



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0024076

(51)⁷ D06M 16/00; C08K 5/42; C08L 71/02 (13) B

(21) 1-2016-03653

(22) 15/05/2015

(86) PCT/CN2015/079095 15/05/2015

(87) WO2015/172742 19/11/2015

(30) PCT/CN2014/077573 15/05/2014 CN

(45) 25/06/2020 387

(43) 27/02/2017 347A

(73) NOVOZYMES A/S (DK)

Krogshoejvej 36, DK-2880 Bagsvaerd, Denmark

(72) XIE, Shuang (CN); CAO, Lijuan (CN); ZHOU, Yucheng (CN).

(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM, PHƯƠNG PHÁP LÀM SẠCH NGUYÊN LIỆU XENLULOZA VÀ
PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ VẢI DỆT

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm và quy trình xử lý nguyên liệu xenluloza, ví dụ, vải hoặc sợi dệt cotton được đan hoặc dệt, quy trình xử lý bao gồm bước xử lý nguyên liệu xenluloza bằng pectinaza và chất hoạt động bề mặt.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm và phương pháp điều chế sinh học nguyên liệu xenluloza, cụ thể là vải dệt và cụ thể hơn là dệt cotton, bằng cách sử dụng pectinaza kết hợp với chất hoạt động bề mặt.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Khía cạnh quan trọng của việc điều chế vải dệt từ sợi xenluloza là loại bỏ các thành phần không phải xenluloza có trong sợi tự nhiên, cũng như là loại bỏ tạp chất, chẳng hạn như các hợp chất được bổ sung vào sợi dưới dạng chất hồ sợi và chất bôi trơn dùng trong thiết bị xử lý. Việc loại bỏ tạp chất không phải xenluloza, được gọi là "sự làm sạch", tối ưu là tạo ra vải có khả năng thấm ướt cao và vừa phải mà, vì thế, có thể được tẩy trắng và/hoặc được nhuộm màu đồng đều.

Quy trình làm sạch thông thường thường sử dụng phương pháp xử lý hóa học có tính kiềm cao, mà không chỉ dẫn đến việc loại bỏ tạp chất mà còn làm yếu thành phần xenluloza nằm ở bên dưới của sợi hoặc vải. Sự làm sạch vải dệt bằng enzym được thực hiện bằng cách sử dụng hệ thống enzym có chứa pectinaza.

EP943028 bộc lộ sự làm sạch vải cotton bằng enzym ở điều kiện độ pH kiềm. EP1159479 bộc lộ phương pháp làm sạch vải cotton bằng enzym có hoạt tính enzym pectat lyaza ổn định nhiệt.

Trong lĩnh vực này luôn cần phải cải thiện phương pháp làm sạch sinh học mà có thể được tiến hành một cách hiệu quả để loại bỏ tạp chất không phải xenluloza và cũng thân thiện với môi trường.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm và phương pháp xử lý vải dệt.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất chế phẩm có chứa pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B:

cấu trúc hóa học A: $R-(CH_2)_m-Y-(CH_2CH_2O)_n-H$,

trong đó Y là $-\text{CO}-\text{O}-$ và R được chọn từ nhóm gồm có $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, và $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$; hoặc Y là $-\text{CH}_2-$ và R là $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$; $6 \leq m \leq 14$ và $1 \leq n \leq 18$;

cấu trúc hóa học B: $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_f-\text{C}(\text{SO}_3\text{Na})\text{H}-(\text{CH}_2)_e-\text{CH}_3$,

trong đó $f + e = 11-14$.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất phương pháp làm sạch vải dệt bằng cách xử lý nguyên liệu xenluloza bằng pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B:

cấu trúc hóa học A: $\text{R}-(\text{CH}_2)_m-\text{Y}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{H}$,

trong đó Y là $-\text{CO}-\text{O}-$ và R được chọn từ nhóm gồm có $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-(\text{CH}_3)_2$; hoặc Y là $-\text{CH}_2-$, và R là $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$; $6 \leq m \leq 14$ và $1 \leq n \leq 18$;

cấu trúc hóa học B: $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_f-\text{C}(\text{SO}_3\text{Na})\text{H}-(\text{CH}_2)_e-\text{CH}_3$,

trong đó $f + e = 11-14$.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất phương pháp xử lý vải dệt, bao gồm các bước:

(a) rửa hồ vải dệt bằng amylaza;

(b) làm sạch vải dệt bằng pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B như được xác định trong khía cạnh thứ nhất của sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như được dùng trong bản mô tả này, các danh từ ở dạng số ít bao gồm cả nghĩa số nhiều trừ khi ngữ cảnh chỉ ra rõ ràng theo cách khác. Do đó, ví dụ, việc đề cập đến "pectinaza" bao gồm việc sử dụng một hoặc nhiều pectinaza. "Bước" của phương pháp có nghĩa là ít nhất một bước, và nó có thể là một, hai, ba, bốn, năm hoặc thậm chí nhiều bước hơn của phương pháp.

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

Như được dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "theo thứ tự" khi đề cập đến một số lượng các xử lý enzym của vải dệt, có nghĩa là xử lý enzym xác định thứ hai được thực hiện sau khi thực hiện xử lý enzym xác định thứ nhất. Các xử lý theo thứ tự có thể được tách nhau ra bằng cách đan xen các bước rửa. Khi được xác định, các xử lý enzym theo thứ tự có thể được tiến hành "trong cùng một bể", có nghĩa là về cơ bản là trong cùng một môi trường lỏng mà không đan xen các bước rửa. Xử lý theo thứ tự trong một bể đơn lẻ có thể bao gồm sự điều chỉnh độ pH, sự điều chỉnh nhiệt độ, và/hoặc sự bổ sung muối, chất hoạt hóa, chất môi giới, và chất tương tự, nhưng không bao gồm việc giặt hoặc giữ.

Như được dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "đồng thời", khi đề cập đến một số lượng các xử lý enzym của vải dệt, có nghĩa là xử lý enzym xác định thứ hai được thực hiện cùng lúc (tức là, ít nhất gộp lên một phần) với xử lý enzym xác định thứ nhất. Các xử lý enzym đồng thời cần phải được thực hiện "trong cùng một bể" mà không đan xen các bước rửa.

Pectinaza

Thuật ngữ pectinaza hoặc enzym phân giải pectin được dự định là bao gồm enzym pectinaza bất kỳ được xác định trong lĩnh vực trong đó pectinaza là nhóm các enzym xúc tác cho sự phân cắt của liên kết glycosidic. Về cơ bản có ba loại enzym phân giải pectin: pectinesteraza, mà chỉ loại bỏ gốc metoxyl ra khỏi pectin, loại enzym giải trùng hợp, và protopectinaza, mà hòa tan protopectin để tạo ra pectin (Sakai et al., (1993) *Advances in Applied Microbiology* vol 39 pp 213-294). Ví dụ về pectinaza hoặc enzym phân giải pectin hữu dụng trong sáng chế là pectat lyaza (EC 4.2.2.2 và EC 4.2.2.9), polygalacturonaza (EC 3.2.1.15 và EC 3.2.1.67), polymetyl galacturonaza, pectin lyaza (EC 4.2.2.10), galactanaza (EC 3.2.1.89), arabinanaza (EC 3.2.1.99) và/hoặc pectin esteraza (EC 3.1.1.11).

Các enzym phân giải pectin thích hợp bao gồm các enzym được mô tả trong WO 99/27083, WO 99/27084, WO 00/55309, WO 02/092741 và WO08039353. Một

ví dụ về sản phẩm enzym phân giải pectin có trên thị trường hữu dụng trong phương pháp theo sáng chế là PrimaGreen® EcoScour (của công ty Dupont, Mỹ).

Tốt hơn là, pectinaza dùng trong sáng chế là pectat lyaza. Pectat lyaza thích hợp bao gồm pectat lyaza có nguồn gốc vi khuẩn hoặc nấm. Các thể đột biến được cải biến về mặt hóa học hoặc di truyền được bao gồm. Theo phương án được ưu tiên pectat lyaza được tạo dẫn xuất từ chủng thuộc chi *Bacillus*, cụ thể là chủng *Bacillus subtilis*, cụ thể là *Bacillus subtilis* DSM14218 được bộc lộ trong SEQ ID NO:2 hoặc biến thể của nó được bộc lộ trong Ví dụ 6 của WO 02/092741 (được kết hợp ở đây để tham khảo) hoặc biến thể được bộc lộ trong WO 03/095638 (được kết hợp ở đây để tham khảo). Theo cách khác pectat lyaza được tạo dẫn xuất từ chủng *Bacillus licheniformis*, cụ thể là pectat lyaza được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 8 trong WO 99/27083 hoặc các biến thể của chúng như được mô tả trong WO 02/06442.

Pectinaza này đặc biệt là pectat lyaza hữu dụng để thực hiện sáng chế có thể được nhận dạng bằng cách sử dụng, ví dụ, kỹ thuật sàng lọc lưu lượng cao chẳng hạn như quy trình sàng lọc đĩa aga được mô tả trong Ví dụ 1 dưới đây.

Nhằm đạt được mục đích của sáng chế, hoạt tính pectinaza hoặc enzym phân giải pectin (cụ thể là hoạt tính pectat lyaza) là hoạt tính được xác định bằng cách đo sự tăng lên của độ hấp thụ ở bước sóng 235 nm của dung dịch 0,1% khối lượng/thể tích của natri polygalacturonat trong chất đệm glyxin 0,1M ở độ pH = 10. Hoạt tính enzym thường được biểu diễn dưới dạng x μmol /phút, tức là, hàm lượng enzym mà xúc tác cho sự tạo thành của x μmol sản phẩm/phút.

Pectinaza trung tính hoặc enzym phân giải pectin là enzym mà thể hiện hoạt tính enzym lớn nhất ở điều kiện trung tính, ví dụ, độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 6,0 đến khoảng 8,0, tốt hơn là, từ khoảng 6,5 đến khoảng 7,5, tốt hơn nữa là khoảng 7,0.

Các ví dụ không làm giới hạn sáng chế về pectinaza mà việc sử dụng chúng được bao hàm bởi sáng chế bao gồm các polypeptit có chứa hoặc bao gồm trình tự peptit trưởng thành nêu trong SEQ ID NO:1 và các polypeptit có chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất là khoảng 60%, tốt hơn là độ tương đồng ít nhất là khoảng 70%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 80%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 90%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là

khoảng 95%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 96%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 97%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 98%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 99%, và tốt nhất là độ tương đồng là 100% so với SEQ ID NO:1.

Theo phương án được ưu tiên, pectinaza của phương pháp và chế phẩm theo sáng chế có chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có sự thể, sự mất, và/hoặc sự cài xen của một hoặc nhiều (hoặc một vài) axit amin của polypeptit trưởng thành nêu trong SEQ ID NO: 1. Pectinaza nêu trong SEQ ID NO: 1 là pectat lyaza từ *Bacillus licheniformis*. Peptit trưởng thành nêu trong SEQ ID NO: 1 là các axit amin 28-341.

Nhằm đạt được mục đích của sáng chế, độ tương đồng trình tự giữa hai 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 cài đặt trong chương trình Needle của gói EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, Trends Genet. 16: 276-277), tốt hơn là phiên bản 5.0.0 hoặc phiên bản muộn hơn. Các tham số được sử dụng là điểm phạt mở quãng cách bằng 10, điểm phạt kéo dài quãng cách bằng 0,5, và ma trận thế EBLOSUM62 (phiên bản EMBOSS của BLOSUM62). Đầu ra của Needle được gắn nhãn "độ tương đồng dài nhất" (thu được bằng cách sử dụng tùy chọn –nobrief) được sử dụng dưới dạng tỷ lệ phần trăm độ tương đồng và được tính như sau:

$$\frac{(\text{Số gốc Tương đồng} \times 100)}{(\text{Chiều dài của Đoạn sắp thẳng hàng} - \text{Tổng số Quãng cách trong Đoạn sắp thẳng hàng})}$$

Nhằm đạt được mục đích của sáng chế, 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 cài đặt trong chương trình Needle của gói EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, supra), tốt hơn là phiên bản 5.0.0 hoặc phiên bản muộn hơn. Các tham số được sử dụng là điểm phạt mở quãng cách bằng 10, điểm phạt kéo dài quãng cách bằng 0,5, và ma trận thế EDNAFULL (phiên bản EMBOSS của NCBI NUC4.4). Đầu ra của Needle được gắn nhãn "độ tương đồng dài nhất" (thu được bằng cách sử dụng

dụng tùy chọn –nobrief) được sử dụng dưới dạng tỷ lệ phần trăm độ tương đồng và được tính như sau:

$$\frac{(\text{Số deoxyribonucleotit Tương đồng} \times 100)}{(\text{Chiều dài của Đoạn sắp thẳng hàng} - \text{Tổng số Quãng cách trong Đoạn sắp thẳng hàng})}$$

Theo sáng chế, trình tự polypeptit của pectat lyaza có thể là các biến thể có chứa sự thế, sự mất, và/hoặc sự cài xen của một hoặc nhiều (hoặc một vài) axit amin của polypeptit nêu trong SEQ ID NO: 1, hoặc trình tự tương đồng của chúng. Tốt hơn là, sự thay đổi axit amin (tức là sự thế, sự mất, và/hoặc sự cài xen của một hoặc nhiều (hoặc một vài) axit amin) thuộc loại nhỏ, mà là sự thế hoặc sự cài xen axit amin bảo toàn mà không ảnh hưởng đáng kể tới sự cuộn gập và/hoặc hoạt tính của protein; sự mất nhỏ, thường là từ một đến khoảng 30 axit amin; sự kéo dài đầu amino hoặc carboxyl nhỏ, chẳng hạn như gốc metionin ở đầu amino; peptit liên kết nhỏ có đến khoảng 20-25 gốc; hoặc sự kéo dài nhỏ tạo điều kiện thuận lợi cho sự tinh chế bằng cách thay đổi điện tích thực hoặc chức năng khác, chẳng hạn như dải poly-histidin, epitop kháng nguyên hoặc miền liên kết.

Ví dụ về sự thế bảo toàn là trong nhóm các 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 (loxin, isoloxin và valin), axit amin thơm (phenylalanin, tryptophan và tyrosin), và axit amin nhỏ (glyxin, alanin, serin, threonin và metionin). Các sự thế axit amin mà thường không làm thay đổi hoạt tính đặc hiệu đã được biết đến trong lĩnh vực và được mô tả, ví dụ, trong tài liệu H. Neurath and R.L. Hill, 1979, *In, The Proteins*, Academic Press, New York. Các trao 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 thiết yếu trong polypeptit mẹ có thể được nhận dạng theo các quy trình đã biết trong lĩnh vực, chẳng hạn như gây đột biến định hướng vị trí hoặc gây đột biến quét alanin (Cunningham and Wells, 1989, *Science* 244: 1081-1085). Trong kỹ thuật sau, các đột biến alanin đơn lẻ được đưa vào mọi gốc trong phân tử, và các phân tử đột biến thu được được thử nghiệm về hoạt tính endoglucanaza để nhận dạng các gốc axit amin quan trọng đối với hoạt tính của phân tử. Cũng xem tài liệu, Hilton *et al.*,

1996, *J. Biol. Chem.* 271: 4699-4708. Vị trí hoạt tính của enzym hoặc tương tác sinh học khác cũng có thể được xác định bằng cách phân tích vật lý về cấu trúc, như được xác định bằng các kỹ thuật như cộng hưởng từ nhân, khảo sát tinh thể, nhiễu xạ điện tử, hoặc gắn nhãn ưa ánh sáng, kết hợp với đột biến của axit amin vị trí tiếp xúc giả định. 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. Độ tương đồng của các axit amin thiết yếu cũng có thể được suy ra từ phân tích độ tương đồng với các polypeptit mà có liên quan đến polypeptit mẹ.

Sự thế, sự mất, và/hoặc sự cài xen axit amin đơn lẻ hoặc nhiều sự thế, sự mất, và/hoặc sự cài xen axit amin có thể được tạo ra và được thử nghiệm bằng cách sử dụng phương pháp gây đột biến, tái tổ hợp, và/hoặc xáo trộn trình tự đã biết, sau đó là quy trình sàng lọc thích hợp, chẳng hạn như quy trình sàng lọc được bộc lộ 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 tạo lỗi ngẫu nhiên, hiển thị phago (ví dụ, Lowman *et al.*, 1991, *Biochemistry* 30: 10832-10837; bằng sáng chế Mỹ số 5,223,409; WO 92/06204), và gây đột biến định hướng vùng (Derbyshire *et al.*, 1986, *Gene* 46: 145; Ner *et al.*, 1988, *DNA* 7: 127).

Phương pháp gây đột biến/xáo trộn trình tự có thể được kết hợp với phương pháp sàng lọc tự động, lưu lượng cao để phát hiện hoạt tính của các polypeptit được tách dòng, được gây đột biến được biểu hiện bởi tế bào chủ (Ness *et al.*, 1999, *Nature Biotechnology* 17: 893-896). Phân tử ADN được gây đột biến mà mã hóa cho polypeptit hoạt tính có thể được thu hồi từ tế bào chủ và được xác định trình tự nhanh chóng bằng cách sử dụng phương pháp tiêu chuẩn trong lĩnh vực. Các phương pháp này cho phép xác định nhanh chóng mức độ quan trọng của gốc axit amin cụ thể trong polypeptit.

Tốt hơn là, tổng số sự thế, sự mất và/hoặc sự cài xen axit amin của polypeptit nêu trong SEQ ID NO: 1 không lớn hơn 10, ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 hoặc 9.

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

Polypeptit có thể là polypeptit dung hợp hoặc polypeptit dung hợp có thể phân cắt được trong đó polypeptit khác được dung hợp ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của polypeptit theo sáng chế. Polypeptit dung hợp được tạo ra bằng cách dung hợp polynucleotit mã hóa cho polypeptit khác với polynucleotit theo sáng chế. Các kỹ thuật để tạo ra polypeptit dung hợp đã được biết đến trong lĩnh vực, và bao gồm kỹ thuật nối các trình tự mã hóa mã hóa cho các polypeptit sao cho chúng nằm trong khung và sự biểu hiện của polypeptit dung hợp chịu sự kiểm soát của cùng (các) vùng khởi động và vùng kết thúc. Protein dung hợp cũng có thể được tạo cấu trúc bằng cách sử dụng công nghệ intein trong đó sự dung hợp được tạo ra sau dịch mã (Cooper *et al.*, 1993, *EMBO J.* 12: 2575-2583; Dawson *et al.*, 1994, *Science* 266: 776-779).

Polypeptit dung hợp có thể còn chứa vị trí phân cắt giữa hai polypeptit. Khi tách protein dung hợp tách ra, vị trí này được cắt ra giải phóng ra hai polypeptit. Ví dụ về vị trí phân cắt bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các vị trí được bộc lộ 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; and 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, and Genetics* 6: 240-248; and Stevens, 2003, *Drug Discovery World* 4: 35-48.

Chất hoạt động bề mặt

Chế phẩm và phương pháp theo sáng chế có chứa pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B:

cấu trúc hóa học A: $R-(CH_2)_m-Y-(CH_2CH_2O)_n-H$,

trong đó Y là $-CO-O-$ và R được chọn từ nhóm gồm có $-H$, $-CH_3$, $-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-CH_3$, $-CH_2-(CH_3)_2$; hoặc Y là $-CH_2-$, và R là $-CH_2-(CH_3)_2$; $6 \leq m \leq 14$ và $1 \leq n \leq 18$;

cấu trúc hóa học B: $H_3C-(CH_2)_f-C(SO_3Na)H-(CH_2)_e-CH_3$,

trong đó $f + e = 11-14$.

Theo phương án khác, chế phẩm hoặc phương pháp theo sáng chế còn chứa chất hoạt động bề mặt khác được chọn từ các chất hoạt động bề mặt không ion và/hoặc anion và/hoặc cation và/hoặc lưỡng tính và/hoặc ion lưỡng tính và/hoặc bán cực.

Theo phương án khác, chế phẩm hoặc phương pháp theo sáng chế còn chứa SAP (Đioctyl natri sulfosuxinat).

Hệ thống được ưu tiên để được sử dụng theo sáng chế có chứa dưới dạng chất hoạt động bề mặt một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt không ion và/hoặc anion được mô tả trong bản mô tả này.

Chất ngưng tụ polyetylen, polypropylen, và polybutylen oxit của alkyl phenol là thích hợp để sử dụng làm chất hoạt động bề mặt không ion của hệ thống chất hoạt động bề mặt theo sáng chế, trong đó chất ngưng tụ polyetylen oxit được ưu tiên. Sản phẩm ngưng tụ của rượu béo bậc một và bậc hai có từ khoảng 1 đến khoảng 25 mol etylen oxit là thích hợp để sử dụng làm chất hoạt động bề mặt không ion của hệ thống chất hoạt động bề mặt không ion theo sáng chế. Cũng hữu dụng để làm chất hoạt động bề mặt không ion của hệ thống chất hoạt động bề mặt theo sáng chế là alkylpolysacarit được bộc lộ trong US 4,565,647. Sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với bazơ kỵ nước được tạo thành bởi sự ngưng tụ của propylen oxit với propylen glycol cũng thích hợp để sử dụng làm hệ thống chất hoạt động bề mặt không ion bổ sung theo sáng chế. Cũng thích hợp để sử dụng làm chất hoạt động bề mặt không ion của hệ thống chất hoạt động bề mặt không ion theo sáng chế, là sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với sản phẩm của phản ứng của propylen oxit và etylendiamin.

Chất hoạt động bề mặt anion được ưu tiên hơn bao gồm chất hoạt động bề mặt alkyl alkoxylat sulfat và este phosphat tương tự. Chất hoạt động bề mặt anion thích hợp để được sử dụng là chất hoạt động bề mặt este alkyl sulfonat bao gồm este mạch thẳng của axit C8-C20 carboxylic (tức là, axit béo) mà được sulfonat hóa bằng SO_3 thể khí theo "The Journal of the American Oil Chemists Society", 52 (1975), pp. 323-329. Chất hoạt động bề mặt anion khác hữu dụng cho mục đích làm sạch vải dệt cũng có thể được bao gồm trong các chế phẩm trong nước theo sáng chế. Chế phẩm trong nước theo sáng chế cũng có thể chứa chất hoạt động bề mặt cation, lưỡng tính, ion lưỡng

tính, và bán cực, cũng như là chất hoạt động bề mặt không ion và/hoặc anion không phải là chất hoạt động bề mặt đã được mô tả trong bản mô tả này.

Theo một số phương án của sáng chế, chế phẩm để sản xuất vải dệt còn chứa thành phần khác, bao gồm nhưng không giới hạn ở enzym bổ sung, cũng như là chất tẩy trắng, chất chống tạo bọt, hệ xây dựng, và chất tương tự, mà làm tăng cường quy trình làm sạch và/hoặc mang lại hiệu quả vượt trội đối với, ví dụ, khả năng tẩy trắng, sức bền, khả năng chống nhăn, độ hấp thụ nước, và khả năng nhuộm màu được.

Vải dệt

Như được dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "vải dệt" dùng để chỉ sợi, sợi dệt, vải (ví dụ, dệt, không dệt hoặc đan), và hàng may mặc. Thuật ngữ này bao hàm vải dệt được làm từ hỗn hợp tự nhiên, tổng hợp (ví dụ, được sản xuất), và các hỗn hợp tự nhiên và tổng hợp khác nhau. Vải dệt có thể là sợi, sợi dệt, vải dệt hoặc đan, không dệt, và hàng may mặc không được xử lý hoặc được xử lý và có thể được tạo ra bằng cách sử dụng nhiều loại nguyên liệu, một số trong số đó được đề cập đến trong bản mô tả này.

Quy trình theo sáng chế được áp dụng có lợi nhất cho vải dệt chứa xenluloza, bao gồm vải, chẳng hạn như cotton, vitcô, tơ nhân tạo, vải gai, vải lanh, Tencel, hoặc hỗn hợp của chúng, hoặc hỗn hợp của các sợi bất kỳ trong số các sợi này, hoặc hỗn hợp của các sợi bất kỳ trong số các sợi này cùng với sợi tổng hợp chẳng hạn như hỗn hợp của cotton và spandex (vải cotton chéo căng).

Tốt hơn là, vải dệt theo sáng chế được làm từ xenluloza tinh khiết hoặc được làm từ hỗn hợp pha trộn của sợi xenluloza và nguyên liệu khác bất kỳ thường được sử dụng để sản xuất vải dệt chẳng hạn như poly (etylen terephtalat), len, và lụa.

Theo phương án được ưu tiên vải dệt chứa xenluloza là hỗn hợp pha trộn vải dệt có chứa nhiều hơn 30% (khối lượng/khối lượng) xenluloza, cụ thể là nhiều hơn 35%, nhiều hơn 50%, nhiều hơn 65%, nhiều hơn 90%, hoặc nhiều hơn 95% xenluloza. Theo phương án được ưu tiên hơn, quy trình theo sáng chế được áp dụng cho vải dệt về cơ bản chứa xenluloza, tức là vải dệt xenluloza tinh khiết, chẳng hạn như vải dệt cotton tinh khiết. Cụ thể là, vải là vải không nhuộm.

Enzym bổ sung

Sẽ tốt hơn khi một hoặc nhiều xenlulaza, amylaza, lipaza, mannanaza, xylanaza, proteaza, oxidaza, catalaza, cutinaza hoặc enzym khác được đề cập, trong bản mô tả này, có thể được sử dụng dưới dạng enzym bổ sung trong các chế phẩm và phương pháp này. Ngoài ra, số lượng bất kỳ của enzym bổ sung (hoặc hệ thống enzym) có thể được kết hợp với các chế phẩm và phương pháp này mà không nằm ngoài tinh thần của sáng chế.

Proteaza

Theo phương án được ưu tiên, proteaza được sử dụng trong sáng chế. Proteaza thích hợp bao gồm các proteaza có nguồn gốc động vật, thực vật hoặc vi khuẩn. Nguồn gốc vi khuẩn được ưu tiên. Các thể đột biến được cải biến hóa học hoặc được thiết kế protein được bao gồm. Proteaza có thể là ví dụ kim loại proteaza (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), cụ thể là subtilisin được tạo dẫn xuất 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.

Enzym proteaza có trên thị trường được ưu tiên bao gồm Alcalase[®], Savinase[®], Primase[®], Duralase[®], Esperase[®], và Kannase[®] (Novozymes A/S), Maxatase[®], Maxacal[®], Maxapem[®], Properase[®], Purafectg<1808[®], Purafect OxP[®], FN2[™], và FN3[™] (của hãng Danisco A/S).

Lipaza

Theo các phương án khác của sáng chế, lipaza được sử dụng trong sáng chế. Các lipaza thích hợp bao gồm các lipaza có nguồn gốc vi khuẩn hoặc nấm. Các thể đột biến được cải biến về mặt hóa học hoặc di truyền của các lipaza này được bao gồm trong thuật ngữ này. Lipaza có thể là, ví dụ triaxylglycerol lipaza (EC3.1.1.3), phospholipaza A2 (EC 3.1.1.4), Lysophospholipaza (EC 3.1.1.5), Monoglycerit lipaza (EC 3.1.1.23), galactolipaza (EC 3.1.1.26), phospholipaza A1 (EC 3.1.1.32), Lipoprotein lipaza (EC 3.1.1.34). Ví dụ về lipaza hữu dụng bao gồm lipaza *Humicola*

lanuginosa, ví dụ, như được mô tả trong EP 258 068 và EP 305 216; lipaza <1867*Rhizomucor miehei*, ví dụ, như được mô tả trong EP 238 023 hoặc từ *H. insolens* như được mô tả trong WO 96/13580; lipaza <1891*Candida*, chẳng hạn như lipaza <1897*C. antarctica*, ví dụ, lipaza *C. antarctica* A hoặc B được mô tả trong EP 214 761; lipaza *Pseudomonas*, chẳng hạn như một trong số các chất được mô tả trong EP 721 981 (ví dụ, lipaza có thể thu được từ chủng *Pseudomonas* sp. SD705 có mã số truy cập nộp lưu FERM BP-4772), trong PCT/JP96/00426, trong PCT/JP96/00454 (ví dụ, *P. solanacearum* lipaza), trong EP 571 982 hoặc trong WO 95/14783 (ví dụ, lipaza </1945 *P. mendocina*), lipaza <1957*P. alcaligenes* hoặc *P. pseudoalcaligenes*, ví dụ, như được mô tả trong EP 218 272, lipaza <1975*P. cepacia*, ví dụ, như được mô tả trong EP 331 376, lipaza <1987*P. stutzeri*, ví dụ, như được bộc lộ trong GB 1,372,034, hoặc lipaza <1999*P. fluorescens*; lipaza *Bacillus*, ví dụ, lipaza *B. subtilis* (Dartois et al. (1993) Biochemica et Biophysica Acta 1131:253-260), lipaza *B. stearothermophilus* (JP 64/744992) và lipaza *B. pumilus* (WO 91/16422).

Các lipaza có trên thị trường thích hợp bao gồm Lipex[®], Lipolase[®] và Lipolase Ultra[®], Lipolex[®], Lipoclean[®] (của hãng Novozymes A/S), M1 lipaza[™] và Lipomax[™] (của hãng Danisco A/S) và lipaza P "Amano" (của hãng Amano Pharmaceutical Co. Ltd.).

Amylaza

Theo các phương án khác, amylaza được sử dụng trong sáng chế. Amylaza bao gồm ví dụ, alpha-amylaza (EC 3.2.1.1), beta-amylaza (EC 3.2.1.2) và/hoặc glucoamylaza (EC 3.2.1.3) có nguồn gốc vi khuẩn hoặc nấm. Các thể đột biến được cải biến về mặt hóa học hoặc di truyền của các amylaza này được bao gồm trong thuật ngữ này. Alpha-amylaza được ưu tiên theo sáng chế. Các alpha-amylaza liên quan bao gồm, ví dụ, α -amylaza có thể thu được từ các loài *Bacillus*, cụ thể là chủng cụ thể *B. licheniformis*, được mô tả chi tiết hơn trong GB 1296839.

Các ví dụ khác về amylaza hữu dụng là alpha-amylaza có nguồn gốc từ *Bacillus* sp.; alpha-amylaza AA560 có nguồn gốc từ *Bacillus* sp. DSM 12649 được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 2 trong WO 00/60060 và các biến thể của alpha-amylaza AA560, bao gồm biến thể AA560 được bộc lộ trong Ví dụ 7 và 8.

Amylaza có trên thị trường thích hợp bao gồm Natalase[®], Stainzyme[®], Duramyl[®], Termamyl[®], Termamyl[™] Ultra, Fungamyl[®] và BAN[®] (tất cả đều là của hãng Novozymes A/S, Bagsvaerd, Đan Mạch), và Rapidase[®] và Maxamyl[®] P (của hãng DSM, Hà Lan) và Purastar[®], Purastar OxAm và Powerase[™] (của hãng Danisco A/S).

Các amylaza hữu dụng khác là CGTaza (xyclodextrin glucanotransferaza, EC 2.4.1.19), ví dụ, các CGTaza có thể thu được từ các loài *Bacillus*, *Thermoanaerobactor* hoặc *Thermoanaerobacterium*.

Hemixenlulaza

Theo các phương án khác, hemixenlulaza được sử dụng trong sáng chế. Hemixenluloza là nhóm phức tạp nhất của các polysacarit không phải tinh bột trong thành tế bào thực vật. Chúng có chứa các polyme xyloza, arabinoza, galactoza, mannoza và/hoặc glucoza mà thường phân nhánh nhiều và được nối với các cấu trúc thành tế bào khác. Do đó, hemixenlulaza theo sáng chế bao gồm enzym có hoạt tính phân giải xylanoza, hoạt tính phân giải arabinoza, hoạt tính phân giải galactoza và/hoặc hoạt tính phân giải mannoza. Hemi-xenlulaza theo sáng chế ví dụ có thể được chọn từ xylanaza (EC 3.2.1.8, EC 3.2.1.32, và EC 3.2.1.136), xyloglucanaza (EC 3.2.1.4 và EC 3.2.1.151), arabinofuranosidaza (EC 3.2.1.55), axetylxytan esteraza (EC 3.1.1.72), glucuronidaza (EC 3.2.1.31, EC 3.2.1.56, 3.2.1.128 và 3.2.1.139), glucanohydrolaza (EC 3.2.1.11, EC 3.2.1.83 và EC 3.2.1.73), axit ferulic esteraza (EC 3.1.1.73), axit coumaric esteraza (EC 3.1.1.73), mannanaza (EC 3.2.1.25; EC 3.2.1.78 và EC 3.2.1.101), arabinosidaza (EC 3.2.1.88), arabinanaza (EC 3.2.1.99), galactanaza (EC 3.2.1.89, EC 3.2.1.23 và 3.2.1.164) và lichenaza (EC 3.2.1.73). Tuy nhiên, đây không được coi là danh mục bao quát hết mọi khía cạnh.

Mannananaza là hemixenlulaza được ưu tiên theo sáng chế. Mannanaza thủy phân các polyme sinh học được tạo thành từ galactomannan. Thuốc nhuộm chứa mannan thường có chứa gồm guar và gồm locust bean, mà được sử dụng rộng rãi dưới dạng chất làm ổn định trong thực phẩm và mỹ phẩm. Các mannanaza thích hợp bao gồm các mannanaza có nguồn gốc vi khuẩn hoặc nấm. Các thể đột biến được cải biến về mặt hóa học hoặc di truyền được bao gồm. Theo phương án được ưu tiên

mannanaza có nguồn gốc từ chủng thuộc chi *Bacillus*, cụ thể là *Bacillus* sp. I633 được bộc lộ ở các vị trí 31-330 nêu trong SEQ ID NO:2 hoặc trong SEQ ID NO: 5 của WO 99/64619 hoặc *Bacillus agaradhaerens*, ví dụ từ chủng loại DSM 8721. Mannanaza có trên thị trường thích hợp là Mannaway[®] được sản xuất bởi Novozymes A/S Đan Mạch hoặc Purabrite[™] được sản xuất bởi Dupont Mỹ.

Xylanaza là hemixenlulaza được ưu tiên theo sáng chế. Xylanaza có trên thị trường thích hợp là Pulpzyme[®] HC (của hãng Novozymes A/S).

Xenlulaza

Chế phẩm và phương pháp theo sáng chế có thể còn bao gồm xenlulaza được xác định trong sáng chế. Trong ngữ cảnh này, thuật ngữ "xenlulaza" hoặc "enzym phân giải xenluloza" dùng để chỉ enzym mà xúc tác cho sự thoái hóa của xenluloza thành glucoza, xenlobioza, trioza và các xenlo-oligosacarit khác mà enzym được hiểu là bao gồm protein trưởng thành hoặc dạng tiền chất của chúng hoặc mảnh chức năng của chúng, ví dụ, khối có hoạt tính xúc tác, mà về cơ bản có hoạt tính của enzym nguyên chiều dài. Ngoài ra, thuật ngữ enzym "phân giải xenluloza" được dự định là bao gồm chất tương đồng hoặc chất tương tự của enzym này. Các xenlulaza thích hợp bao gồm các xenlulaza có nguồn gốc động vật, thực vật hoặc vi khuẩn. Nguồn gốc vi khuẩn được ưu tiên. Enzym phân giải xenluloza có thể là thành phần có trong hệ thống xenlulaza được sản xuất bởi vi sinh vật nhất định, hệ thống xenlulaza này chủ yếu bao gồm một vài thành phần enzym xenlulaza khác nhau bao gồm các thành phần thường được xác định dưới dạng, ví dụ, xenlobiohydrolaza, endoglucanaza, và beta-glucosidaza. Theo phương án được ưu tiên xenlulaza là endoglucanaza.

Ví dụ về sản phẩm enzym xenlulaza có trên thị trường hữu dụng trong phương pháp theo sáng chế là: Cellusoft CR[®], Cellusoft L[®], Novoprime A 378[®] (tất cả đều là của hãng Novozymes A/S, Đan Mạch); Indiage[™], Primafast[™] (cả hai đều là của công ty Dupont, Mỹ); Ecostone[™] (của hãng Alko, Phần Lan); Rocksoft[™] (của hãng CPN, Mỹ), và Sanko Bio[™] (của hãng Meiji/Rakuto Kasei Ltd., Nhật Bản).

Quy trình sản xuất vải dệt

Việc xử lý vải, chẳng hạn như nguyên liệu xenluloza, thành nguyên liệu sẵn sàng để sản xuất hàng may mặc bao gồm một vài bước: xe sợi thành sợi dệt; tạo cấu trúc vải dệt hoặc đan từ sợi dệt; và các quy trình điều chế tiếp theo, các công đoạn nhuộm màu/in và hoàn thiện. Các quy trình điều chế cần phải loại bỏ các tạp chất tự nhiên và do con người gây ra ra khỏi sợi và để cải thiện bề ngoài thẩm mỹ và tình trạng có thể xử lý của chúng trước khi ví dụ nhuộm màu/in và hoàn thiện. Các quy trình điều chế thông thường bao gồm bước rũ hồ (đối với sản phẩm dệt), làm sạch, và tẩy trắng, mà tạo ra vải thích hợp để nhuộm màu hoặc hoàn thiện.

Vải dệt được tạo cấu trúc bằng cách dệt sợi "khô" hoặc sợi "ngang" giữa các sợi dọc được kéo căng theo chiều dọc trên khung cửi. Các sợi dọc phải được hồ trước khi dệt để bôi trơn và bảo vệ chúng khỏi bị mài mòn khi cài xen các sợi khô ở tốc độ cao trong quá trình dệt. Chất hồ thông thường là tinh bột (hoặc dẫn xuất tinh bột và tinh bột được cải biến), rượu poly(vinyl), carboxyl methyl xenluloza (tức là CMC) trong đó tinh bột chiếm ưu thế. Parafin, chất liên kết acrylic và nhiều loại chất bôi trơn thường được bao gồm trong hỗn hợp hồ. Các sợi khô có thể được dệt qua các sợi dọc theo mô hình "một lên - một xuống" (dệt trơn) hoặc "một lên - hai xuống" (dệt vân chéo) hoặc vô số các hoán vị khác bất kỳ. Nhìn chung, váy, áo, quần, vật liệu phủ, khăn lau, vải vóc, v.v. được tạo ra từ vải dệt. Sau khi vải được tạo ra, hồ trên vải phải được loại bỏ lại (tức là, rũ hồ).

Đan là việc tạo thành vải bằng cách kết hợp các vòng cài vào nhau của sợi dệt. Trái ngược với việc dệt, mà được tạo cấu trúc từ hai loại sợi dệt và có nhiều "đầu", vải đan được tạo ra từ một sợi đơn liên tục của sợi dệt. Giống như dệt, có nhiều cách khác nhau để vòng sợi dệt cùng nhau và tính chất vải thành phẩm phụ thuộc cả vào sợi dệt và kiểu đan. Đồ lót, áo len dài tay, tất, áo thể thao, áo thấm mồ hôi, v.v. được tạo ra từ vải đan.

Rũ hồ

Rũ hồ là việc làm thoái biến và/hoặc việc loại bỏ hợp chất hồ sợi ra khỏi các sợi dọc trong vải dệt. Tinh bột thường được loại bỏ bằng quy trình rũ hồ bằng enzym. Ngoài ra, rũ hồ oxy hóa và rũ hồ bằng hóa chất bằng axit hoặc bazơ đôi khi được sử dụng.

Theo một số phương án, enzym rũ hồ là enzym phân giải tinh bột, chẳng hạn như alpha-amylaza, beta-amylaza, mannanaza, glucoamylaza, hoặc dạng kết hợp của chúng.

Alpha và beta-amylaza thích hợp bao gồm alpha và beta-amylaza có nguồn gốc vi khuẩn hoặc nấm, cũng như là các thể đột biến được cải biến về mặt hóa học hoặc di truyền và các biến thể của các amylaza này. Alpha-amylaza thích hợp bao gồm alpha-amylaza có thể thu được từ các loài *Bacillus*. Amylaza thương mại thích hợp bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở OPTISIZE® NEXT, OPTISIZE® FLEX và OPTISIZE® COOL (tất cả đều là của công ty Dupont Mỹ), và DURAMYL™, ERMAMYL™, FUNGAMYL™ TERMAMYL™, AQUAZYME™ và BAN™ (tất cả đều là của hãng Novozymes A/S, Bagsvaerd, Đan Mạch).

Các enzym phân giải tinh bột thích hợp khác bao gồm CGTaza (xyclođextrin glucanotransferaza, EC 2.4.1.19), ví dụ, CGTaza thu được từ các loài *Bacillus*, *Thermoanaerobactor* hoặc *Thermoanaero-bacterium*.

Làm sạch

Việc làm sạch được áp dụng để loại bỏ tạp chất ra khỏi sợi, để làm nở sợi và để loại bỏ các mảnh phủ hạt. Đây là một trong các bước có tính quyết định nhất. Mục đích chính của việc làm sạch là để a) làm sạch đồng đều vải, b) làm mềm bụi và các phế phẩm khác, c) cải thiện khả năng hấp thụ của vải, d) xà phòng hóa và làm hòa tan chất béo, dầu, và sáp, và e) giảm thiểu cotton chưa trưởng thành. Sự làm sạch bằng natri hydroxit ở khoảng nhiệt độ sôi là phương pháp xử lý được chấp nhận đối với cotton 100%, trong khi canxi hydroxit và natri cacbonat ít được sử dụng hơn. Sợi tổng hợp được làm sạch ở điều kiện êm dịu hơn nhiều. Chất hoạt động bề mặt và chất chelat hóa có vai trò thiết yếu đối với sự làm sạch bằng kiềm. Sự làm sạch bằng enzym đã được đề xuất, trong đó xenlulaza, hemixenlulaza, pectinaza, lipaza, và proteaza đều được báo cáo là có hiệu quả làm sạch.

Tẩy trắng

Tẩy trắng là sự phá hủy màu nhuộm và/hoặc tạp chất có màu cũng như là loại bỏ mảnh phủ hạt. Tẩy trắng được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp hóa học oxy hóa hoặc khử. Chất oxy hóa có thể được chia nhỏ thêm thành các chất mà sử dụng

hoặc tạo ra: a) hypoclorit (OCl^-), b) clorua đioxit (ClO_2), c) permanganat (MnO_4^-), d) ozon, và các loại hydroperoxit (OOH^- và/hoặc OOH). Chất khử là lưu huỳnh đioxit, muối hydrosulfit thông thường, v.v.. Phương pháp tẩy trắng bằng enzym bằng cách sử dụng glucoza oxidaza hoặc peroxidaza (ví dụ, xem tài liệu WO 2013/040991) đã được báo cáo. Theo truyền thống, hydro peroxit được dùng trong quy trình này.

In và nhuộm màu

In và nhuộm màu vải dệt được thực hiện bằng cách sử dụng thuốc nhuộm cho vải dệt bằng phương pháp thích hợp bất kỳ để liên kết chất nhuộm vào sợi trong vải dệt. Việc nhuộm màu của vải dệt có thể ví dụ được thực hiện bằng cách cho vải đi qua dung dịch thuốc nhuộm đặc, sau đó lưu trữ vải ẩm trong vỏ bọc kín hơi để có thời gian cho sự khuếch tán và phản ứng của thuốc nhuộm với chất nền vải trước khi giữ bỏ thuốc nhuộm chưa phản ứng. Theo cách khác, thuốc nhuộm có thể được cố định bằng cách hấp tiếp vải dệt trước khi giữ. Thuốc nhuộm bao gồm thuốc nhuộm tổng hợp và tự nhiên. Các thuốc nhuộm thông thường là các thuốc nhuộm có nhóm chức anion (ví dụ thuốc nhuộm axit, thuốc nhuộm trực tiếp, thuốc nhuộm Mordant và thuốc nhuộm phản ứng), thuốc nhuộm có nhóm cation (ví dụ thuốc nhuộm bazơ), thuốc nhuộm cần phản ứng hóa học trước khi sử dụng (ví dụ thuốc nhuộm vat, thuốc nhuộm lưu huỳnh và thuốc nhuộm azo), thuốc nhuộm phân tán và thuốc nhuộm dung môi.

Chất nhuộm hòa tan dư không liên kết với sợi phải được loại bỏ sau khi nhuộm màu để đảm bảo tính bền màu của vải dệt được nhuộm và để ngăn chặn việc truyền thuốc nhuộm không mong muốn trong quá trình giặt vải dệt bởi người sử dụng. Nhìn chung, cần lượng lớn nước để loại bỏ hoàn toàn thuốc nhuộm dư. Trong quy trình thông thường, vải dệt được in hoặc được nhuộm trước tiên được giữ bằng nước lạnh, sau đó được giặt ở nhiệt độ cao có bổ sung chất phụ gia thích hợp để làm giảm sự nhuộm màu trở lại, như poly(vinylpyrrolidon) (PVP).

Quy trình enzym để loại bỏ thuốc nhuộm dư ra khỏi vải đã nhuộm bằng chất lỏng giữ có chứa ít nhất một peroxidaza, chất oxy hóa và ít nhất một chất môi giới, chẳng hạn như chất lỏng có chứa peroxidaza, hydro peroxidaza và chất môi giới như 1-hydroxy-benzotriazol được bộc lộ trong WO99/34054.

Đánh bóng sinh học

Như được dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "đánh bóng sinh học", "khử nhăn" và "chống nhăn" được dùng thay thế lẫn nhau.

Hầu hết vải cotton và vải cotton hỗn hợp có vấn đề về cảm giác khi sờ vào bằng tay, cụ thể là khá cứng và rít khi không sử dụng các thành phần hoàn thiện. Bề mặt vải cũng không trơn vì các vi sợi xù nhỏ nhô ra khỏi nó. Ngoài ra, sau thời gian mặc tương đối ngắn, vết nhăn xuất hiện trên bề mặt vải do đó làm cho nó có vẻ không hấp dẫn, bị mòn.

Đánh bóng sinh học là phương pháp xử lý vải xenluloza trong quá trình sản xuất chúng bằng enzym chẳng hạn như xenlulaza, mà làm cải thiện chất lượng vải về vấn đề "sự hình thành vết nhăn giảm". Tác dụng quan trọng nhất của việc đánh bóng sinh học có thể được xác định bởi việc ít xù và nhăn hơn, độ láng/bóng tăng lên, cảm giác khi sờ vào của vải được cải thiện, độ mềm lâu bền tăng lên và/hoặc sự hấp thụ nước được cải thiện. Đánh bóng sinh học thường diễn ra trong quá trình xử lý ướt của việc sản xuất vải hoặc hàng may mặc đan và dệt. Quá trình xử lý ướt bao gồm các bước như ví dụ, rũ hồ, làm sạch, tẩy trắng, rửa, nhuộm/in và hoàn thiện. Đánh bóng sinh học có thể được tiến hành dưới dạng bước riêng rẽ sau bước làm ướt bất kỳ hoặc kết hợp với bước bất kỳ trong số các bước làm ướt này.

Chế phẩm để xử lý vải dệt

Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm để xử lý vải dệt có chứa pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B.

Theo sáng chế, tỷ lệ của pectinaza với chất hoạt động bề mặt có cấu trúc A và/hoặc cấu trúc hóa học B nằm trong khoảng từ khoảng 1:1000 đến khoảng 1:500, tốt hơn là nằm trong khoảng từ khoảng 1:300 đến khoảng 1:500 (khối lượng/khối lượng).

Chế phẩm vải dệt có thể được điều chỉnh cho phù hợp với ứng dụng cụ thể, chẳng hạn như sự làm sạch, mà có thể mang lại ít nhất một trong số các lợi ích của vải dệt chẳng hạn như sự loại bỏ pectin tăng lên, khả năng thấm ướt tăng lên, và giá trị rũ hồ tăng lên khi đo bằng thử nghiệm TEGEWA.

Chế phẩm vải dệt có thể còn bao gồm một hoặc nhiều enzym được chọn từ nhóm gồm có xenulaza, amylaza, lipaza, mannanaza, xylanaza, proteaza, oxidaza, catalaza và cutinaza.

Chế phẩm vải dệt thường có chứa các thành phần thông thường bao gồm nhưng không giới hạn ở enzym khác, cũng như là chất hoạt động bề mặt, chất làm ổn định, chất làm ẩm, chất làm phân tán, chất chống tạo bọt, chất bôi trơn, hệ xây dựng, và chất tương tự, hoặc hỗn hợp của chúng.

Chế phẩm vải dệt có thể ở dạng bất kỳ, chẳng hạn như dạng rắn, dạng lỏng, dạng hồ, gel hoặc dạng kết hợp bất kỳ của chúng. Tốt hơn là, chế phẩm ở dạng lỏng.

Phương pháp theo sáng chế

Theo sáng chế, phương pháp xử lý vải dệt bằng pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B được đề xuất.

Tỷ lệ chất lỏng/vải dệt thích hợp để dùng trong phương pháp này có thể nằm trong khoảng từ khoảng 20:1 đến khoảng 2:1, tốt hơn là nằm trong khoảng từ khoảng 18:1 đến khoảng 4,5:1, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 15:1 đến 4:1 (thể tích/khối lượng ml/g), tốt nhất là nằm trong khoảng từ 10:1 đến 4:1.

Thời gian phản ứng thường nằm trong khoảng từ khoảng 5 phút đến khoảng 2 giờ. Tốt hơn là thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ khoảng 10 phút đến khoảng 60 phút, tốt hơn nữa là thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ khoảng 15 phút đến khoảng 60 phút, thậm chí tốt hơn nữa là trong khoảng từ 15 đến 30 phút.

Quy trình theo sáng chế được thực hiện ở độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến khoảng 10, tốt hơn là ở độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến khoảng 10, tốt hơn nữa là ở độ pH nằm trong khoảng từ 6 đến khoảng 8, thậm chí tốt hơn nữa là ở độ pH từ khoảng 7.

Theo một số phương án, quy trình theo sáng chế được thực hiện ở khoảng giới hạn nhiệt độ 20-90°C, tốt hơn là 30-80°C, tốt hơn nữa là 40-70°C, tốt hơn nữa là 50-60°C.

Liều lượng enzym phụ thuộc nhiều vào thời gian phản ứng enzym và hoạt tính enzym, tức là thời gian phản ứng enzym tương đối ngắn hoặc hoạt tính enzym thấp cần liều lượng enzym tương đối cao, và ngược lại. Nhìn chung, liều lượng enzym có thể được quy định theo thời gian phản ứng có sẵn.

Theo phương án cụ thể, liều lượng của pectinaza nằm trong khoảng từ 0,005 miligam (mg) protein enzym đến khoảng 200 mg protein enzym (của mỗi enzym) cho mỗi gam vải dệt, tốt hơn là từ 0,008 mg protein enzym đến 100 mg protein enzym cho mỗi gam vải dệt, tốt hơn nữa là từ 0,01 mg protein enzym đến 50 mg protein enzym cho mỗi gam vải dệt, tốt hơn nữa là từ 0,01 mg protein enzym đến 1 mg protein enzym cho mỗi gam vải dệt. Cũng như vậy, các hàm lượng này dùng để chỉ hàm lượng của mỗi enzym.

Theo một phương án, liều lượng của enzym bổ sung, nếu có, nằm trong khoảng từ 0,005 miligam (mg) protein enzym đến khoảng 200 mg protein enzym (của mỗi enzym) cho mỗi gam vải dệt, tốt hơn là từ 0,008 mg protein enzym đến 100 mg protein enzym cho mỗi gam vải dệt, tốt hơn nữa là từ 0,01 mg protein enzym đến 50 mg protein enzym cho mỗi gam vải dệt, tốt hơn nữa là từ 0,01 mg protein enzym đến 1 mg protein enzym cho mỗi gam vải dệt. Cũng như vậy, các hàm lượng này dùng để chỉ hàm lượng của mỗi enzym.

Theo sáng chế, chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01mM đến 100mM, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1mM đến 50mM, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,5mM đến 20mM, và thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1mM đến 10mM.

Trong quy trình theo sáng chế, pectinaza có thể được dùng một mình hoặc cùng với enzym bổ sung. Thuật ngữ "enzym bổ sung" có nghĩa là ít nhất một enzym bổ sung, ví dụ một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười hoặc thậm chí nhiều hơn enzym bổ sung.

Thuật ngữ "được dùng cùng với" (hoặc "được sử dụng cùng với") có nghĩa là enzym bổ sung có thể được dùng trong cùng một bước, hoặc trong bước khác của quy trình theo sáng chế. Bước quy trình khác này có thể là ngược chiều hoặc xuôi chiều

trong quy trình sản xuất vải dệt, so với bước trong đó vải dệt được xử lý bằng pectinaza.

Theo các phương án cụ thể enzym bổ sung là enzym mà có xenlulaza, amylaza, lipaza, mannanaza, xylanaza, proteaza, oxidaza, catalaza, cutinaza hoặc enzym khác được đề cập. Theo phương án được ưu tiên, enzym bổ sung là xenlulaza.

Theo một số phương án, phương pháp xử lý vải dệt bao gồm các bước (a) rũ hồ vải dệt; (b) làm sạch vải dệt bằng pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B. Theo một số phương án, giữa bước (a) và bước (b) có bước giặt. Theo một số phương án, bước (a) và bước (b) được thực hiện trong một bể đơn lẻ mà không đan xen các bước rửa. Theo một số phương án, bước (a) và bước (b) được thực hiện tuần tự hoặc đồng thời trong cùng một bể. Theo một số phương án, bước (a) và bước (b) được thực hiện tuần tự trong một bể đơn lẻ, trong đó bước (a) được thực hiện trước bước (b).

Sáng chế được mô tả thêm bằng các ví dụ sau đây mà không được hiểu là làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Nguyên liệu & Phương pháp

Enzym:

Pectinaza-A: peptit trưởng thành của pectat lyaza *Bacillus licheniformis* có SEQ ID NO: 1 (được mô tả trong US 6187580)

Xenlulaza-C: xenlulaza *Thielavia terrestris* có SEQ ID NO: 2 (được mô tả trong WO98/12307)

Aquazyme SD-L: sản phẩm amylaza có trên thị trường của hãng Novozymes A/S.

Hóa chất:

Leophen FR-M: chất hoạt động bề mặt có trên thị trường của công ty BASF.

Kieralon® Wash F-OLB Conc (viết tắt là F-OLB): chất hoạt động bề mặt có trên thị trường của công ty BASF.

Prestogen® PL: Chất làm ổn định H_2O_2 , có trên thị trường của công ty BASF.

SAP (Đioctyl natri sulfosuxinat): chất hoạt động bề mặt anion có trên thị trường của Jiangsu Haian Petrochemical Plant, Trung Quốc.

SAS60 (Alkan Sulfonat Bậc hai): chất hoạt động bề mặt anion có trên thị trường của công ty BASF.

X-NF: chất hoạt động bề mặt có trên thị trường của công ty Zhanfeng chemicals.

FMFD: chất hoạt động bề mặt có trên thị trường của công ty Zhanfeng chemicals.

Chất hoạt động bề mặt:

Bảng 1

Cấu trúc hóa học A: $R-(CH_2)_m-Y-(CH_2CH_2O)_n-H$									
Chất hoạt động bề mặt	IPE1305	IPE1306	IPE1308	IPE1310	IPE1312	DGM	TGM	HGM	OGM
m=	9								
n=	5	6	8	10	12	2	4	6	8
Y=	$-CH_2-$					$-CO-O-$			
R=	$-CH-(CH_3)_2$					$-CH_3$			

Bảng 2

Cấu trúc hóa học B: $H_3C-(CH_2)_f-C(SO_3Na)H-(CH_2)_e-CH_3$	
Tên hóa học	SAS60 (Alkan Sulfonat Bậc hai)
f + e =	11-14

Đo khả năng thấm ướt

Thời gian thấm ướt (đối với vải dệt và đan): giá trị thời gian thấm ướt nhỏ hơn tương ứng với khả năng thấm ướt tốt hơn.

1) Chuẩn bị mẫu thử nghiệm có kích thước thích hợp bằng 70 mm x 70 mm. Tránh các chỗ bị nhàu hoặc bị cuộn gấp trên vải. Sau khi tiếp nhận, xử lý vải càng ít càng tốt và không cuộn đột ngột, là hoặc xử lý nó theo bất kỳ cách nào. Trừ khi được tán thành theo cách khác (ví dụ không đủ vải) lấy ba mẫu thử nghiệm từ các vị trí khác nhau của vải để đại diện cho nó càng đầy đủ càng tốt.

2) Làm đầy pipet bằng nước khử khoáng.

3) Đặt mẫu thử nghiệm ở vị trí nằm ngang trên cốc bệse.

4) Cho 100 μ l nước rơi từ pipet lên trên mẫu thử nghiệm và khởi động đồng hồ bấm giây vào lúc này.

5) Khi sự phản xạ khuếch tán từ dịch lỏng biến mất và không còn nhìn thấy được dịch lỏng ở bên trên bề mặt của vải, dừng đồng hồ và ghi lại thời gian vào sổ thí nghiệm.

Cần phải cẩn thận để không làm dịch chuyển mẫu thử nghiệm trong suốt thời gian này.

Thử nghiệm này cần được thực hiện ít nhất 3 lần ở các khu vực khác nhau (và cũng có thể là các mẫu thử nghiệm khác nhau). Tuy nhiên, cần đảm bảo rằng không có khu vực thử nghiệm nào có tâm gần hơn 25 mm so với tâm của khu vực bất kỳ đã được thử nghiệm trước đó.

Giá trị mao dẫn (Đối với vải dệt): giá trị mao dẫn càng lớn tương ứng với khả năng thấm ướt càng tốt.

1) Làm đầy cốc bệse khoảng một nửa (ít nhất 5 cm trên đáy cốc).

2) Đặt phía trên của mẫu vải (hoặc sợi dệt) vào tâm của kẹp đo nhiệt độ, sao cho đường giới hạn nằm ở đáy của kẹp.

3) Điều chỉnh kẹp cho đến khi bề mặt của dung dịch thuốc nhuộm ngang bằng với đường giới hạn ở đáy của vải (hoặc sợi dệt). Khởi động thiết bị bấm giờ ngay khi mẫu vải vào đúng vị trí.

4) Đo chiều cao mà dung dịch thuốc nhuộm mao dẫn lên từ bề mặt của dung dịch thuốc nhuộm sau 30 phút và ghi lại chiều cao này.

5) Lặp lại thử nghiệm 2 lần đối với mỗi xử lý theo mỗi hướng, khi việc cấp vải cho phép.

6) Kết quả mao dẫn trung bình đối với các mẫu từ cùng một xử lý.

7) Ghi lại tất cả các kết quả thử nghiệm trong sổ thí nghiệm.

Thời gian thấm ướt (đối với sợi dệt): lượng sợi dệt nhất định được đưa vào trong cốc nước. Thời gian để lắng của sợi dệt được ghi lại dưới dạng thời gian thấm ướt.

Đo TEGEWA (Đối với vải dệt)

Phương pháp xếp loại TEGEWA để thử nghiệm tốc độ rũ hồ vải, giá trị TEGEWA càng lớn tương ứng với tốc độ rũ hồ càng cao.

1) Điều chế dung dịch iot

Hòa tan 10 g kali iodua trong 100 ml nước, bổ sung 0,65 g iot và lắc để hòa tan hoàn toàn, đổ nước vào đến 800 ml và sau đó đổ ethanol để lên đến 1 lít.

2) Điều chế mẫu

Cắt vải bằng máy cắt. Cần hai mẫu cho mỗi vải.

3) Quy trình thử nghiệm

Đề mẫu vải 1 phút trong dung dịch iot, giữ 20 giây bằng nước lạnh, vỗ nhẹ bằng giấy lọc (không chứa tinh bột) và so sánh ngay lập tức với thang đo màu tím.

4) Ghi lại kết quả theo kế hoạch nghiên cứu, và thử nghiệm mẫu khác theo bước 3.

Đo độ trắng

Độ trắng của mẫu vải được tẩy trắng được đo bằng quang phổ kế datacolor SF450X.

Hàm lượng Protein

Protein enzym trong sản phẩm enzym có thể được đo bằng bộ Kit Thử nghiệm Protein BCATM (sản phẩm số 23225, có trên thị trường của hãng Thermo Fisher Scientific Inc.) theo sổ tay sản phẩm.

Ví dụ 1: Xác định hoạt tính pectinaza

Phương pháp sau đây được sử dụng để xác định hoạt tính enzym pectinaza.

1. Thử nghiệm Pectinaza:

Đối với thử nghiệm này, điều chế dung dịch natri polygalacturonat 0,1% (Sigma P-1879) trong chất đệm glyxin 0,1M, độ pH = 10. Ủ trước 4 ml dung dịch này trong thời gian 5 phút ở nhiệt độ 40°C. Sau đó, bổ sung 250 µl enzym (hoặc dịch pha loãng enzym), sau đó trộn phản ứng trong thời gian 10 giây trên máy trộn ở tốc độ cao nhất và ủ trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 40°C hoặc ở nhiệt độ khác, sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 235 nm bằng cách sử dụng cuvet dung tích 0,5 ml có đường dẫn ánh sáng 1 cm trên mảng điốt HP trong dụng cụ giữ cuvet được kiểm soát nhiệt độ có sự đo liên tục của độ hấp thụ ở bước sóng 235 nm. Đối với trạng thái ổn định, sử dụng sự tăng tuyến tính trong ít nhất 200 giây để tính tốc độ.

Để tính tốc độ xúc tác, sự tăng lên bằng 5,2 A₂₃₅ trong mỗi phút tương ứng với sự tạo thành của 1 µmol sản phẩm chưa bão hòa (Nasuna et al., *J. Biol. Chem.* 241:5298-5306, 1966; và Bartling et al., *Microbiology*, 141:873-881, 1995).

2. Thử nghiệm Aga:

Có thể đo hoạt tính pectat lyaza bằng cách cho dung dịch thử nghiệm vào các lỗ 4 mm được đục trong đĩa aga (chẳng hạn như, ví dụ, aga LB), có chứa natri polygalacturonat 0,7% khối lượng/thể tích (Sigma P 1879). Sau đó ủ các đĩa trong thời gian 6 giờ ở nhiệt độ cụ thể (chẳng hạn như, ví dụ, 75°C). Sau đó ngâm các đĩa trong (i) CaCl₂ 1M trong thời gian 0,5 giờ hoặc (ii) alkyl trimetylamoni Br hỗn hợp 1% (MTAB, Sigma M-7635) trong thời gian 1 giờ. Cả hai quy trình này đều gây ra sự kết tủa của polygalacturonat trong aga. Hoạt tính pectat lyaza có thể được phát hiện bởi sự xuất hiện của vùng trong ở trong nền của polygalacturonat kết tủa. Độ nhạy của thử nghiệm được hiệu chuẩn bằng cách sử dụng dịch pha loãng của chế phẩm tiêu chuẩn của pectat lyaza.

Pectat lyaza-A dùng trong các ví dụ theo sáng chế thể hiện các vùng trong theo thử nghiệm aga nêu trên, mà có nghĩa là nó có hoạt tính pectat lyaza.

Ví dụ 2: Sự làm sạch sinh học trên vải đan bằng cách sử dụng các chất hoạt động bề mặt khác nhau

Vải đan: 36S (S thể hiện số đếm của sợi dệt dệt thành vải đan, số đếm càng cao thể hiện chất lượng vải càng cao)

Cắt vải đan thành 25 cm x 25 cm và cân.

Tỷ lệ chất lỏng: 10:1

Quy trình làm sạch sinh học:

Bổ sung 90 ml H₂O vào ống Lab-O-Mat 200 ml và bổ sung chất hoạt động bề mặt và enzyme theo Bảng 3, dựa trên phép tính về khối lượng vải thật sự, để có tổng thể tích vào khoảng 100 ml, mà sẽ tạo ra tỷ lệ dịch lỏng so với vải bằng 10:1 (thể tích/khối lượng, ml/g). Sau đó, đặt vải đã được chuẩn bị vào dịch lỏng phản ứng và trộn. Khi kết thúc bước nêu trên, cố định tất cả các ống vào Lab-O-Mat và đặt quy trình ở 55°C trong thời gian 15 phút và sau đó là 80°C trong thời gian 10 phút. Ngay khi kết thúc quy trình trên, lấy tất cả các ống ra và giữ mỗi mẫu ở nước chảy ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 30 giây. Cụ thể là, mỗi mẫu được giữ riêng rẽ. Sấy tất cả các mẫu vải ở nhiệt độ 105°C trong thời gian 30 phút và sau đó đo thời gian thấm ướt như đã mô tả ở trên.

Bảng 3 cho thấy rằng các chất hoạt động bề mặt ete không đồng nhất IPE1305, IPE1306, IPE1308 và IPE1312 có thể mang lại khả năng thấm ướt tốt và thời gian thấm ướt nhỏ hơn 3 giây. Như đối với sản phẩm thương mại Leophen FR-M, mà thường được dùng trên thị trường để sản xuất vải dệt, thời gian thấm ướt cao hơn 3 giây. DGM, TGM, HGM và SAS cũng mang lại khả năng thấm ướt rất tốt và thời gian thấm ướt của chúng cũng tốt hơn so với sản phẩm thương mại Leophen FR-M. Ngoài ra, IPE1312 kết hợp với SAS60 cũng có thể tạo ra khả năng thấm ướt rất tốt.

Bảng 3 (độ pH: 7,0)

Số	1	2	3	4	5
Nguyên liệu					

Pectinaza-A	1,15 mg protein /l	1,15 mg protein /l	1,15 mg protein /l	1,15 mg protein /l	1,15 mg protein /l
Chất hoạt động bề mặt	IPE1305	IPE1306	IPE1308	IPE1312	Leophen FR- M
	1,5 g/l	1,5 g/l	1,5 g/l	1,5 g/l	1,5 g/l
Kết quả					
Thời gian thấm ướt, (giây)	2,5	2	1,2	1,7	4

Số Nguyên liệu	6	7	8	9	10
Pectinaza-A	1,15 mg protein /l	1,15 mg protein /l	1,15 mg protein /l	1,15 mg protein /l	1,15 mg protein /l
Chất hoạt động bề mặt	DGM	TGM	HGM	SAS	IPE1312:SAS (3:1)
	1,5 g/l	1,5 g/l	1,5 g/l	1,5 g/l	Tổng 1,5 g/l
Kết quả					
Thời gian thấm ướt, (giây)	1,9	<1	2,1	<1	<1

Ví dụ 3: Sự làm sạch sinh học trên vải đan bằng pectinaza và chất hoạt động bề mặt

Cắt vải đan thành 25 cm x 25 cm và cân. Tỷ lệ chất lỏng: 10:1

Quy trình làm sạch sinh học: như trong ví dụ 2.

Để nhận dạng mối quan hệ giữa pectinaza và chất hoạt động bề mặt, chúng tôi so sánh thời gian thấm ướt bằng cách sử dụng pectinaza-A hoặc chất hoạt động bề mặt. Từ Bảng 4, có thể rút ra kết luận rằng khi chỉ sử dụng việc xử lý bằng pectinaza-A hoặc chỉ xử lý bằng chất hoạt động bề mặt, cả hai thời gian thấm ướt đều lớn hơn 20 giây. Do đó, cả pectinaza và chất hoạt động bề mặt đều cần thiết cho quy trình làm sạch sinh học.

Bảng 4:

Số Nguyên liệu	1	2	3
Pectinaza-A	1,15 mg protein /l	1,15 mg protein /l	/
Chất hoạt động bề mặt	IPE1312	/	IPE1312
	1,5 g/l	/	1,5 g/l
Kết quả			
Thời gian thấm ướt, giây	1,7	>180	20,5

Ví dụ 4: Xenlulaza làm tăng hiệu suất khả năng thấm ướt trên vải đan

Cắt vải đan thành 25 cm x 25 cm và cân. Tỷ lệ chất lỏng: 10:1

Quy trình làm sạch sinh học: như trong ví dụ 2.

Bảng 5 (độ pH: 7,0)

Số Nguyên liệu	1	2
Pectinaza-A	1,15 mg protein/l	1,15 mg protien/l
Xenlulaza-C	/	2 mg protein /l
Chất hoạt động bề mặt	IPE1306	IPE1306
	1,0 g/l	1,0 g/l
Kết quả		
Thời gian thấm ướt, giây	2,8	1,3

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thử nghiệm tác dụng của xenlulaza lên sự làm sạch sinh học. Kết quả trên cho thấy rằng nếu bổ sung xenlulaza trong quy trình

làm sạch sinh học cùng với pectinaza và chất hoạt động bề mặt, khả năng thẩm ướt có thể được cải thiện nhiều. Do đó, rút ra kết luận rằng xenlulaza có tác dụng đầy mạnh đối với sự cải thiện khả năng thẩm ướt.

Ví dụ 5: Sự làm sạch sinh học trên ống sợi côn bằng pectinaza/xenlulaza và chất hoạt động bề mặt

Sợi dệt: 32 giây/2 ống sợi côn đã chải. Tỷ lệ chất lỏng: 7:1

Quy trình làm sạch sinh học:

Bổ sung 0,8 g/l chất hoạt động bề mặt và 2,54 mg protein/l pectinaza và 1,35 mg protein/l xenlulaza vào máy nhuộm màu mẫu Gofront Cone. Xử lý sợi dệt 15 phút ở nhiệt độ 55°C, sau đó là 80°C trong thời gian 10 phút, và sau đó giữ sợi dệt bằng cách sử dụng nước lạnh và tháo cạn. Sau đó sợi dệt sẵn sàng để nhuộm màu.

Bằng cách so sánh, phương pháp thông thường để làm sạch sợi dệt được thực hiện, trong đó sợi dệt được ủ với X-NF 1,5 g/l và FMFD 1,5 g/l trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ 100°C, và sau đó xử lý bằng cách giữ nóng và giữ lạnh. Từ Bảng 6, có thể thấy rằng (các) khả năng hấp thụ sau khi làm sạch sinh học bằng pectinaza-A, xenlulaza C và chất hoạt động bề mặt là tốt hơn so với (các) khả năng hấp thụ sau khi làm sạch bằng quy trình thông thường.

Bảng 6 (độ pH: 7,4-7,6)

Phương pháp Nguyên liệu	Quy trình thông thường	Quy trình làm sạch sinh học
Pectinaza-A	/	2,54 mg protein/l
Xenlulaza-C	/	1,35 mg protein /l
Chất hoạt động bề mặt	X-NF: 1,5 g/l	IPE1310
	FMFD: 1,5 g/l	0,8 g/l
Kết quả		
Thời gian thẩm ướt, (giây)	>180 giây	40-60 giây

Ví dụ 6: Rũ hồ và làm sạch kết hợp bằng cách sử dụng IPE1312 và quy trình SAP trên vải dệt

Vải dệt thô 100% cotton: $20 \times 16/128 \times 60$, có nghĩa là số đếm của sợi dọc và sợi ngang là 20 và 16, và mật độ của sợi dọc và sợi ngang là 128 và 60 (số đếm càng lớn tương ứng với chất lượng vải càng cao). Vải dệt thô của hãng Hebei Ningfang Group, Trung Quốc.

Sự tiếp nhận ẩm (WPU): Sự tiếp nhận ẩm là tỷ lệ phần trăm dung dịch độn và thường được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ phần trăm trên khối lượng của vải chưa xử lý khô.

Quy trình trên vải dệt:

Vải dệt thô dùng trong nghiên cứu này là $20 \times 16/128 \times 60$ và 100% cotton. Trước tiên, điều chế 50 ml dung dịch độn có chứa pectinaza, amylaza, xenlulaza và chất hoạt động bề mặt của mỗi mẫu vải như trong Bảng 7 dưới đây và sau đó cho một miếng vải dệt khoảng 15 g ($25 \text{ cm} \times 25 \text{ cm}$) vào trong cốc bệse dung dịch độn và ngâm tẩm. Sự tiếp nhận ẩm (WPU) bằng 70%. Sau đó, lưu giữ tất cả các mẫu vải ở nhiệt độ trong phòng qua đêm (16~20 giờ). Khoảng từ 16 đến 20 giờ sau, giữ tất cả các mẫu trong năm bể giặt theo thứ tự. Nhiệt độ của năm bể giặt là 95°C . Sau khi rũ hồ và làm sạch, tẩy trắng tất cả các mẫu như phương pháp thông thường ngoại trừ tăng gấp đôi liều lượng H_2O_2 từ 5 g/l lên 10 g/l. Công thức pha chế được mô tả trong Bảng 8. Cho tất cả các mẫu vải vào dung dịch tẩy trắng (WPU:30%) và sau đó hấp hơi trong thời gian 30 phút trong buồng hơi. Sau khi tẩy trắng, giữ tất cả các mẫu vải lại bằng cách sử dụng bốn bể giặt bằng nước ở nhiệt độ 95°C . Để loại bỏ hoàn toàn chất hoạt động bề mặt, xử lý mẫu vải bằng cách giặt bằng tay ở nhiệt độ 50°C trong 10 lần và giữ trong Wascator (Electrolux, Thụy Sĩ) hai lần. Quy trình giữ Wascator là 50°C , 10 l nước khử ion trong thời gian 5 phút, và sau đó là 30°C , 10 l nước khử ion trong thời gian 5 phút. Sấy vải ở nhiệt độ 105°C trong thời gian 30 phút.

Bảng 7 (độ pH: 7,0):

Số	1	2	3
Nguyên liệu			

Pectinaza-A	14,4 mg protein/l	14,4 mg protein/l	14,4 mg protein/l
Aquazym SD-L	5 g sản phẩm enzym/l	5 g sản phẩm enzym/l	5 g sản phẩm enzym/l
Xenulaza-C	20mg protein/l	20 mg protein/l	20 mg protein/l
Chất hoạt động bề mặt	80% IPE1312+ 20% SAP	80% OGM+20% SAP	F-OLB
	4 g/l	4 g/l	4 g/l
Giữ			
Tẩy trắng (xem bảng 8)			
Giữ			
Sấy 105°C trong thời gian 30 phút			
Kết quả			
Thời gian thấm ướt, (giây)	<1	<1	<1
Mao dẫn, (cm)	8,3	6,7	6,8
TEGEWA	6	6	5,5
Độ trắng CIE	63,14	62,04	62,39

Bảng 8:

Công thức pha chế tẩy trắng

Hóa chất	Liều lượng, g/l
Peroxit (100%)	10
Prestogen® PL	10
Leophen FR-M	1
NaOH	2

Các tham số khác	
Độ pH	Khoảng 10,5

Nghiên cứu này cho thấy rằng 80% IPE1312 với 20% SAP mang lại giá trị mao dẫn, độ trắng CIE, TEGEWA thích hợp, mà phù hợp với khả năng của máy nghiền. Trong khi đó, so với Kieralon® Wash F-OLB Conc, khả năng thấm ướt của 80% IPE1312 và 20% SAP tốt hơn nhiều.

Ví dụ 7: Rửa hồ và làm sạch sinh học kết hợp

Quy trình: giống như quy trình trong Ví dụ 6.

Bảng 9 (độ pH: 7,0)

Số Nguyên liệu	1	2	3
Pectinaza-A	/	14,4 mg protein/l	14,4 mg protein/l
Aquazym SD-L	5 g sản phẩm enzym/l	5 g sản phẩm enzym/l	5 g sản phẩm enzym/l
Xenlulaza-C	/	/	33,3 mg protein/l
Chất hoạt động bề mặt	70% IPE1312+ 30% SAP	70% IPE1312+30% SAP	70% IPE1312+30% SAP
	5 g/l	5 g/l	5 g/l
Giữ			
Tẩy trắng			
Giữ			
Sấy 105°C trong thời gian 30 phút			
Kết quả			
Thời gian thấm ướt, giây	2,5	<1	<1

Mao dẫn, cm	3,7	5,95	6,95
TEGEWA	5,5	5,5	5,5
Độ trắng CIE	60,66	63,31	62,89

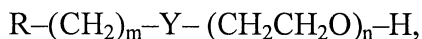
Kết quả trên cho thấy rằng amylaza chỉ mang lại giá trị mao dẫn bằng 3,7 cm và thời gian thấm ướt lớn hơn 1 giây. Nếu pectinaza được bổ sung vào dung dịch tiền xử lý, giá trị mao dẫn cải thiện đáng kể. Như trong nghiên cứu vải đan (Ví dụ 4), xenlulaza cũng có thể đẩy mạnh khả năng thấm ướt trên vải dệt.

Sáng chế được mô tả và được yêu cầu bảo hộ trong bản mô tả này không bị giới hạn trong phạm vi của các khía cạnh cụ thể được bộc lộ ở đây, vì các khía cạnh này chỉ nhằm để minh họa cho một vài khía cạnh của sáng chế. Các khía cạnh tương đương bất kỳ được dự định là nằm trong phạm vi của sáng chế. Thật vậy, các cải biến khác nhau của sáng chế ngoài ra các cải biến đã được thể hiện và đã được mô tả trong bản mô tả này sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực từ phần mô tả trên đây. Các cải biến này cũng được dự định là thuộc phạm vi của các yêu cầu bảo hộ kèm theo. Trong trường hợp có mâu thuẫn, phần bộc lộ có bao gồm các định nghĩa sẽ được áp dụng.

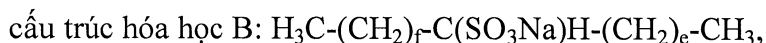
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm chứa pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B:

cấu trúc hóa học A:



trong đó Y là $-CO-O-$ và R được chọn từ nhóm bao gồm $-H$, $-CH_3$, $-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-CH_3$, và $-CH-(CH_3)_2$; hoặc Y là $-CH_2-$ và R là $-CH-(CH_3)_2$; $6 \leq m \leq 14$ và $1 \leq n \leq 18$;



trong đó $f + e = 11-14$.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A.

3. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 2, trong đó R là $-CH-(CH_3)_2$ và Y là $-CH_2-$.

4. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó m bằng 9.

5. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó n bằng 5, 6, 8, 10 hoặc 12.

6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó pectinaza là pectat lyaza; tốt hơn là pectat lyaza trung tính; hoặc tốt hơn là trong đó pectinaza chứa hoặc bao gồm trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất là khoảng 60%, tốt hơn là độ tương đồng ít nhất là khoảng 70%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 80%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 90%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 95%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 96%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 97%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 98%, tốt hơn nữa là độ tương đồng ít nhất là khoảng 99%, và tốt nhất là độ tương đồng là 100% so với SEQ ID NO:1.

7. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó chế phẩm này còn chứa xenlulaza.

8. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó chế phẩm này còn chứa một hoặc nhiều enzym được chọn từ nhóm bao gồm amylaza, lipaza, mannanaza, xylanaza, proteaza, oxidaza, catalaza và cutinaza.

9. Phương pháp làm sạch nguyên liệu xenluloza bao gồm bước xử lý nguyên liệu xenluloza bằng pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B:

cấu trúc hóa học A: $R-(CH_2)_m-Y-(CH_2CH_2O)_n-H$,

trong đó Y là $-CO-O-$ và R được chọn từ nhóm bao gồm $-H$, $-CH_3$, $-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-CH_3$, và $-CH-(CH_3)_2$; hoặc Y là $-CH_2-$ và R là $-CH-(CH_3)_2$; $6 \leq m \leq 14$ và $1 \leq n \leq 18$;

cấu trúc hóa học B: $H_3C-(CH_2)_f-C(SO_3Na)H-(CH_2)_e-CH_3$,

trong đó $f + e = 11-14$.

10. Phương pháp theo điểm 9, trong đó phương pháp này bao gồm bước xử lý nguyên liệu xenluloza bằng pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A.

11. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 9 đến 10, trong đó pectinaza là pectat lyaza; tốt hơn nếu là pectat lyaza trung tính.

12. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 9 đến 11, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước xử lý nguyên liệu xenluloza bằng một hoặc nhiều enzym được chọn từ nhóm bao gồm xenlulaza, amylaza, lipaza, mannanaza, xylanaza, proteaza, oxidaza, catalaza và cutinaza.

13. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 9 đến 12, trong đó nguyên liệu xenluloza là vải dệt, tốt hơn nếu nguyên liệu xenluloza là sợi, sợi dệt, vải, hàng may mặc; tốt hơn nữa nếu nguyên liệu xenluloza là vải bao gồm vải dệt, vải không dệt, hoặc vải đan.

14. Phương pháp xử lý vải dệt, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) rửa hồ vải dệt bằng amylaza;

(b) làm sạch vải dệt bằng pectinaza và chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học A và/hoặc chất hoạt động bề mặt có cấu trúc hóa học B như được xác định trong điểm 1.

15. Phương pháp theo điểm 14, trong đó xenlulaza được bổ sung thêm trước, trong hoặc sau bước (a) hoặc bước (b).

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Novozymes A/S

<120> CHẾ PHẨM VÀ PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ VẢI DỆT XENLULOZA

<130> 12794-WO-PCT[2]

<160> 2

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 341

<212> PRT

<213> Bacillus licheniformis

<220>

<221> TÍN HIỆU

<222> (1)..(27)

<400> 1

Met	Lys	Lys	Leu	Ile	Ser	Ile	Ile	Phe	Ile	Phe	Val	Leu	Gly	Val	Val
1				5					10					15	

Gly	Ser	Leu	Thr	Ala	Ala	Val	Ser	Ala	Glu	Ala	Ala	Ser	Ala	Leu	Asn
			20					25					30		

Ser	Gly	Lys	Val	Asn	Pro	Leu	Ala	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Gly	Phe	Ala
		35					40					45			

Ala	Leu	Asn	Gly	Gly	Thr	Thr	Gly	Gly	Glu	Gly	Gly	Gln	Thr	Val	Thr
	50					55					60				

Val	Thr	Thr	Gly	Asp	Gln	Leu	Ile	Ala	Ala	Leu	Lys	Asn	Lys	Asn	Ala
65					70					75					80

Asn	Thr	Pro	Leu	Lys	Ile	Tyr	Val	Asn	Gly	Thr	Ile	Thr	Thr	Ser	Asn
				85					90					95	

Thr	Ser	Ala	Ser	Lys	Ile	Asp	Val	Lys	Asp	Val	Ser	Asn	Val	Ser	Ile
			100					105					110		

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

Asp Asn Val Asp Asn Val Lys Ser Ile Val Lys Gln Asn Ala Gly Val
 325 330 335

Gly Lys Ile Asn Pro
 340

<210> 2
 <211> 299
 <212> PRT
 <213> Thielavia terrestris

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (1)..(299)

<220>
 <221> TÍN HIỆU
 <222> (1)..(21)

<400> 2

Met Arg Ser Thr Pro Val Leu Arg Thr Thr Leu Ala Ala Ala Leu Pro
 1 5 10 15

Leu Val Ala Ser Ala Ala Ser Gly Ser Gly Gln Ser Thr Arg Tyr Trp
 20 25 30

Asp Cys Cys Lys Pro Ser Cys Ala Trp Pro Gly Lys Ala Ala Val Ser
 35 40 45

Gln Pro Val Tyr Ala Cys Asp Ala Asn Phe Gln Arg Leu Ser Asp Phe
 50 55 60

Asn Val Gln Ser Gly Cys Asn Gly Gly Ser Ala Tyr Ser Cys Ala Asp
 65 70 75 80

Gln Thr Pro Trp Ala Val Asn Asp Asn Leu Ala Tyr Gly Phe Ala Ala
 85 90 95

Thr Ser Ile Ala Gly Gly Ser Glu Ser Ser Trp Cys Cys Ala Cys Tyr
 100 105 110

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