; Collins-Racie *et al.*, 1995, *Biotechnology* 13: 982-987; Carter *et al.*, 1989, *Proteins: Structure, Function và Genetics* 6: 240-248; và Stevens, 2003, *Drug Discovery World* 4: 35-48.

### Nguồn hydro peroxit

Nguồn hydro peroxit cần thiết cho peroxidaza, hoặc hợp chất có hoạt tính peroxidaza, có thể được tạo ra như là dung dịch trong nước chứa hydro peroxit hoặc

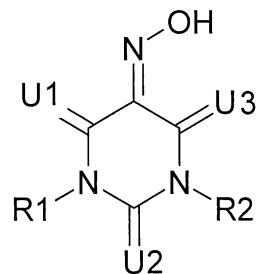
tiền chất hydro peroxit để tạo ra hydro peroxit tại chỗ. Thực thể rắn bất kỳ mà giải phóng ra peroxit sau khi hòa tan, peroxit này có thể được sử dụng bởi peroxidaza có thể đóng vai trò làm nguồn hydro peroxit. Các hợp chất mà tạo ra hydro peroxit sau khi hòa tan trong nước hoặc môi trường trên cơ sở nước thích hợp, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, peroxit kim loại, percacbonat, persulphat, perphosphat, peroxy axit, alkyperoxit, axylperoxit, peroxy este, ure peroxit, ozon, perborat và peroxy carboxylic axit hoặc muối của nó.

Nguồn hydro peroxit khác là hệ enzym tạo ra hydro peroxit, như oxidaza cùng với chất nền cho oxidaza. Ví dụ về hỗn hợp của oxidaza và chất nền bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit amin oxidaza (ví dụ, xem patent Mỹ số US 6,248,575) và axit amin thích hợp, glucoza oxidaza (ví dụ, xem WO 95/29996) và glucoza, lactat oxidaza và lactat, galactoza oxidaza (ví dụ, xem WO 00/50606) và galactoza và aldoza oxidaza (ví dụ, xem WO 99/31990) và aldoza thích hợp.

Bằng cách nghiên cứu các nhóm EC 1.1.3.-, EC 1.2.3.-, EC 1.4.3.- và EC 1.5.3.- hoặc các nhóm tương tự (theo quy định của *International Union of Biochemistry*), các ví dụ khác về của hỗn hợp của oxidaza và chất nền này sẽ dễ dàng được nhận biết bởi chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này.

### Chất trung gian

Chất trung gian theo sáng chế đóng vai trò làm chất cho electron đổi với peroxidaza. Hợp chất trung gian làm cải thiện sự vận chuyển electron giữa peroxidaza và sản phẩm dệt để làm cải thiện tác dụng tẩy trắng theo phương pháp của sáng chế. Chất trung gian theo sáng chế có cấu trúc hóa học:



trong đó, U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O, S hoặc NOH; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, formyl, carbamoyl hoặc gốc

sulfono, este hoặc muối của gốc sulfono, sulfamoyl, nitro, nitroso, amino, xyano, phenyl, benzyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-carbonyl, carbonyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl.

Theo một phương án, U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O hoặc S; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, formyl, carbamoyl hoặc gốc sulfono, este hoặc muối của gốc sulfono, sulfamoyl, nitro, nitroso, amino, xyano, phenyl, benzyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-carbonyl, carbonyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl.

Theo phương án khác, U1, U2 và U3 là O; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, formyl, carbamoyl hoặc gốc sulfono, este hoặc muối của gốc sulfono, sulfamoyl, nitro, nitroso, amino, xyano, phenyl, benzyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-carbonyl, carbonyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl.

Theo phương án khác, U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O, S hoặc NOH; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, methyl, etyl, phenyl, benzyl, formyl, amino, xyano, nitroso, metoxy và/hoặc etoxy.

Theo phương án khác, U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O hoặc S; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, methyl, etyl, phenyl, benzyl, formyl, amino, xyano, nitroso, metoxy và/hoặc etoxy.

Theo phương án khác, U1, U2 và U3 là O; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, methyl, etyl, phenyl, benzyl, formyl, amino, xyano, nitroso, metoxy và/hoặc etoxy.

Chất trung gian được ưu tiên là axit 1-metylvioluric, axit 1,3-dimethylvioluric, axit thiovioluric và axit violuric hoặc hydrat của nó.

Chất trung gian được ưu tiên đặc biệt là aloxan-5-oxim (axit violuric) và/hoặc este, ete, muối hoặc hydrat của nó.

### Sản phẩm dệt

Như được sử dụng trong sáng chế này, thuật ngữ “sản phẩm dệt” dùng để chỉ sợi vải, sợi chỉ, vải thường, vải may mặc và vải không dệt. Thuật ngữ này bao hàm cả sản phẩm dệt được làm từ tự nhiên, tổng hợp (ví dụ, được sản xuất) và các loại hỗn hợp tự nhiên và tổng hợp khác nhau. Sản phẩm dệt có thể là sợi vải, sợi chỉ, vải dệt

hoặc vải dệt kim, vải không dệt và vải may mặc không qua xử lý hoặc được xử lý và nó có thể được xử lý bằng cách sử dụng các loại chất liệu khác nhau, một số chất liệu sẽ được đề cập đến trong sáng chế này.

Quy trình xử lý theo sáng chế được ứng dụng một cách thuận tiện nhất cho vải thường chứa xenluloza như vải bông (*cotton*), sợi viscos, sợi tơ, sợi gai, vải lanh (*linen*), sợi Tencel, hoặc hỗn hợp của chúng, hoặc hỗn hợp của các loại sợi vải bất kỳ này. Hoặc hỗn hợp của sợi vải bất kỳ cùng với sợi vải tổng hợp như hỗn hợp của vải bông và spandex (vải bông chéo thẳng). Cụ thể, vải sợi là vải sợi đã nhuộm, tốt hơn là là vải bông chéo. Vải sợi bông chéo có thể được nhuộm bằng thuốc nhuộm hoàn nguyên như indigo, hoặc thuốc nhuộm liên quan đến indigo như thioindigo.

Theo phương án được ưu tiên nhất về quy trình xử lý của sáng chế, sợi vải là vải bông chéo được nhuộm bằng thuốc nhuộm indigo, bao gồm cả các sản phẩm may mặc được sản xuất từ sợi vải này.

#### Quy trình sản xuất sản phẩm dệt

Quy trình xử lý sợi vải, như vật liệu có xenlulo, thành vật liệu sẵn sàng để may mặc liên quan đến nhiều bước: kéo sợi vải thành sợi chỉ, dệt hoặc kéo vải dệt kim từ sợi chỉ; và các quy trình xử lý tiếp theo, nhuộm/in và hoàn thiện. Các quy trình xử lý là cần thiết để loại bỏ các tạp chất sinh ra tự nhiên hoặc nhân tạo từ các sợi vải và để làm cải thiện vẻ bề ngoài thẩm mỹ của nó và khả năng dễ dàng xử lý trước bước nhuộm/in và hoàn thiện ngay sau đó. Các quy trình xử lý thông thường bao gồm giữ hồ (đối với vải dệt), tẩy sạch và tẩy trắng, các bước này sẽ tạo ra vải sợi thích hợp để nhuộm hoặc hoàn thiện.

Sản phẩm dệt được tạo ra bằng cách dệt sợi chỉ “ngang” giữa các sợi chỉ dọc kéo dài theo hướng theo chiều dọc trên máy dệt. Sợi chỉ dọc bắt buộc phải được hồ hóa trước khi dệt để làm bôi trơn và bảo vệ nó tránh khỏi sự mài mòn khi đưa sợi chỉ ngang vào ở tốc độ cao trong khi dệt. Các tác nhân hồ hóa thông thường là tinh bột (hoặc dẫn xuất tinh bột và tinh bột biến tính), rượu poly (vinyllic), carboxyl methyl xenluloza (tức là CMC), trong đó tinh bột là được ưu tiên. Paraffin, chất gắn kết acrylic và các loại dầu bôi trơn khác nhau thường được kể đến trong hỗn hợp hồ hóa. Sợi chỉ ngang có thể được dệt xuyên suốt sợi chỉ dọc theo kiểu “một sợi chồng một sợi” (*over*

*one-under the next*) (dệt thường) hoặc theo kiểu “một sợi chồng hai sợi” (*over one-under two*) (dệt chéo) hoặc vô số kiểu hoán vị bất kỳ khác. Nói chung, váy, áo sơ mi, quần, khăn trải giường, khăn, thảm, v.v.. được tạo ra từ sợi vải dệt. Sau khi sợi vải được tạo ra, bước hồ hóa trên sợi vải bắt buộc phải được loại bỏ một lần nữa (tức là dũ hồ).

Dệt kim là sự hình thành sợi vải bằng cách kết hợp các vòng chỉ đan vào với nhau. Ngược lại với dệt, là bước được hình thành từ hai loại sợi chỉ và có nhiều “điểm tận cùng”, sản phẩm dệt kim được tạo ra từ một chuỗi sợi chỉ liên tục duy nhất. Cùng với dệt, có nhiều cách khác nhau để nối vòng sợi chỉ với nhau và các đặc tính của sợi vải cuối cùng là tùy thuộc vào cả sợi chỉ và kiểu dệt kim. Đồ lót, áo len, tất, áo thể thao, áo len cộc tay, v.v. là được tạo ra từ sản phẩm dệt kim.

### Dũ hồ

Dũ hồ là bước làm thoái biến và/hoặc loại bỏ hợp chất đã hồ hóa ra khỏi sợi chỉ dọc ở sợi vải đã dệt. Tinh bột thường được loại bỏ bằng quy trình dũ hồ bằng enzym. Ngoài ra, dũ hồ bằng cách oxy hóa và dũ hồ hóa học bằng các axit hoặc bazơ thỉnh thoảng cũng được sử dụng.

Theo một số phương án, enzym dũ hồ là enzym phân hủy tinh bột, như alpha-amylaza, beta-amylaza, mananaza, glucoamylaza, hoặc hỗn hợp của chúng.

Alpha và beta-amylaza thích hợp bao gồm các enzym có nguồn gốc từ vi khuẩn hoặc nấm, cũng như các thể đột biến được biến đổi về mặt hóa học hoặc biến đổi gen và các biến thể của các amylaza này. Alpha-amylaza thích hợp bao gồm alpha-amylaza có thể thu được từ loài *Bacillus*. Amylaza có trên thị trường thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở OPTISIZE® NEXT, OPTISIZE® FLEX và OPTISIZE® COOL (tất cả đều của Genencor International Inc.) và DURAMYL™, ERMAMYL™, FUNGAMYL™ TERMAMYL™, AQUAZYME™ và BAN™ (tất cả đều có được từ Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark).

Enzym phân hủy tinh bột khác bao gồm CGTaza (xyclodextrin glucanotransferaza, EC 2.4.1.19), ví dụ, các enzym thu được từ các loài *Bacillus*, *Thermoanaerobacter* hoặc *Thermoanaero-bacterium*.

### Tẩy sạch

Bước tẩy sạch được sử dụng để loại bỏ các tạp chất ra khỏi sợi vải, để làm nở sợi vải và để loại bỏ vỏ hạt. Đây là một trong những bước quan trọng nhất. Mục đích chính của bước tẩy sạch là để a) làm sạch một cách đồng đều sợi vải; b) làm giảm bớt bụi và sợi rác; c) cải thiện độ hấp thụ của sợi vải; d) xà phòng hóa và làm hòa tan các chất béo, dầu và sáp; và e) làm giảm thiểu sợi bông mỏng. Tẩy sạch bằng natri hydroxit ở khoảng nhiệt độ sôi là việc xử lý được chấp nhận đối với 100% sợi bông, trong khi canxi hydroxit và natri cacbonat hiếm khi được sử dụng hơn. Sợi vải tổng hợp được tẩy sạch ở các điều kiện dịu nhẹ hơn. Chất hoạt động bề mặt và tác nhân chelat hóa cũng cần thiết đối với bước tẩy sạch bằng kiềm này. Tẩy sạch bằng enzym cũng được giới thiệu, trong đó, xenluloza, hemixenluloza, pectinaza, lipaza và proteaza đều được báo cáo là có tác dụng tẩy sạch.

### Tẩy trắng

Tẩy trắng là việc loại bỏ màu đã được nhuộm và/hoặc tạp chất có màu cũng như loại bỏ phần vỏ hạt. Đây là bước xử lý bằng hóa chất quan trọng nhất do sự cân bằng giữa các mức độ trắng mà không làm hư hỏng sợi vải buộc phải được duy trì. Bước tẩy trắng được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp oxy hóa hoặc khử hóa học. Tác nhân oxy hóa còn có thể được chia nhỏ thành các nhóm sao cho sử dụng hoặc tạo ra: a) hypoclorit ( $\text{OCl}^-$ ), b) clorua dioxit ( $\text{ClO}_2$ ) và các chất hydroperoxit ( $\text{OOH}^-$  và/hoặc  $\text{OOH}$ ). Các tác nhân khử thường là lưu huỳnh dioxit, muối hydrosulfit, v.v. Tẩy trắng bằng enzym sử dụng glucoza oxidaza cũng được báo cáo. Một cách truyền thống, hydro peroxit được sử dụng trong quy trình này.

### In và nhuộm

Bước in và nhuộm sản phẩm dệt được thực hiện bằng cách đưa thuốc nhuộm vào sản phẩm dệt bằng phương pháp thích hợp bất kỳ để gắn kết thuốc nhuộm với sợi vải trong toàn bộ sản phẩm dệt. Ví dụ, bước nhuộm sản phẩm dệt được thực hiện bằng cách cho sợi vải đi qua dung đặc chứa thuốc nhuộm, tiếp đó lưu giữ sợi vải ẩm trong chén không kín đưa vào để cho phép thời gian khuếch tán và phản ứng của thuốc nhuộm với chất nền sợi vải trước khi rửa hết thuốc nhuộm chưa phản ứng. Theo cách khác, thuốc nhuộm có thể được cố định bằng cách phun hơi nước liên tục vào sản phẩm dệt trước khi rửa. Thuốc nhuộm bao gồm thuốc nhuộm tự nhiên và tổng hợp.

Các thuốc nhuộm thông thường là thuốc nhuộm có các nhóm chức anion (ví dụ, thuốc nhuộm axit, thuốc nhuộm trực tiếp, thuốc nhuộm Mordant và thuốc nhuộm phản ứng), thuốc nhuộm có các nhóm cation (ví dụ, thuốc nhuộm bazo), thuốc nhuộm cần phản ứng hóa học trước khi ứng dụng (ví dụ, thuốc nhuộm hoàn nguyên, thuốc nhuộm lưu huỳnh và thuốc nhuộm azo), thuốc nhuộm phân tán và thuốc nhuộm dung môi.

Thuốc nhuộm tan được còn dư không gắn kết với sợi vải buộc phải được loại bỏ sau khi nhuộm để đảm bảo độ bền cho sản phẩm dệt đã nhuộm và để ngăn ngừa sự chuyển hóa thuốc nhuộm không mong muốn sau khi người dùng giặt sản phẩm dệt. Nói chung, một lượng nước lớn là cần thiết để loại bỏ hoàn toàn thuốc nhuộm còn dư. Trong các quy trình thông thường, sản phẩm dệt đã được in hoặc đã được nhuộm trước hết được ngâm rửa với nước lạnh, tiếp đó giặt ở nhiệt độ cao kết hợp thêm chất phụ trợ thích hợp để làm giảm sự phai màu về sau, như poly(vinylpyrrolidon) (PVP).

Quy trình loại bỏ thuốc nhuộm còn dư bằng enzym ra khỏi sợi vải đã được nhuộm bằng nước ngâm rửa bao gồm ít nhất một peroxidaza, một tác nhân oxidaza và ít nhất một chất trung gian, như nước rửa bao gồm peroxidaza, hydro peroxidaza và chất trung gian như 1-hydroxy-benzotriazol được bộc lộ trong WO99/34054.

### Mài bóng bằng sinh học

Như được sử dụng trong sáng chế này, thuật ngữ “mài bóng bằng sinh học”, “khử vón” và “chống vón” là được sử dụng thay thế lẫn nhau.

Vải chủ yếu sợi bông và vải hỗn hợp sợi bông có vẻ bề ngoài chạm tay mà khá cứng mà không áp dụng các thành phần của khâu hoàn thiện. Bề mặt sợi vải cũng không trơn do vi thó xù trồi lên từ vải. Ngoài ra, sau thời gian dùng tương đối ngắn, hiện tượng vón xuất hiện trên bề mặt sợi vải, do đó tạo ra vẻ ngoài không hấp dẫn, cũ.

Mài bóng bằng sinh học là phương pháp để xử lý sợi vải xenlulo trong quá trình sản xuất nó bằng enzym như xenlulaza, enzym này làm cải thiện chất lượng sợi vải liên quan đến “sự hình thành vón được làm giảm”. Tác dụng quan trọng nhất của quá trình mài bóng bằng sinh học có thể được đặc trưng bởi sự xù và vón ít, độ bóng/láng gia tăng, cảm giác tay của sợi vải được cải thiện, độ mềm lâu bền gia tăng và/hoặc độ thấm hút nước được cải thiện. Quá trình mài bóng bằng sinh học thường

diễn ra trong quy trình ướt trong khi sản xuất vải dệt kim và vải dệt thường hoặc vải may mặc. Quy trình ướt bao gồm các bước như, ví dụ, dũa hồ, tẩy sạch, tẩy trắng, giặt, sấy khô/in và hoàn thiện. Bước mài bóng bằng sinh học có thể được thực hiện như là bước riêng biệt sau bước làm ẩm bất kỳ hoặc kết hợp với bước làm ẩm bất kỳ này.

#### Sản xuất vải bông chéo (denim)

Một số vải sợi đã nhuộm như vải sợi bông chéo, đòi hỏi rằng sợi chỉ được nhuộm trước khi dệt. Đối với vải sợi bông chéo, sợi chỉ dọc được nhuộm, ví dụ bằng indigo và được hồ hóa, trước khi dệt. Tốt hơn là, bước nhuộm của sợi chỉ bông chéo là nhuộm vòng tròn.

Phương án được ưu tiên của sáng chế là nhuộm sợi chỉ kiểu vòng tròn bằng thuốc nhuộm hoàn nguyên như thuốc nhuộm indigo, hoặc thuốc nhuộm liên quan đến indigo như thioindigo, hoặc thuốc nhuộm lưu huỳnh, hoặc thuốc nhuộm trực tiếp, hoặc thuốc nhuộm phản ứng, hoặc naphtol. Sợi chỉ còn có thể được nhuộm bằng nhiều hơn một loại thuốc nhuộm, ví dụ, trước hết bằng thuốc nhuộm lưu huỳnh và tiếp theo bằng thuốc nhuộm hoàn nguyên, hoặc ngược lại.

Tốt hơn là, sợi chỉ trải qua bước tẩy sạch và/hoặc tẩy trắng trước khi chúng được nhuộm, để đạt được chất lượng vải sợi bông chéo tốt hơn. Nói chung, sau khi dệt vải sợi đã nhuộm, như vải bông chéo, vải sợi đã nhuộm hoặc đồ may mặc được xử lý qua giai đoạn giữ hồ, tiếp đó tốt hơn là bước mài xước bằng sinh học và/hoặc bước làm biến màu.

Quy trình giữ hồ như được sử dụng trong sáng chế này là quy trình tương tự như được nêu trên đây.

Sau khi giữ hồ, vải sợi đã nhuộm được đưa vào bước mài xước bằng sinh học. Bước mài xước bằng sinh học có thể được thực hiện bằng enzym hoặc đá bọt hoặc cả hai. Như được sử dụng trong sáng chế này, thuật ngữ “mài xước bằng sinh học”, “giặt bằng đá” và “mài xước” là được thay đổi lẫn nhau, tức là bước làm cào xước vải bông chéo trong môi trường nước chứa tác nhân mài xước cơ học như đá bọt, xenlulaza mài xước hoặc hỗn hợp của chúng, để tạo ra vẻ bề ngoài “được giặt bằng đá”. Trong tất cả các trường hợp, tác dụng cơ học là cần thiết để loại bỏ thuốc nhuộm và bước xử lý

thường được thực hiện trong máy giặt, như máy giặt dạng trống, máy giặt phình bụng. Theo như kết quả về việc loại bỏ thuốc nhuộm không đồng đều, có sự đối ngược giữa các vùng được nhuộm và các vùng mà thuốc nhuộm được loại bỏ ra. Việc xử lý bằng xenlulaza có thể thay thế hoàn toàn cho việc xử lý bằng đá bọt. Tuy nhiên, việc xử lý bằng xenlulaza còn có thể được kết hợp với việc xử lý bằng đá bọt, nếu muốn, để tạo ra sản phẩm hoàn thiện được mài xước mạnh.

Tốt hơn là, bước mài xước sẽ được tiếp theo bằng bước làm biến màu. Như được sử dụng trong sáng chế này, thuật ngữ “làm biến màu” hoặc “điều chỉnh màu” là được sử dụng mà không có sự phân biệt nhầm để chỉ sự thay đổi bất kỳ về màu của sản phẩm dệt là kết quả của việc làm phá hủy, làm biến đổi hoặc loại bỏ thuốc nhuộm được nhuộm vào sản phẩm dệt. Không bị giới hạn bởi lý thuyết, để xuất rằng sự biến màu là kết quả của việc làm biến đổi các phân tử màu (*chromophore*) liên kết với chất liệu sản phẩm dệt, nhờ đó làm thay đổi vẻ bên ngoài quan sát được bằng mắt. Các phân tử màu có thể được liên kết một cách tự nhiên với vật liệu được sử dụng để sản xuất sản phẩm dệt (ví dụ, màu trắng của coton) hoặc được liên kết ở bước hoàn thiện cụ thể, như nhuộm hoặc in. Sự biến màu bao gồm làm biến màu hóa học các phân tử màu cũng như làm biến màu vật liệu mà các phân tử màu được liên kết vào đó.

Ví dụ về sự biến màu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tẩy trắng, làm giảm sự lắng ngược/nhuộm màu ngược, phai màu, chuyển sang sắc màu xám, đổi màu, bão hòa hoặc phát quang và các dạng tương tự khác. Lượng và kiểu biến màu có thể được xác định bằng cách so sánh màu của sản phẩm dệt sau khi xử lý enzym bằng enzym perhydrolaza (tức là màu còn lại) với màu của sản phẩm dệt trước khi xử lý bằng enzym (tức là màu ban đầu) bằng cách sử dụng các phương pháp đo quang phổ hoặc phương pháp kiểm tra bằng mắt thường.

Theo sáng chế, phương pháp làm biến màu của sản phẩm sản phẩm dệt bao gồm bước cho sản phẩm dệt tiếp xúc với peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian. Theo một số phương án, sản phẩm dệt được tiếp xúc với peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian trong dung dịch nước.

Có được vẻ bè ngoài phai màu hoặc được tẩy trắng ở một số vùng nhất định trên sản phẩm dệt, đặc biệt là vải bông chéo, là một phần quan trọng trong quá trình

sản xuất sản phẩm dệt. Điều này thường được thực hiện bằng cách dùng dung dịch  $KMnO_4$  (hoặc  $KMnO_4/H_3PO_4$ ) (bằng cách chải, chà xát hoặc phun) lên vải bông chéo đã được sấy khô sau bước mài xước. Khu vực được nhuộm màu sẽ được tẩy trắng sau khi sấy khô và rửa bằng dung dịch  $Na_2S_2O_5$ . Trong suốt quá trình này, thuốc nhuộm indigo/thuốc nhuộm lưu huỳnh được phá hủy bởi  $KMnO_4$  nhờ sự oxy hóa và tiếp đó việc giặt bằng  $Na_2S_2O_5$  được áp dụng để loại bỏ được màu nâu do sản phẩm bị oxy hóa. Việc xử lý này sẽ tạo ra sự biến màu cục bộ, tức là kiểu tẩy trắng đặc biệt trên vải bông chéo để đáp ứng nhu cầu của khách hàng.

Chế phẩm theo sáng chế còn dùng để thu được mẫu tẩy trắng đặc biệt trên vải bông chéo nhờ cách “chà xát-giặt” đơn giản, tức là dùng hỗn hợp của peroxidaza và chất trung gian như được xác định trong sáng chế này lên vải bông chéo khô, sau đó giặt bằng thùng chứa  $H_2O_2$ , khu vực được xử lý sẽ trở nên được tẩy trắng.

Đối với mục đích của sáng chế, thuật ngữ “làm biến màu” được xác định bằng mức độ tẩy trắng trên mặt phải (mặt trước) của vải dệt. Mức độ tẩy trắng này thể hiện sự tạo thành vải dệt sáng hơn và/hoặc vải dệt trắng hơn, ví dụ trong phần nội dung về quy trình xử lý vải dệt, cũng như làm sáng màu của vết bẩn, ví dụ trong phần nội dung về ứng dụng làm sạch.

Theo một số phương án, mức độ tẩy trắng trên mặt phải của sản phẩm dệt được xác định trong các điều kiện như được nêu ở Ví dụ 1, bằng cách xử lý bằng peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian như được xác định theo sáng chế, ở  $55^{\circ}C$ , độ pH = 5,0 trong 30 phút và liều lượng peroxidaza là 0,015mg enzym protein/g vải sợi, liều lượng chất trung gian là 0,5mM/l và liều lượng hydro peroxit là 0,05g/l trong dung dịch nước. Như được sử dụng trong sáng chế này, liều lượng hydro peroxit dùng để chỉ mức liều hydro peroxit được thêm vào trong quá trình, hoặc nguồn hydro peroxit được thêm vào với lượng mà sẽ tạo ra hydro peroxit ở mức độ là 0,05g/l. Theo phương án được ưu tiên, trong các điều kiện thử nghiệm như được nêu ở Ví dụ 1, phương pháp hoặc chế phẩm theo sáng chế cho thấy mức độ biến màu cùng với mức độ tẩy trắng trên mặt phải của ít nhất là 1,5 đơn vị Delta L\*, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 1,6, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 1,7, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 1,8, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 1,9, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,1, tốt hơn nữa nếu ít

nhất là 2,2, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,3, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,4, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,5, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,6, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,7, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,8, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,9, thậm chí tốt nhất nếu ít nhất là 3 đơn vị Delta L\*. Đơn vị Delta L\* được xác định trong phần vật liệu và phương pháp trong điều kiện xác định màu.

Theo sáng chế, sự biến màu trên mặt trái (mặt sau) của sản phẩm dệt được xác định là mức độ tẩy trắng theo đơn vị Delta b\*. Do thuốc nhuộm trên mặt trái (mặt sau) của sản phẩm dệt thường là một lượng nhỏ, sự biến màu trên mặt trái (mặt sau) của sản phẩm dệt đã nhuộm không được phát hiện dễ dàng. Theo một số phương án, mức độ tẩy trắng trên mặt trái (mặt sau) của sản phẩm dệt được xác định trong các điều kiện như được nêu ở Ví dụ 1, bằng cách xử lý bằng peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian như được xác định theo sáng chế, ở 55°C, độ pH = 5,0 trong 30 phút và liều lượng peroxidaza là 0,015mg enzym protein/g vải sợi, liều lượng chất trung gian là 0,5mM/l và liều lượng hydro peroxit là 0,05g/l trong dung dịch nước, trong đó, tốt hơn là, phương pháp hoặc chế phẩm này theo sáng chế cho thấy sự biến màu trên mặt trái với mức độ tẩy trắng theo đơn vị Delta b\* >0. Đơn vị Delta b\* được xác định trong phần vật liệu và phương pháp trong điều kiện xác định màu.

#### Enzym bổ sung

Cần phải biết rõ rằng, một hoặc nhiều xenluloza, perhydrolaza, lacaza, amylaza, lipaza, mananaza, amylaza, proteaza, oxidaza, catalaza hoặc enzym khác được nêu ở đây, có thể được sử dụng làm enzym bổ sung trong chế phẩm và phương pháp theo sáng chế. Hơn nữa, số enzym bổ sung bất kỳ (hoặc hệ enzym) có thể được kết hợp với chế phẩm và phương pháp theo sáng chế mà không đi trêch khỏi tinh thần của bản mô tả sáng chế.

Proteaza có thể là, ví dụ metaloproteaza (EC 3,4,17 hoặc EC 3,4,24) hoặc serin proteaza (EC 3,4,21), tốt hơn là proteaza vi khuẩn kiềm hoặc proteaza giống trypsin. Ví dụ về proteaza là subtilisin (EC 3,4,21,62), đặc biệt là các proteaza có nguồn gốc từ *Bacillus*, ví dụ, subtilisin Novo, subtilisin Carlsberg, subtilisin 309, subtilisin 147 và subtilisin 168 (được mô tả trong WO 89/06279). Ví dụ về proteaza

giống trypsin là trypsin (*ví dụ*, có nguồn gốc từ lợn hoặc bò) và *Fusarium proteaza* được mô tả trong WO 89/06270 và WO 94/25583.

Thuật ngữ “xenluloza” dùng để chỉ enzym mà xúc tác cho quá trình làm thoái biến xenluloza thành glucoza, xenlobioza, trioza và các xenlo-oligosaccharit khác. Xenlulaza bao gồm các enzym được xác định thông thường như, *ví dụ*, xenlobiohydrolaza, endoglucanaza và beta-glucosidaza. Ví dụ về các sản phẩm enzym xenlulaza có trên thị trường được dùng trong phương pháp của sáng chế là: Cellulsoft®, Celluclast®, axit Denimax®, Denimax® Ultra (tất cả đều có được từ Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark); Indiage™, Primafast™ (cả hai đều có được từ Genencor International Inc., U.S.A.); Powerstone™ (của Iogen, Canada) và Ecostone™, Biotouch™ (cả hai đều của AB Enzym, Finland).

“Perhydrolaza” là enzym có khả năng xúc tác cho phản ứng perhydro phân mà dẫn đến sự tạo thành một lượng peraxit đủ cao để sử dụng trong phương pháp khử màu thuốc nhuộm oxy hóa như đã được mô tả. Nói chung, enzym perhydrolaza có tỷ lệ perhydro phân với thủy phân cao. Theo một số phương án, enzym perhydrolaza là perhydrolaza enzym *Mycobacterium smegmatis* thường gặp trong tự nhiên hoặc biến thể của nó. Enzym này, các đặc tính enzym của nó, cấu trúc của nó và số các biến thể và các đặc điểm của nó cũng được mô tả chi tiết trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent quốc tế số WO 05/056782A và WO 08/063400A và các đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US2008145353 và US2007167344.

“Lacaza” là oxidaza chứa nhiều đồng (EC 1,10,3,2), enzym này xúc tác cho quá trình oxy hóa phenol, polyphenol và anilin bằng cách rút điện tử đơn, đi kèm với việc khử oxy thành nước trong quy trình chuyển hóa 4 điện tử. Ví dụ về các sản phẩm enzym lacaza có trên thị trường được sử dụng trong phương pháp của sáng chế là EcoFade LT100 (của Genencor International Inc., U.S.A.) và Novoprime Baza 268 (của Novozymes A/S).

#### Phương pháp theo sáng chế

Theo sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp xử lý sản phẩm dệt bằng cách cho sản phẩm dệt tiếp xúc với peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian.

Hiện nay có gợi ý rằng, tỷ lệ nước cái/sản phẩm dệt thích hợp được sử dụng trong phương pháp của sáng chế có thể nằm trong khoảng từ 20:1 đến 1:1, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 15:1 đến 3:1, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 15:1 đến 5:1 (thể tích/trọng lượng).

Thời gian phản ứng thường nằm trong khoảng từ 1 phút đến 5 giờ. Tốt hơn là thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 3 phút đến 180 phút, tốt hơn nữa là thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 5 phút đến 60 phút, thậm chí tốt hơn nữa là từ 5 đến 30 phút và tốt nhất nếu là từ 10 đến 30 phút.

Quy trình theo sáng chế được thực hiện ở độ pH nằm trong khoảng từ 2 đến 8, tốt hơn là ở độ pH từ 3 đến 7, tốt hơn nữa là ở độ pH từ 4 đến 7, thậm chí tốt hơn nữa là ở độ pH từ 4 đến 6 và tốt nhất nếu ở độ pH từ 4 đến 5.

Quy trình theo sáng chế có thể thực hiện ở nhiệt độ thấp hơn 90°C, tốt hơn là thấp hơn 75°C, tốt hơn nữa là thấp hơn 65°C, tốt hơn nữa là thấp hơn 60°C, tốt hơn nữa là thấp hơn 55°C, tốt hơn nữa là thấp hơn 45°C, thậm chí tốt hơn nữa là thấp hơn 35°C.

Theo một số phương án, quy trình theo sáng chế được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 đến 90°C, tốt hơn là từ 15 đến 80°C, tốt hơn nữa là từ 20 đến 70°C, tốt hơn nữa là từ 30 đến 70°C, tốt hơn nữa là từ 35 đến 65°C và thậm chí tốt hơn nữa là từ 30 đến 50°C.

Liều lượng enzym phụ thuộc nhiều vào thời gian phản ứng enzym và hoạt tính của enzym, tức là thời gian phản ứng enzym tương đối ngắn hoặc hoạt tính enzym thấp sẽ cần liều lượng enzym tương đối gia tăng và ngược lại. Nói chung, liều lượng enzym có thể được quy ước theo thời gian phản ứng cho trước.

Theo phương án cụ thể, liều lượng của peroxidaza và enzym bổ sung, nếu có, là nằm trong khoảng từ 0,0001 milligram (mg) enzym protein đến 10mg enzym protein (của mỗi enzym) trên gam vải sợi, tốt hơn là từ 0,0005mg enzym protein đến 5mg enzym protein trên gam vải sợi, tốt hơn nữa là từ 0,0008mg enzym protein đến 3mg enzym protein trên gam vải sợi, tốt hơn nữa là từ 0,001mg enzym protein đến 2mg enzym protein trên gam vải sợi, tốt hơn nữa là từ 0,001mg enzym protein đến

1mg enzym protein trên gam vải sợi, tốt hơn nữa là từ 0,001mg enzym protein đến 0,5mg enzym protein trên gam vải sợi, thậm chí tốt hơn nữa là từ 0,001mg enzym protein đến 0,1mg enzym protein trên gam vải sợi. Một lần nữa, lượng này dùng để chỉ lượng của mỗi enzym.

Theo sáng chế, chất trung gian có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01mM đến 100mM, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,02mM đến 50mM, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,05mM đến 10mM và thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,05mM đến 5mM và thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,1mM đến 1mM và tốt nhất nếu nằm trong khoảng từ 0,1mM đến 0,5mM.

Nguồn hydro peroxit có thể được thêm vào tại thời điểm bắt đầu hoặc trong quá trình, ví dụ, thường với lượng tương ứng với mức nằm trong khoảng từ 0,001mM đến 25mM, tốt hơn là ở mức nằm trong khoảng từ 0,005mM đến 5mM và đặc biệt là ở mức nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1mM hydro peroxit và đặc biệt hơn là ở mức nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,5mM hydro peroxit. Như được sử dụng trong sáng chế này, liều lượng của nguồn hydro peroxit dùng để chỉ lượng hydro peroxit được thêm vào, hoặc nguồn hydro peroxit được thêm vào với lượng mà sẽ tạo ra hydro peroxit ở mức độ là nằm trong các khoảng chỉ định.

Oxy phân tử từ khí quyển thường có mặt với lượng đủ, nếu cần. Do đó, phản ứng có thể được thực hiện một cách thuận tiện trong lò phản ứng mở, tức là ở áp suất khí quyển.

Các chất phụ trợ khác nhau cho peroxidaza và enzym bổ sung có thể được sử dụng trong sáng chế, nếu muốn. Các chất hoạt động bề mặt và/hoặc chất phân tán thường có mặt và/hoặc được thêm vào sản phẩm dệt. Do đó, quy trình và việc sử dụng theo sáng chế có thể được thực hiện với sự có mặt của chất hoạt động bề mặt và/hoặc chất phân tán anion, không ion, cation và/hoặc lưỡng tính thường được sử dụng trong các quá trình xử lý sản phẩm dệt. Ví dụ về các chất hoạt động bề mặt anion là carboxylat, sulphat, sulphonat hoặc phosphat của alkyl, alkyl được thế hoặc aryl. Ví dụ về các chất hoạt động bề mặt không ion là các hợp chất polyoxyetylen, như rượu etoxylat, propoxylat hoặc etoxy-/propoxylat hỗn hợp, poly-glyxerol và các polyol khác, cũng như một số copolymer đóng nhất định. Ví dụ về chất hoạt động bề mặt

cation là polyme cation tan trong nước, như sulphat amoni bậc bốn và một số amin nhất định, ví dụ, epiclohydrin/dimethylamin polyme (EPI-DMA) và dung dịch liên kết chéo của nó, polydialyl dimetyl amoni clorua (DADMAC), DADMAC/Acrylamit copolyme và ionen polyme, như các chất được mô tả trong các patent Mỹ số 5,681,862; và 5,575,993. Ví dụ về chất hoạt động bề mặt lưỡng tính là betain, glyxinat, amino propionat, imino propionat và các dẫn xuất imidazolin khác nhau. Polyme được mô tả trong patent Mỹ số 5,256,252 cũng có thể được sử dụng.

Trong quy trình của sáng ché, peroxidaza có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc cùng với enzym bổ sung. Thuật ngữ “enzym bổ sung” tức là ít nhất là một enzym bổ sung, ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 hoặc thậm chí nhiều hơn 10 enzym bổ sung.

Thuật ngữ “được sử dụng cùng với” tức là enzym bổ sung có thể được dùng cùng lúc hoặc trong một bước khác của quy trình theo sáng ché. Bước quy trình khác có thể ngược chiều hoặc xuôi chiều nhau trong quy trình sản xuất sản phẩm dệt, khi so sánh với bước mà trong đó sản phẩm dệt được xử lý bằng peroxidaza.

Trong các phương án cụ thể, enzym bổ sung là enzym mà bao gồm proteaza, lipaza, xylanaza, cutinaza, oxidoreductaza, xenluloza, endoglucanaza, amylaza và/hoặc mananaza. Ví dụ về enzym oxidoreductaza là các enzym có hoạt tính lacaza, perhydrolaza và/hoặc peroxidaza. Theo phương án được ưu tiên, enzym bổ sung là lacaza.

Theo một số phương án, phương pháp xử lý sản phẩm dệt bao gồm bước (a) cho sản phẩm dệt tiếp xúc với xenluloza; (b) cho sản phẩm dệt tiếp xúc với peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian. Theo một số phương án, giữa bước (a) và bước (b), có một bước giặt. Theo một số phương án, bước (a) và bước (b) được thực hiện trong một thùng duy nhất mà không có bước giặt xen vào. Theo một số phương án, bước (a) và bước (b) được thực hiện liên tục hoặc đồng thời trong cùng một thùng. Theo một số phương án, bước (a) và bước (b) được thực hiện liên tục trong thùng duy nhất, trong đó, bước (a) được thực hiện trước bước (b).

Theo một số phương án, (a) được thực hiện trước bước giũ hồ bằng enzym. Theo một số phương án, bước giũ hồ bằng enzym có thể được thực hiện trong cùng một thùng với bước (a). Theo một số phương án, bước giũ hồ bằng enzym được thực

hiện liên tục hoặc đồng thời trong cùng một thùng với bước (a) và bước (b). Theo một số phương án, bước giữ hồ bằng enzym được thực hiện liên tục trong cùng một thùng với bước (a) và bước (b), trong đó, trình tự của các bước là bước giữ hồ bằng enzym, bước (a) và bước (b). Theo một số phương án, bước giữ hồ bằng enzym được thực hiện trong một thùng, rồi đến bước giặt và bước (a) và bước (b) được thực hiện trong cùng một thùng.

Peroxidaza còn có thể được sử dụng trong khía cạnh khác về sản xuất sản phẩm dệt, thường bao gồm các khía cạnh về xử lý, tiến hành quy trình, hoàn thiện, mài bóng, tạo ra sợi vải, hoặc bước tương tự khác. Ngoài việc làm biến màu vải bông chéo, peroxidaza có thể được sử dụng trong việc làm khử màu tạp chất đã được nhuộm (bao gồm tạp chất được nhuộm bằng indigo), trong việc nhuộm sợi vải, trong việc tẩy trắng sản phẩm dệt, trong việc làm biến màu sợi vải; trong việc làm cho các đặc tính xơ hoặc đặc tính của sợi vải gia tăng và các quá trình tương tự khác.

Chế phẩm hoặc quy trình theo sáng chế còn có thể được áp dụng trong việc tẩy trắng sản phẩm dệt để làm phá hủy màu đã được nhuộm và/hoặc tạp chất có màu của sợi vải coton. Trong một số phương án, bước sử dụng peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian để phá hủy màu đã được nhuộm và/hoặc tạp chất có màu của sợi vải coton được thực hiện sau bước tẩy sạch.

Theo phương án khác, chế phẩm theo sáng chế còn có thể được sử dụng trong phương pháp làm biến màu của len.

Chế phẩm theo sáng chế còn có thể được sử dụng trong phương pháp để loại bỏ thuộc nhuộm dư sau bước nhuộm/in. Thuốc nhuộm hòa tan không liên kết vào sợi vải còn dư có thể được loại bỏ bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế sau khi nhuộm, để đảm bảo độ bền của sản phẩm dệt đã nhuộm và để ngăn ngừa sự chuyển hóa của thuốc nhuộm không mong muốn trong quá trình giặt sản phẩm dệt của người sử dụng.

Chế phẩm theo sáng chế còn có thể được sử dụng trong lĩnh vực xử lý nước thải. Ví dụ, peroxidaza có thể được sử dụng trong việc làm mất màu của hợp chất có màu.

Mặc dù được minh họa chủ yếu bằng cách sử dụng sản phẩm dệt đã được nhuộm bằng thuốc nhuộm indigo và thuốc nhuộm lưu huỳnh, phương pháp theo sáng chế có thể được áp dụng để làm biến đổi màu của sản phẩm dệt đã được nhuộm bằng một lượng thuốc nhuộm lớn. Ví dụ về thuốc nhuộm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, thuốc nhuộm azo, monoazo, disazo, nitro, xanten, quinolin, anthroquinon, triarylmetan, paraazoanylin, azinoxazin, stilben, anilin và phtaloxyanin, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một phương án, thuốc nhuộm là thuốc nhuộm azo (ví dụ, Reactive Black 5 axit (2,7-naphthalendisulfonic, muối 4-amino-5-hydroxy-3,6-bis((4-((2-(sulfoxy)ethyl)-sulfonyl)phenyl)azo)-tetrasodi), Reactive Violet 5 vàng methyl, đỏ Congo). Theo một số phương án, thuốc nhuộm là thuốc nhuộm antraquinon (ví dụ, xanh remazol), indigo (indigo carmin), thuốc nhuộm triarylmetan/paraazoanylin (ví dụ, tím crystal, xanh malachit), hoặc thuốc nhuộm trên cơ sở lưu huỳnh. Theo các phương án khác nhau, thuốc nhuộm là thuốc nhuộm phản ứng, trực tiếp, phân tán, hoặc có màu. Theo một số phương án, thuốc nhuộm là một thành phần của mực in.

### Chế phẩm

Như được mô tả trên đây, chế phẩm theo sáng chế bao gồm peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian.

Chế phẩm này còn có thể được đề xuất ở dạng chế phẩm “sẵn sàng sử dụng” (*ready to use*: RTU), chế phẩm này nhất thiết bao gồm peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian. Theo một số phương án, chất trung gian được chọn từ axit 1-metylvioluric, axit 1,3-dimetylvioluric, axit thiovioluric, axit violuric và este, ete, muối hoặc hydrat của nó. Theo một số phương án, nguồn hydro peroxit được chọn từ percacbonat, persulphat, perphosphat, peroxyaxit, alkyperoxit, axylperoxit, peroxyeste, ure peroxit, perborat và axit peroxycarboxylic hoặc muối của nó. Chế phẩm RTU còn có thể chứa một hoặc nhiều hợp chất để tạo ra dung dịch đậm pH khi chế phẩm ở dạng dung dịch. Ví dụ, theo một số phương án, chế phẩm này chứa dung dịch đậm phosphat hoặc hệ dung dịch đậm axit adipic. Tốt hơn là, hệ dung dịch đậm axit adipic là hệ dung dịch đậm axit axetic. Chế phẩm RTU có thể ở dạng rắn, dạng hạt để dễ dàng bảo quản và vận chuyển. Tiếp đó, chế phẩm này được pha loãng với nước để tạo ra dung dịch nước để sử dụng, ví dụ, như đã được mô tả. Chế phẩm RTU này còn có thể chứa một

số chất phản ứng bỗ sung bất kỳ, như chất làm phân tán, chất hoạt động bề mặt, chất phong bế, polymé, chất bảo quản và các loại chất tương tự khác.

#### Xác định hoạt tính peroxidaza (POXU)

Một đơn vị peroxidaza (POXU) là lượng enzym mà xúc tác cho quá trình chuyển hóa một  $\mu\text{mol}$  hydro peroxit trên mỗi phút ở  $30^\circ\text{C}$  trong hỗn hợp chúa:

dung dịch đệm phosphat 0,1M, độ pH = 7,0;

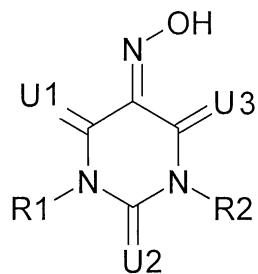
hydro peroxit 0,88mM; và

2,2'-azino-bis(3-etylbenzothiazolin-6-sulfonat) (ABTS) 1,67mM

Phản ứng được thực hiện trong 60 giây (15 giây sau khi trộn) trong khi đó sự thay đổi về hệ số hấp thụ ở 418nm được đo lại. Hệ số hấp thụ nên nằm trong khoảng từ 0,15 đến 0,30. Hoạt tính peroxidaza được tính toán bằng cách sử dụng hệ số hấp thụ của ABTS đã được oxy hóa là  $36\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  và hóa học tỷ lượng của một  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  được chuyển hóa trên mỗi hai  $\mu\text{mol ABTS}$  đã được oxy hóa.

Phương pháp và chế phẩm theo sáng chế còn được mô tả trong các phần được đánh số dưới đây.

1. Sáng chế đề xuất phương pháp xử lý sản phẩm dệt, phương pháp này bao gồm bước cho sản phẩm dệt tiếp xúc với peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian có công thức hóa học:



trong đó, U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O, S hoặc NOH; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, formyl, carbamoyl hoặc gốc sulfono, este hoặc muối của gốc sulfono, sulfamoyl, nitro, nitroso, amino, xyano, phenyl, benzyl C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-carbonyl, hoặc carbonyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl.

2. Theo một số phương án về phương pháp theo mục 1, U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O hoặc S; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, methyl, etyl, phenyl, benzyl, formyl, amino, xyano, nitroso, metoxy và/hoặc etoxy.

3. Theo một số phương án về phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên, U1, U2 và U3 là O; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, methyl, etyl, phenyl, benzyl, formyl, amino, xyano, nitroso, metoxy và/hoặc etoxy.

4. Theo một số phương án về phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên, chất trung gian được chọn từ axit 1-metylvioluric, axit 1,3-dimetylvioluric, axit thiovioluric, axit violuric và este, ete, muối hoặc hydrat của nó.

5. Theo một số phương án về phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên, sản phẩm dệt là sản phẩm dệt đã nhuộm, tốt hơn là sản phẩm dệt là vải sợi đã nhuộm, tốt hơn nữa là sản phẩm dệt là vải bông chéo.

6. Theo một số phương án về phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên, phương pháp này được thực hiện trong dung dịch nước có độ pH nằm trong khoảng từ 2 đến 8, tốt hơn là từ 3 đến 7, tốt hơn nữa là từ 4 đến 7.

7. Theo một số phương án về phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên, phương pháp này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10-90°C, tốt hơn là 15-80°C, tốt hơn nữa là 20-70°C, tốt hơn nữa là 30-70°C, tốt hơn nữa là 35-65°C và thậm chí tốt hơn nữa là 30-50°C.

8. Theo một số phương án về phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên, peroxidaza bao gồm hoặc chứa trình tự axit amin mà có độ tương đồng ít nhất là 80%, như ít nhất là 85%, ít nhất là 90% hoặc ít nhất là 95% tương đồng với SEQ ID NO:1 hoặc SEQ ID NO:2.

9. Sáng chế đề xuất phương pháp xử lý sản phẩm dệt, phương pháp này bao gồm bước (a) cho sản phẩm dệt tiếp xúc với xenluloza; (b) cho sản phẩm dệt tiếp xúc với peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian theo điểm bất kỳ trong số các

điểm từ 1 đến 8, trong đó, bước (a) và bước (b) được thực hiện liên tục hoặc đồng thời trong cùng một thùng.

10. Theo một số phương án về phương pháp theo mục 9, bước (a) được thực hiện trước bước giữ hồ bằng enzym.

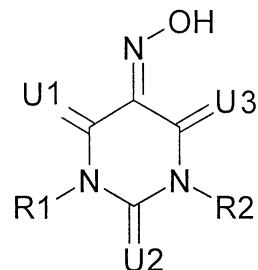
11. Theo một số phương án về phương pháp theo mục 10, bước giữ hồ bằng enzym là để cho sản phẩm dệt tiếp xúc với amylaza.

12. Theo một số phương án về phương pháp theo mục 11, bước cho sản phẩm dệt tiếp xúc với amylaza, bước (a) và bước (b) xảy ra liên tục hoặc đồng thời trong cùng một thùng.

13. Theo một số phương án về phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên, bước xử lý sản phẩm dệt là tạo ra sản phẩm dệt.

14. Theo một số phương án, phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên thu được sự biến màu trên mặt phải của sản phẩm dệt.

15. Sáng chế đề xuất chế phẩm, chế phẩm này chứa peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian có công thức hóa học:



trong đó, U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O, S hoặc NOH; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, formyl, carbamoyl hoặc gốc sulfono, este hoặc muối của gốc sulfono, sulfamoyl, nitro, nitroso, amino, xyano, phenyl, benzyl C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-carbonyl, hoặc carbonyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl.

16. Theo một số phương án về chế phẩm theo mục 15, U1, U2 và U3 là O; và R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, methyl, ethyl, phenyl, benzyl, formyl, amino, xyano, nitroso, metoxy và/hoặc etoxy.

17. Theo một số phương án về chế phẩm theo mục 16, chất trung gian được chọn từ axit 1-metylvioluric, axit 1,3-dimetylvioluric, axit thiovioluric, axit violuric và este, ete, muối hoặc hydrat của nó.

18. Theo một số phương án về chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ 15 đến 17, chế phẩm này là chế phẩm trong nước có độ pH nằm trong khoảng từ 2 đến 8, tốt hơn là từ 3 đến 7, tốt hơn nữa là từ 4 đến 7.

19. Sáng chế đề xuất việc sử dụng chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ 15 đến 18 để làm biến màu sản phẩm dệt.

20. Theo một số phương án về phương pháp hoặc chế phẩm hoặc sử dụng theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên, phương pháp hoặc chế phẩm theo sáng chế tạo ra sự biến màu trên mặt phải của sản phẩm dệt, tốt hơn là sự biến màu có mức độ tẩy trắng trên mặt phải của ít nhất là 1,5 đơn vị Delta L\*, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 1,6, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 1,7, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 1,8, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 1,9, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,0, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,1, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,2, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,3, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,4, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,5, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,6, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,7, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,8, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2,9, thậm chí tốt nhất nếu ít nhất là 3 đơn vị Delta L\* trong các điều kiện thử nghiệm như được mô tả cụ thể trong Ví dụ 1.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Nguyên liệu và phương pháp

Trình tự axit amin của *Coprinus cinereus* peroxidaza (CiP) được thể hiện là SEQ ID NO:1.

Trình tự axit amin của peroxidaza đậu nành (SBP) được thể hiện là SEQ ID NO:2.

Trình tự axit amin của *Myceliophthora thermophila* lacaza (MtL) được thể hiện như trong WO95/33536, trình tự số 2.

Cellusoft L® (sản phẩm xenlulaza nhiều thành phần *Trichoderma reesei*, có sẵn từ Novozymes A/S)

Denimax® Core 1380 S (sản phẩm enzym chứa xenlulaza và alpha-amylaza, có sẵn từ Novozymes A/S)

VA: axit violuric

HOBT: 1-hydroxy-benzotriazol

MS: Metylsyringat

Phép đo màu

Mức độ tẩy trắng của các mẫu vải bông chéo được xác định bằng cách đo độ phản xạ bằng DataColor SF450X được chia độ trước, theo cách khác một thiết bị tương đương có thể được sử dụng. 4 lần đọc được thực hiện cho mỗi mẫu và giá trị trung bình của các lần đọc sẽ được sử dụng. Mức độ tẩy trắng được đánh giá bằng chỉ số CIE L\* trên mặt màu xanh (mặt phải) của mẫu vải và chỉ số CIE b\* trên mặt trái (mặt sau) của mẫu vải.

L\* thể hiện sự thay đổi màu ở mức độ trắng/đen trên thang đo từ 0 đến 100 và độ giảm L\* tức là tăng màu đen (giảm màu trắng) và độ tăng L\* tức là tăng màu trắng (giảm màu đen). Đơn vị Delta L\* = L\* của mẫu đã được xử lý bằng một enzym nhất định – L\* của mẫu trước khi được xử lý enzym. Đơn vị Delta L lớn hơn thì vải bông chéo sáng hoặc trắng hơn, do đó mức độ tẩy trắng càng cao (ví dụ, đơn vị Delta L\* là 6 thì mức độ tẩy trắng sẽ cao hơn đơn vị đơn vị Delta L\* là 4).

b\* thể hiện sự thay đổi màu xanh/vàng và b\* giảm tức là màu xanh tăng (màu vàng giảm) và b\* tăng tức là màu vàng tăng (màu xanh giảm). Đơn vị Delta b\* = b\* của mẫu được xử lý bằng một enzym nhất định – b\* của mẫu trước khi được xử lý enzym. Đơn vị Delta b\* càng lớn thì mặt trái (mặt sau) của vải bông chéo càng sáng và/hoặc càng trắng, do đó mức độ tẩy trắng trên mặt trái càng cao (ví dụ, đơn vị Delta b\* là 3 sẽ có mức độ tẩy trắng cao hơn đơn vị Delta b\* là 1).

Hàm lượng protein

Protein enzym trong sản phẩm enzym có thể được xác định bằng bộ kít thử nghiệm BCA<sup>TM</sup> Protein Assay Kit (sản phẩm số 23225, có bán sẵn từ Thermo Fisher Scientific Inc.) theo sổ tay hướng dẫn sản phẩm.

Ví dụ 1:

Biến màu bằng CiP/VA trong Launder-O-meter ở các liều lượng khác nhau

Tác dụng của *Coprinus cinereus* peroxidaza/axit violuric (CiP/VA) lên vải bông chéo được thử nghiệm trong thiết bị Launder-O-meter (SDL-Atlas LP2), bao gồm mức độ tẩy trắng ở các liều lượng khác nhau.

Vải bông chéo sau khi được mài xước được cắt thành mảnh rộng 16cm và dài 27cm. Vải bông chéo được may lại, tạo thành một ống vải có độ cao là 12,5cm và nặng khoảng 22g. Ống vải được đưa vào phòng có điều kiện (độ ẩm tương đối là 65%, 20°C) trong 24 giờ trước khi chúng được đánh số, định lượng bằng cân thăng bằng phân tích và được ghi lại. Một ống vải đã được điều kiện hóa được đặt vào cốc mỗ dung tích 200ml, với mặt màu xanh quay vào trong. Đối với mỗi cốc mỗ, 30 hạt lớn (M10 M-SR-A4-80, axit thử), 10 hạt nhỏ (M6 M-SR-A4-80, axit thử), 7 nam châm hình sao lớn (đường kính 17mm, sản phẩm số 3-CO-411117, Cowie, Schweiz via Bie & Berntsen) và 3 nam châm hình sao nhỏ (đường kính 14mm, sản phẩm số 3-CO-11117, Cowie, Schweiz via Bie & Berntsen) được sử dụng để cung cấp sự trợ giúp cơ học. Tiếp đó, dung dịch đậm (dung dịch đậm natri axetat 50mM, độ pH = 5,0) và peroxidaza và chất trung gian được thêm vào theo Bảng 1, dựa trên tính toán về trọng lượng sợi vải thực tế, để tạo ra tổng thể tích là khoảng 176ml, lượng này sẽ tạo ra tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 8:1 (thể tích/trọng lượng ml/g). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> được thêm vào dung dịch theo Bảng 1 để bắt đầu phản ứng.

Trong khi đó, máy *Launder-O-Meter* (LOM) được khởi động sau khi chương trình cần thiết được chọn và nó sẽ được giữ khi nhiệt độ đạt tới 55°C. Mỗi cốc mỗ được lắp khít với một nắp được đệm bằng 2 miếng đệm neoprin và được đóng chặt bằng cơ cấu kẹp kim loại. Cốc mỗ được đưa vào máy LOM đã được gia nhiệt trước. Giá kim loại được sử dụng để điều tiết và đảm bảo an toàn cho 6 cốc mỗ, ở vị trí nằm ngang, mỗi máy trong số 4 vị trí trống. Nắp máy LOM được đậy lại và chương trình giặt được tiếp tục và thời gian được khởi tạo.

30 phút sau, tất cả các cốc mỗ được loại bỏ và mẫu vải bông chéo được chuyển sang dung dịch bất hoạt (natri cacbonat 2g/l) ở 85°C trong 10 phút. Tiếp đó,

mẫu vải (tức là vải bông chéo) được giặt trong nước nóng 2 lần và trong nước lạnh 2 lần. Mẫu vải bông chéo được sấy khô hỗn loạn (máy có sẵn từ AEG, LAVATHERM 37700, Germany) và các mẫu được đưa vào điều kiện trong 24 giờ ở 20°C, độ ẩm tương đối 65% trước khi được đánh giá.

Mức độ tẩy trắng của mẫu vải bông chéo được xác định bằng cách đo hệ số phản xạ bằng thiết bị DataColor SF450X đã được định cỡ trước. Thực hiện 4 phép đọc đối với mỗi mẫu. Mức độ tẩy trắng được đánh giá bằng chỉ số CIE L\* của mặt xanh của mẫu vải và bằng chỉ số CIE b\* của mặt sau của mẫu vải. Đối với cả L\* và b\*, 4 phép đọc được thực hiện cho mỗi mẫu vải sợi và giá trị trung bình của 4 lần đọc được sử dụng.

Hệ CiP/VA dẫn đến mức độ gia tăng đáng ngạc nhiên của mức độ tẩy trắng (các đơn vị Delta L\* và Delta b\* cao hơn) được so sánh với nhóm trống (không thêm CiP, VA và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) và nhóm đối chứng (thêm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Như được thể hiện trong Bảng 1, mức liều tối ưu đối với CiP, VA và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lần lượt là 0,015mg enzym protein/g vải sợi, 0,5mM/l và 0,05g/l. Hệ *Coprinus cinereus* peroxidaza và axit violur (CiP/VA) sẽ vận hành vượt quá khoảng liều rộng, bằng cách gia tăng mức độ tẩy trắng trên cả hai mặt vải.

Bảng 1

Kết quả về mức độ tẩy trắng của hệ CiP/VA ở các liều lượng khác nhau (55°C, độ pH = 5,0, 30 phút)

CiP (mg enzym protein/g vải bông chéo)	VA (mM/l)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (g/l)	Sợi vải bông chéo	
			Delta L*	Delta b*
0,001	0,25	0,1	3,13	1,11
0,005			6,45	2,02
0,015			6,7	3,47
0,030			8,07	3,18
0,015	0,05	0,1	2,29	0,76
	0,10		4,33	1,79
	0,25		6,70	3,47

	0,50		12,90	3,75
0,015	0,25	0,02	6,51	2,59
		0,05	9,43	4,47
		0,1	6,70	3,47
		0,2	5,65	2,61
0	0	0	0,55	0,02
0	0	0,1	0,58	0,09

Lưu ý: Giá trị trung bình của hai mẫu đối với mỗi liều lượng

Ví dụ 2:

Biến màu bằng CiP/VA trong LOM trong các điều kiện phản ứng khác nhau

Tác dụng của CiP/VA lên vải bông chéo được thử nghiệm trong các điều kiện phản ứng như được thể hiện trong Bảng 2 bằng quy trình giống với quy trình như trong Ví dụ 1. Liều lượng của CiP được thiết lập là 0,015mg enzym protein/g vải sợi, VA là 0,5mM/l và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> là 0,05g/l. Dung dịch đệm có độ pH=4 và pH=5 là dung dịch đệm natri axetat 50mM, dung dịch đệm có độ pH=6 và pH=7 là dung dịch đệm phosphat 50mM.

Cả nhóm trống (không thêm CiP, VA và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) và nhóm đối chứng (thêm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> với nồng độ 0,1g/l) đều được thực hiện ở độ pH = 5, nhiệt độ 55°C trong 30 phút.

Như được thể hiện trong Bảng 2, chúng ta có thể kết luận rằng, hệ CiP/VA cho thấy hoạt tính trên khoảng nhiệt độ rộng nằm trong khoảng từ 25 đến 65°C) và độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 7. Nó sẽ hoạt động tốt hơn trong điều kiện nhiệt độ thấp như từ 25 đến 45°C. Tốc độ phản ứng của CiP/VA là khá nhanh với tác dụng tẩy trắng chủ yếu được kết thúc trong vòng 10 phút đầu tiên.

Bảng 2

Kết quả về mức độ tẩy trắng của hệ CiP/VA trong các điều kiện độ pH, nhiệt độ và thời gian khác nhau

Độ pH	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Sợi vải bông chéo		
			Delta L*	Delta b*	
4	55	30	11,00	3,32	
5			10,75	3,77	
6			5,79	1,01	
7			2,54	0,68	
5	25	30	11,05	1,17	
	35		11,13	2,89	
	45		10,49	2,76	
	55		9,24	3,42	
	65		7,09	3,66	
5	55	10	8,59	2,91	
		20	8,79	2,74	
		30	9,31	2,44	
		60	9,98	1,72	
Nhóm trống			0,55	0,02	
Nhóm đối chứng			0,58	0,09	

Lưu ý: Giá trị trung bình của hai mẫu đối với mỗi điều kiện

Ví dụ 3:

Dữ liệu so sánh của CiP/VA với các sản phẩm của các giải pháp kỹ thuật đã biết về sự biến đổi màu trên vải bông chéo trong LOM

Biểu hiện của CiP/VA, CiP/HOBT, SBP/VA và MtL/MeS được đánh giá trong các điều kiện phản ứng như được thể hiện trong Bảng 3 bằng phương pháp giống như được nêu trong Ví dụ 1. Thời gian xử lý trong ví dụ này được đặt là 30 phút. Dung dịch đệm có độ pH = 5 là dung dịch đệm natri axetat 50mM và dung dịch đệm có độ pH = 6,5 là dung dịch đệm phosphat 50mM.

Như được thể hiện trong Bảng 3, cả CiP (SEQ ID NO:1) và SBP (SEQ ID NO:2) làm cải thiện tác dụng tẩy trắng, Khi so sánh với các sản phẩm có bán trên thị trường (CiP/HOBT), hệ CiP/VA hoặc SBP/VA là hiệu quả hơn so với hệ CiP/HOBT về mức độ tẩy trắng (đơn vị Delta L\* cao hơn và đơn vị Delta b\* cao hơn). VA là siêu việt đối với chất trung gian HOBT trong hệ peroxidaza/chất trung gian về sự biến màu.

Như được thể hiện trong Bảng 3, hệ CiP/VA hoặc SBP/VA thể hiện mức độ tẩy trắng tốt hơn so với hệ lacaza/chất trung gian có bán sẵn trên thị trường (MtL/MeS).

Bảng 3

Kết quả của CiP/VA và hệ enzym/chất trung gian khác lên mức độ tẩy trắng vải bông chéo trong LOM

Enzym/Chất trung gian	Điều kiện giặt	Liều enzym	Liều chất trung gian	Liều H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Sợi vải bông chéo	
					Delta L*	Delta b*
CiP/VA	55°C, pH=5,0, 30 phút	0,015mg /g vải sợi bông chèo	0,5mM/l	0,1g/l	6,71	2,27
CiP/HOBT			0,5mM/l		1,86	0,3
SBP/VA			0,5mM/l		6,12	1,56
MtL/MeS			0,5mM/l		5,32	1,45

Lưu ý: Giá trị trung bình của hai mẫu đối với mỗi điều kiện

Ví dụ 4:

Biến màu bằng CiP/VA kết hợp với xenlulaza trong LOM trong cùng một thùng

Quy trình mài xước và tẩy trắng kết hợp trong cùng một thùng dùng để chỉ việc thực hiện mài xước vải bông chéo và tẩy trắng liên tiếp trong cùng một thùng mà không rút nước và giặt trong quá trình đó, trong khi bình thường công đoạn mài xước và tẩy trắng là hai công đoạn riêng biệt được thực hiện trong các thùng xử lý khác nhau. Trong ví dụ này, các công đoạn mài xước và tẩy trắng bình thường được thiết lập có kiểm soát, trong đó vải bông chéo được giặt sau khi mài xước trong khi công đoạn tẩy trắng xảy ra trong một thùng khác sau đó.

Bước mài xước vải bông chéo: Vải sợi bông chéo sau khi được giữ hồ được cắt thành miếng có kích thước giống nhau và được định hình thành hình ống và đưa vào trong cốc mỏ LOM cùng một lượng hạt như được mô tả trong Ví dụ 1. Tiếp theo, dung dịch đậm (dung dịch đậm natri axetat 50mM, độ pH = 5,0) và sản phẩm xenlulaza (Cellusoft® L) được thêm vào theo như Bảng 4, trên cơ sở tính toán trọng lượng sợi vải thực tế, với tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 8:1 (thể tích/trọng lượng, ml/g). Cốc mỏ được đưa vào LOM đã được gia nhiệt trước. Tiếp đó, bước mài xước được bắt đầu ở 55°C, được thực hiện theo cách tương tự với cách được mô tả trong đoạn 3 của Ví dụ 1. Bốn mươi phút sau, tất cả các cốc mỏ được lấy ra khỏi LOM cho bước tẩy trắng tiếp theo trong một thùng khác hoặc trong cùng thùng đó.

Quy trình đối chứng (tẩy trắng trong thùng khác kể từ sau thùng mài xước): Đối với mẫu vải đối chứng, thùng mài xước được rút nước và mẫu vải được giặt trong nước nóng 2 lần trong nuowowcs lạnh 2 lần. Tiếp đó, mẫu vải được đưa trở lại cốc mỏ cùng với hạt như được mô tả trong đoạn 2 của Ví dụ 1 và tiếp đó dung dịch đậm (dung dịch đậm natri axetat 50mM, pH=5,0) được thêm vào, rồi thêm tiếp peroxidaza, chất trung gian và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> theo Bảng 4, với tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 8:1 (thể tích/trọng lượng, ml/g). Cốc mỏ được đưa vào LOM và chương trình giặt được tiếp tục trong 30 phút ở 55°C đối với bước tẩy trắng.

Quy trình kết hợp (công đoạn mài xước và tẩy trắng trong cùng một thùng): Đối với mẫu vải của quy trình kết hợp, peroxidaza, chất trung gian và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> được thêm trực tiếp vào thùng mài xước chứa các cốc mỏ theo Bảng 4. Các cốc mỏ được đưa trở lại LOM và chương trình giặt được tiếp tục trong 30 phút ở 55°C để tẩy trắng.

Sau bước tẩy trắng trong cả hai quy trình đối chứng và quy trình kết hợp, tất cả các cốc mỏ được lấy ra và mẫu vải bông chéo được chuyển sang dung dịch làm bất hoạt (natri cacbonat 2g/l) ở 85°C trong 10 phút. Tiếp đó, mẫu vải được giặt giữa trong nước nóng 2 lần và trong nước lạnh 2 lần. Các mẫu vải bông chéo được sấy khô hỗn loạn và điều kiện hóa và được đánh giá về mức độ tẩy trắng theo cách tương tự như cách được nêu trong Ví dụ 1.

Bảng 4 cho thấy rằng, quy trình kết hợp có thể đạt tới mức độ Delta L\* giống như mức độ này trong quy trình đối chứng, trong khi liều lượng của CiP/VA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ở

khoảng giữa gấp đôi và gấp ba liều lượng như được sử dụng trong quy trình đối chứng. Ví dụ này cho thấy rằng, hệ CiP/VA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> là thích hợp để sử dụng trong quy trình mài xước và tẩy trắng kết hợp trong cùng một thùng.

Bảng 4

Kết quả của quy trình kết hợp trong một thùng bằng Cellusoft® L và CiP/VA trong LOM

Quy trình	Cellusoft® L, % theo trọng lượng vải bông chéo	CiP, mg enzym protein/g vải bông chéo	VA, mM/l	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , g/l	Sợi vải bông chéo	
					Delta L*	Delta b*
Đối chứng	1,00	0,015	0,25	0,05	13,615	-1,1
Kết hợp	1,00	0,030	0,50	0,10	12,025	-1,395
	1,00	0,045	0,75	0,20	15,505	-2,02

Lưu ý: Giá trị trung bình của hai mẫu đối với mỗi lần kết hợp

Ví dụ 5:

Biến màu bằng CiP/VA kết hợp với giũ hò và mài xước trong cùng một thùng

Quy trình kết hợp trong cùng một thùng trong Ví dụ này dùng để chỉ việc thực hiện công đoạn giũ hò, mài xước và tẩy trắng vải bông chéo trong cùng một thùng mà không rút nước và giặt trong giữa khoảng đó. Trong ví dụ này, quy trình đối chứng trước hết được thực hiện giũ hò và mài xước đồng thời trong cùng một thùng, tiếp đó mẫu vải bông chéo được giặt trong khi công đoạn tẩy trắng xảy ra trong thùng khác sau đó.

Bước giũ hò và mài xước được thực hiện trong thiết bị WASCATOR (Electrolux, Switzerland) để đảm bảo đủ tác động cơ học đối với quá trình. WASCATOR là máy giặt kèm máy vắt có công suất là 7kg vải sợi, được điều khiển bằng đơn vị điều khiển chương trình trên cơ sở vi xử lý, đơn vị điều khiển này sẽ tạo ra tác động cơ học lớn hơn so với LOM, nên tác nhân giũ hò trong sợi vải bông chéo có thể được loại bỏ dễ dàng với sự trợ giúp của amylaza để đảm bảo cho sợi vải được giũ hò dày đủ và tác dụng mài xước được chuẩn bị cho bước tẩy trắng tiếp theo. 1kg

ống vải bông chéo được đưa vào máy WASCATOR và chương trình giặt được chạy như dưới đây:

Giặt sơ bộ	25°C, 5 phút; tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 15:1 (thể tích/trọng lượng)
Tháo nước	
Giặt chính	Sản phẩm enzym Denimax® Core 1380 S chứa cả alpha-amylaza và xenlulaza được thêm vào theo Bảng 5; 50°C, trong 85 phút; tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 10:1 (thể tích/trọng lượng); độ pH của thùng nước là 6,5 trong điều kiện thử nghiệm
Sau khi giặt	Ông vải bông chéo và thùng xử lý được thu gom một cách tương ứng cho bước tẩy trắng tiếp theo trong một thùng khác hoặc trong cùng thùng đó

Quy trình đối chứng: Mẫu vải để làm đối chứng được giặt trong nước nóng trong 2 lần và trong nước lạnh 2 lần, tiếp đó được cắt thành từng ống nhỏ và được đưa trở lại vào cốc mỏ cùng với các hạt như được mô tả trong Ví dụ 1. Sau đó, dung dịch đậm (dung dịch đậm natri axetat 50mM, độ pH=5,0) được thêm vào, rồi thêm tiếp peroxidaza, chất trung gian và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> theo Bảng 5, với tỷ lệ chất lỏng và sợi vải là 10:1 (thể tích/trọng lượng ml/g). Cốc mỏ được đưa trở lại vào LOM và chương trình giặt được tiếp tục trong 30 phút ở 40°C đối với bước tẩy trắng.

Quy trình kết hợp: Mẫu vải đối với quy trình kết hợp được cắt thành các ống nhỏ và được đưa vào cốc mỏ cùng với các hạt như được mô tả trong Ví dụ 1. Việc thu gom lại thùng nước từ WASCATOR được điều chỉnh đến độ pH = 5 bằng axit axetic và được thêm vào cốc mỏ. Peroxidaza, chất trung gian và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> được thêm vào theo Bảng 5, với tỷ lệ chất lỏng và sợi vải là 10:1 (thể tích/trọng lượng ml/g). Cốc mỏ được đưa trở lại vào LOM và chương trình giặt được tiếp tục trong 30 phút ở 40°C đối với bước tẩy trắng.

Sau bước tẩy trắng trong cả quy trình đối chứng lẫn quy trình kết hợp, tất cả các cốc mỏ được lấy ra và mẫu vải bông chéo được chuyển sang dung dịch bất hoạt (natri cacbonat 2g/l) ở 85% trong 10 phút. Tiếp đó, mẫu vải được giặt trong nước nóng 2 lần và trong nước lạnh 2 lần. Mẫu vải bông chéo được sấy khô hỗn loạn, điều kiện

hóa và được đánh giá về mức độ tẩy trắng theo cách tương tự như cách được mô tả trong Ví dụ 1.

Bảng 5 cho thấy rằng, quy trình kết hợp có thể đạt được mức độ Delta L\* giống như mức độ này trong quy trình đối chứng, trong khi liều lượng của CiP/VA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ở khoảng giữa sáu lần và bảy lần liều lượng như được sử dụng trong quy trình đối chứng. Ví dụ này cho thấy rằng, hệ CiP/VA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> là thích hợp để sử dụng trong quy trình mài xước và tẩy trắng kết hợp trong cùng một thùng.

Bảng 4

Kết quả của quy trình kết hợp trong một thùng bằng Denimax® Core 1380 S và CiP/VA

Quy trình	Denimax® Core 1380 S, % theo trọng lượng vải bông chéo	CiP, mg enzym protein/g vải bông chéo	VA, mM/l	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , g/l	Sợi vải bông chéo	
					Delta L*	Delta b*
Đối chứng	3	0,015	0,19	0,04	17,595	-0,705
Kết hợp	3	0,090	1,14	0,24	17,37	-3,255
	3	0,105	1,33	0,28	18,155	-3,405

Lưu ý: Giá trị trung bình của hai mẫu đối với mỗi lần kết hợp

Ví dụ 6:

Biến màu bằng CiP/VA bằng cách sử dụng natri percacbonat hoặc ure hydro peroxit làm nguồn cho hydro peroxit trong WASCATOR

Thử nghiệm về tẩy trắng vải bông chéo được thực hiện trong máy Wascator (Electrolux, Switzerland). Đối với mỗi thử nghiệm, sáu đoạn ống vải bông chéo lớn nặng khoảng 1kg được lồng vào với nhau. Dung dịch đậm natri axetat 50mM được sử dụng để kiểm soát thùng ở độ pH = 5. Peroxidaza, chất trung gian và nguồn hydro peroxit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hoặc natri percacbonat hoặc ure hydro peroxit) được thêm vào theo Bảng 6. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giải phóng ra lượng natri percacbonat và ure hydro peroxit lần lượt là 28,30% và 35,08%. Ở các liều lượng trong Bảng 6, cả natri percacbonat và ure hydro

peroxit đều có thể giải phóng ra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> đến lượng 0,06g/l. Các điều kiện thử nghiệm được mô tả như dưới đây:

Giặt chính	Cip, VA và nguồn hydro peroxit được thêm vào theo Bảng 6; 40°C trong 20 phút; tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 10:1 (v/w); độ pH = 5 bằng dung dịch đậm natri axetat 50mM
Rút nước	
Giặt	25°C, 5 phút: tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 15:1 (trọng lượng)
Rút nước	
Giặt	25°C, 5 phút: tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 15:1 (trọng lượng)
Rút nước	
Chiết rút và sấy khô hỗn loạn	

Kết quả trong Bảng 6 cho thấy rằng, natri percacbonat hoặc ure hydro peroxit có thể đạt tới mức độ tẩy trắng tương tự như với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Bảng 6

Kết quả của việc sử dụng nguồn hydro peroxit khác nhau đối với công đoạn tẩy trắng bằng CiP/VA trong thiết bị Wascator

Hydro peroxit		CiP (mg enzym protein/g denim)	VA (mM/l)	Sợi vải bông chéo	
Nguồn	g/l			Delta L*	Delta b*
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,06	0,015	0,19	8,03	1,84
Natri percacbonat	0,212	0,015	0,19	8,05	1,85
Ure hydro peroxit	0,171	0,015	0,19	7,56	1,72

Ví dụ 7:

Sự biến màu cục bộ bằng CiP/VA

Vải bông chéo sau khi được mài xước được cắt thành các mảnh rộng 16cm và dài 27cm. Vải bông chéo được may lại, tạo thành một mẫu vải hình chữ nhật có độ cao là 12,5cm và nặng khoảng 22g. Đưa mẫu vải có mặt màu xanh úp vào một vành có đường kính 10cm để tạo phần trung tâm của mẫu vải được treo theo chiều ngang.

1ml hỗn hợp CiP/VA (CiP = 0,221mg hỗn hợp Enzym Protein/g; VA = hỗn hợp 0,028mM/g) được nhổ vào trung tâm mẫu vải và sự thâm xảy ra một cách tự động. Sau 5 phút, mẫu vải được tạo thành hình ống và được đưa vào cốc mỏ với các hạt như được mô tả trong Ví dụ 1. Tiếp đó, dung dịch đậm (dung dịch đậm natri axetat 50mM, độ pH=5,0) và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> được thêm vào, làm cho thùng có hàm lượng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> là 0,69g/l và tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 10:1 (thể tích/trọng lượng ml/g). Cốc mỏ được đưa vào LOM và chương trình giặt được tiếp tục trong 20 phút ở 25°C. Sau 20 phút, thùng giặt được tháo nước và dung dịch NaOH (1g/l) được thêm vào cốc mỏ với tỷ lệ chất lỏng với sợi vải là 10:1 (thể tích/trọng lượng, ml/g). Cốc mỏ được đưa trở lại LOM và chương trình giặt được tiếp tục trong 10 phút ở 25°C.

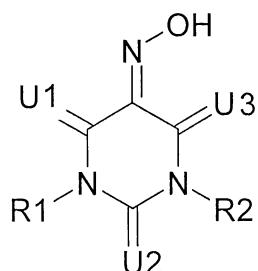
Tiếp đó, mẫu vải được giặt trong nước nóng 2 lần và trong nước lạnh 2 lần. Mẫu vải bông chéo được sấy khô hỗn loạn, điều kiện hóa và được đánh giá về mức độ tẩy trắng theo cách tương tự như cách được mô tả trong Ví dụ 1.

Giá trị Delta L\* của điểm trung tâm của mẫu vải là 14,30, trong khi giá trị Delta L\* ở biên (cách điểm trung tâm 5cm) là 3,99. Kết quả này cho thấy rằng, khu vực trung tâm được tẩy trắng nhiều hơn khu vực biên, do đó mô hình được tẩy trắng cục bộ sẽ được hình thành trên sợi vải.

Sáng chế đã được mô tả trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ sau đây mà không bị giới hạn bởi các khía cạnh cụ thể đã được mô tả, do các khía cạnh này chỉ nhằm mục đích minh họa sáng chế. Các khía cạnh tương đương bất kỳ cũng được bao gồm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế. Ngoài ra, các thay đổi khác nhau của sáng chế ngoài các phương án đã được thể hiện và được mô tả ở đây cũng sẽ trở nên rõ ràng hơn đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này khi dựa vào phần mô tả trên đây. Các thay đổi này cũng nằm trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ. Trong trường hợp ngược lại, phần mô tả cũng bao gồm các định nghĩa sẽ kiểm soát được.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp xử lý sản phẩm dệt, trong đó phương pháp này bao gồm bước tẩy trắng sản phẩm dệt đã nhuộm bằng tác nhân tẩy trắng ở độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 5 trong dung dịch trong nước chứa peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian có công thức:



trong đó:

U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O, S hoặc NOH; và  
 R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, formyl, carbamoyl hoặc gốc sulfono, este hoặc muối chứa gốc sulfonocal, sulfamoyl, nitro, nitroso, amino, xyano, phenyl, benzyl C1-C4-alkyl, C1-C4-alkoxy, C1-C4-carbonyl hoặc carbonyl-C1-C4-alkyl.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó:

U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O hoặc S; và  
 R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, methyl, ethyl, phenyl, benzyl, formyl, amino, xyano, nitroso, metoxy và/hoặc etoxy.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó:

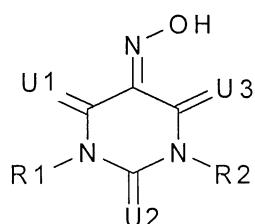
U1, U2 và U3 là O; và  
 R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, methyl, ethyl, phenyl, benzyl, formyl, amino, xyano, nitroso, metoxy và/hoặc etoxy.

4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó chất trung gian được chọn từ nhóm gồm có axit 1-metylvioluric, axit 1,3-dimetylvioluric, axit thiovioluric, axit violuric và este, ete, muối và hydrat của nó.

5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó sản phẩm dệt là vải bông chéo.
6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 50°C.
7. Phương pháp theo điểm 2, trong đó phương pháp này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 50°C.
8. Phương pháp theo điểm 3, trong đó phương pháp này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 50°C.
9. Phương pháp theo điểm 4, trong đó phương pháp này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 50°C.
10. Phương pháp theo điểm 1, trong đó tác nhân tẩy trắng là tác nhân oxy hoá.
11. Phương pháp theo điểm 1, trong đó tác nhân tẩy trắng là tác nhân khử.
12. Phương pháp theo điểm 1, trong đó tác nhân tẩy trắng là tác nhân tẩy trắng enzym.
13. Phương pháp theo điểm 1, trong đó peroxidaza có trình tự axit amin mà có ít nhất 90% giống với trình tự SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2.
14. Phương pháp theo điểm 1, trong đó peroxidaza có trình tự axit amin mà có ít nhất 95% trình tự giống với trình tự SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2.
15. Phương pháp theo điểm 1, trong đó peroxidaza có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2.

16. Phương pháp xử lý sản phẩm dệt, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- (a) cho sản phẩm dệt được nhuộm tiếp xúc với xenlulaza; và
- (b) tẩy trắng sản phẩm dệt được nhuộm này bằng tác nhân tẩy trắng ở độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 5 với peroxidaza, nguồn hydro peroxit và chất trung gian có công thức



trong đó

U1, U2 và U3 là giống nhau hoặc khác nhau và là O, S hoặc NOH; và

R1 và R2 là giống nhau hoặc khác nhau và là hydro, hydroxyl, formyl, carbamoyl hoặc gốc sulfono, este hoặc muối chứa gốc sulfono, sulfamoyl, nitro, nitroso, amino, xyano, phenyl, benzyl C1-C4-alkyl, C1-C4-alkoxy, C1-C4-carbonyl hoặc carbonyl-C1-C4-alkyl,

trong đó các bước (b) và (c) được thực hiện theo trình tự hoặc đồng thời trong cùng một bể.

17. Phương pháp theo điểm 16, trong đó bước (a) được thực hiện trước bước rũ hồ bao gồm việc cho sản phẩm dệt tiếp xúc với amylaza.

18. Phương pháp theo điểm 17, trong đó bước rũ hồ, bước (a) và bước (b) xảy ra theo trình tự hoặc đồng thời trong cùng một bể.

## DANH MỤC TRÌNH TỰ

Gln Gly Pro Gly Gly Gly Ser Val Thr Cys Pro Gly Gly Gln Ser  
 1            5            10            15

Thr Ser Asn Ser Gln Cys Cys Val Trp Phe Asp Val Leu Asp Asp Leu  
 20            25            30

Gln Thr Asn Phe Tyr Gln Gly Ser Lys Cys Glu Ser Pro Val Arg Lys  
 35            40            45

Ile Leu Arg Ile Val Phe His Asp Ala Ile Gly Phe Ser Pro Ala Leu  
 50            55            60

Thr Ala Ala Gly Gln Phe Gly Gly Gly Ala Asp Gly Ser Ile Ile  
 65            70            75            80

Ala His Ser Asn Ile Glu Leu Ala Phe Pro Ala Asn Gly Gly Leu Thr  
 85            90            95

Asp Thr Val Glu Ala Leu Arg Ala Val Gly Ile Asn His Gly Val Ser  
 100            105            110

Phe Gly Asp Leu Ile Gln Phe Ala Thr Ala Val Gly Met Ser Asn Cys  
 115            120            125

Pro Gly Ser Pro Arg Leu Glu Phe Leu Thr Gly Arg Ser Asn Ser Ser  
 130            135            140

Gln Pro Ser Pro Pro Ser Leu Ile Pro Gly Pro Gly Asn Thr Val Thr  
 145            150            155            160

Ala Ile Leu Asp Arg Met Gly Asp Ala Gly Phe Ser Pro Asp Glu Val  
 165            170            175

Val Asp Leu Leu Ala Ala His Ser Leu Ala Ser Gln Glu Gly Leu Asn  
 180            185            190

Ser Ala Ile Phe Arg Ser Pro Leu Asp Ser Thr Pro Gln Val Phe Asp  
 195            200            205

Thr Gln Phe Tyr Ile Glu Thr Leu Leu Lys Gly Thr Thr Gln Pro Gly  
 210            215            220

Pro Ser Leu Gly Phe Ala Glu Glu Leu Ser Pro Phe Pro Gly Glu Phe  
 225            230            235            240  
  
 Arg Met Arg Ser Asp Ala Leu Leu Ala Arg Asp Ser Arg Thr Ala Cys  
 245            250            255  
  
 Arg Trp Gln Ser Met Thr Ser Ser Asn Glu Val Met Gly Gln Arg Tyr  
 260            265            270  
  
 Arg Ala Ala Met Ala Lys Met Ser Val Leu Gly Phe Asp Arg Asn Ala  
 275            280            285  
  
 Leu Thr Asp Cys Ser Asp Val Ile Pro Ser Ala Val Ser Asn Asn Ala  
 290            295            300  
  
 Ala Pro Val Ile Pro Gly Gly Leu Thr Val Asp Asp Ile Glu Val Ser  
 305            310            315            320  
  
 Cys Pro Ser Glu Pro Phe Pro Glu Ile Ala Thr Ala Ser Gly Pro Leu  
 325            330            335  
  
 Pro Ser Leu Ala Pro Ala Pro  
 340  
  
 Gln Leu Thr Pro Thr Phe Tyr Arg Glu Thr Cys Pro Asn Leu Phe Pro  
 1            5            10            15  
  
 Ile Val Phe Gly Val Ile Phe Asp Ala Ser Phe Thr Asp Pro Arg Ile  
 20            25            30  
  
 Gly Ala Ser Leu Met Arg Leu His Phe His Asp Cys Phe Val Gln Gly  
 35            40            45  
  
 Cys Asp Gly Ser Val Leu Leu Asn Asn Thr Asp Thr Ile Glu Ser Glu  
 50            55            60  
  
 Gln Asp Ala Leu Pro Asn Ile Asn Ser Ile Arg Gly Leu Asp Val Val  
 65            70            75            80  
  
 Asn Asp Ile Lys Thr Ala Val Glu Asn Ser Cys Pro Asp Thr Val Ser  
 85            90            95  
  
 Cys Ala Asp Ile Leu Ala Ile Ala Ala Glu Ile Ala Ser Val Leu Gly  
 100            105            110

Gly Gly Pro Gly Trp Pro Val Pro Leu Gly Arg Arg Asp Ser Leu Thr  
 115                120                125  
  
 Ala Asn Arg Thr Leu Ala Asn Gln Asn Leu Pro Ala Pro Phe Phe Asn  
 130                135                140  
  
 Leu Thr Gln Leu Lys Ala Ser Phe Ala Val Gln Gly Leu Asn Thr Leu  
 145                150                155                160  
  
 Asp Leu Val Thr Leu Ser Gly Gly His Thr Phe Gly Arg Ala Arg Cys  
 165                170                175  
  
 Ser Thr Phe Ile Asn Arg Leu Tyr Asn Phe Ser Asn Thr Gly Asn Pro  
 180                185                190  
  
 Asp Pro Thr Leu Asn Thr Thr Tyr Leu Glu Val Leu Arg Ala Arg Cys  
 195                200                205  
  
 Pro Gln Asn Ala Thr Gly Asp Asn Leu Thr Asn Leu Asp Leu Ser Thr  
 210                215                220  
  
 Pro Asp Gln Phe Asp Asn Arg Tyr Tyr Ser Asn Leu Leu Gln Leu Asn  
 225                230                235                240  
  
 Gly Leu Leu Gln Ser Asp Gln Glu Leu Phe Ser Thr Pro Gly Ala Asp  
 245                250                255  
  
 Thr Ile Pro Ile Val Asn Ser Phe Ser Ser Asn Gln Asn Thr Phe Phe  
 260                265                270  
  
 Ser Asn Phe Arg Val Ser Met Ile Lys Met Gly Asn Ile Gly Val Leu  
 275                280                285  
  
 Thr Gly Asp Glu Gly Glu Ile Arg Leu Gln Cys Asn Phe Val Asn Gly  
 290                295                300  
  
 Asp Ser Phe Gly Leu Ala Ser Val Ala Ser Lys Asp Ala Lys Gln Lys  
 305                310                315                320  
  
 Leu Val Ala Gln Ser Lys  
 325