



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110809624 A

(43)申请公布日 2020.02.18

(21)申请号 201880043422.3

(22)申请日 2018.06.28

(30)优先权数据

62/527,396 2017.06.30 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.12.27

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/039927 2018.06.28

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/006077 EN 2019.01.03

(71)申请人 丹尼斯科美国公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 D·A·戴勒

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所  
11247

代理人 胡晨曦 黄革生

(51)Int.Cl.

*C11D 17/00*(2006.01)

*C11D 3/386*(2006.01)

*C12N 11/00*(2006.01)

权利要求书2页 说明书17页

(54)发明名称

低团聚的含酶颗粒

(57)摘要

描述了涉及用于包含在清洁中和其他少水组合物中的低密度含酶颗粒的组合物和方法。所述颗粒保持在悬浮液中而不沉降,并且在用水稀释所述少水组合物时释放活性酶。

1. 能够在液体组合物中隔离并稳定酶而在制造和/或储存中不团聚的颗粒,其包含:

(a) 包含活性组分的核,和/或具有第一涂层的核,所述第一涂层包含直接沉积在所述核上的活性组分;和

(b) 最外面的涂层,所述最外面的涂层包含疏水的、水不溶性的、在水中崩解的材料,所述材料具有在25°C下在水中的小于约1mg/mL的水溶解度的量;

其中,当在25°下用水以1:1稀释所述液体组合物时,(b)中的所述涂层在约5分钟内完全崩解,使所述酶和/或活性组分溶解到所经稀释的液体组合物中,并且

其中,与除了包含第三涂层以外其他特征均相同的颗粒相比,所述颗粒在所述液体组合物中展现出减少的聚集,所述第三涂层包含在25°C下在水中具有溶解度为大于约1mg/mL的水溶性聚合物。

2. 如权利要求1所述的颗粒,其包含,在(a)与(b)之间的至少一个附加的层,所述附加的层包含水溶性聚合物和活性成分。

3. 如权利要求1所述的颗粒,其包含,在(a)与(b)之间的至少一个附加的层,所述附加的层包含水溶性聚合物,没有活性成分。

4. 如权利要求1或2所述的颗粒,其中所述核没有活性组分。

5. 如权利要求1或3所述的颗粒,其中所述核包含活性组分。

6. 如前述权利要求中任一项所述的颗粒,其中,在含有所述颗粒的液体组合物与至少一个额外体积的水在25°C下接触后,所述最外面的涂层在5分钟内、在4分钟内、在3分钟内、在2分钟内、在1分钟内、在30秒内、或甚至在15秒内崩解。

7. 如前述权利要求中任一项所述的颗粒,其中,所述最外面的涂层占所述颗粒的总重量的小于8%、小于7%、小于6%、或甚至小于5%。

8. 如前述权利要求中任一项所述的颗粒,其中,所述最外面的涂层基本上由疏水的、水不溶性的、在水中崩解的材料组成或由其组成,所述材料具有在25°C下在水中的小于约1mg/mL的水溶解度的量。

9. 如前述权利要求中任一项所述的颗粒,其中,所述核具有由以下方程式定义的密度:

$$\rho_c \leq (\rho_f + 31250/D_p^2) * x_c / (D_c/D_p)^{(1/3)} \text{ 以及}$$

$$\rho_c \geq (\rho_f - 31250/D_p^2) * x_c / (D_c/D_p)^{(1/3)},$$

其中 $\rho_c$ 是以g/cm<sup>3</sup>计的所述核的密度, $\rho_f$ 是以g/cm<sup>3</sup>计的所述液体组合物的质量密度, $x_c$ 是所述颗粒中的所述核的质量分数, $D_c$ 是以 $\mu\text{M}$ 计的所述核的直径,并且 $D_p$ 是以 $\mu\text{M}$ 计的所述颗粒的直径。

10. 如前述权利要求中任一项所述的颗粒,其具有小于1.6mg/mL、小于1.4mg/mL、或甚至小于1.2mg/mL的总体真密度。

11. 一种用于在制造和/或储存中减少颗粒团聚的方法,所述方法包括在最外层涂覆所述颗粒,所述最外层包含疏水的、水不溶性的、在水中崩解的材料,所述材料具有在25°C下在水中的小于约1mg/mL的水溶解度的量。

12. 如权利要求11所述的方法,其中,所述最外面的涂层基本上由疏水的、水不溶性的、在水中崩解的材料组成或由其组成,所述材料具有在25°C下在水中的小于约1mg/mL的水溶解度的量。

13. 如权利要求11或12所述的方法,其中,在含有所述颗粒的液体组合物与至少一个额

外体积的水在25℃下接触后,所述最外面的涂层在5分钟内、在4分钟内、在3分钟内、在2分钟内、在1分钟内、在30秒内、或甚至在15秒内崩解。

14. 如权利要求11-13中任一项所述的方法,其中,所述最外面的涂层占所述颗粒的总重量的小于8%、小于7%、小于6%、或甚至小于5%。

## 低团聚的含酶颗粒

### 技术领域

[0001] 本发明的组合物和方法涉及用于包含在清洁中和其他少水组合物中的具有减少的团聚的含酶颗粒。所述颗粒在储存中展示出低团聚,并且在用水稀释所述少水组合物时释放活性酶。

### 背景技术

[0002] 酶以液体和固体两种形式供应以便掺入用于多种消费者和工业应用的产品中,所述应用包括衣物和餐具清洁、个人护理、纺织品处理、纸浆和纸的生产、皮革生产、食品和饮料加工、淀粉加工、去污、油气钻井、生物燃料的生产、以及生物聚合物和其他化学品的生产(或改性)。

[0003] 广泛地需要将酶或其他活性物在含有此类不相容成分的液体配方中分隔开,使得它们在储存期间是稳定的,但是在应用中稀释时快速释放。许多以其他方式起作用的酶是不能使用的,因为它们在液体配制品(如洗涤剂)中是不稳定的。

[0004] 除了在稳定性方面提出挑战之外,酶还是免疫原性分子并且可能呈现关于暴露和敏化的问题。在一些情况下,可以添加至液体清洁配制品中的酶的最大量是由暴露风险而不是性能或经济性确定的。

[0005] 酶可以以粒状形式在液体洗涤剂中提供,但是细粒总是沉降在液体配制品(如洗涤剂)中,导致酶的不均匀分布以及所沉降细粒的不吸引人的外观。因此,需要改进的方法以在液体配制品中将酶分隔开,使得所述酶在液体中保持稳定、保留催化潜能直至在要求酶活性的应用中使用、并且保持均匀悬浮而不团聚持续延长的时间段。

### 发明内容

[0006] 本发明提供了用于在水性组合物中隔离并稳定酶的低密度颗粒、以及其使用方法。本发明的方面和实施例描述于以下编号的段落中。

[0007] 1. 在一方面,提供了能够在液体组合物中隔离并稳定酶而在制造和/或储存中不团聚的颗粒,其包含:(a) 包含活性组分的核,和/或具有第一涂层的核,所述第一涂层包含直接沉积在所述核上的活性组分;和(b) 最外面的涂层,所述最外面的涂层包含疏水的、水不溶性的、在水中崩解的材料,所述材料具有在25°C下在水中的小于约1mg/mL的水溶解度的量;其中,当在25°C下用水以1:1稀释所述液体组合物时,(b)中的所述涂层在约5分钟内完全崩解,使所述酶和/或活性组分溶解到所经稀释的液体组合物中,并且其中,与除了包含第三涂层以外其他特征均相同的颗粒相比,所述颗粒在所述液体组合物中展现出减少的聚集,所述第三涂层包含在25°C下在水中具有的溶解度为大于约1mg/mL的水溶性聚合物。

[0008] 2. 在一些实施例中,如段落1所述的颗粒进一步包含在(a)与(b)之间的至少一个附加的层,所述附加的层包含水溶性聚合物和活性成分。

[0009] 3. 在一些实施例中,如段落1所述的颗粒进一步包含在(a)与(b)之间的至少一个附加的层,所述附加的层包含水溶性聚合物,没有活性成分。

- [0010] 4. 在如段落1或2所述的颗粒的一些实施例中,所述核没有活性组分。
- [0011] 5. 在如段落1或3所述的颗粒的一些实施例中,所述核包含活性组分。
- [0012] 6. 在如前述段落中任一个所述的颗粒的一些实施例中,在含有所述颗粒的液体组合物与至少一个额外体积的水在25℃下接触后,所述最外面的涂层在5分钟内、在4分钟内、在3分钟内、在2分钟内、在1分钟内、在30秒内、或甚至在15秒内崩解。
- [0013] 7. 在如前述段落中任一个所述的颗粒的一些实施例中,所述最外面的涂层占所述颗粒的总重量的小于8%、小于7%、小于6%、或甚至小于5%。
- [0014] 8. 在如前述段落中任一个所述的颗粒的一些实施例中,所述最外面的涂层基本上由疏水的、水不溶性的、在水中崩解的材料组成或由其组成,所述材料具有在25℃下在水中的小于约1mg/mL的水溶解度的量。
- [0015] 9. 在如前述段落中任一个所述的颗粒的一些实施例中,所述核具有由以下方程式定义的密度:
- [0016]  $\rho_c \leq (\rho_f + 31250/D_p^2) * x_c / (D_c/D_p)^{(1/3)}$  以及
- [0017]  $\rho_c \geq (\rho_f - 31250/D_p^2) * x_c / (D_c/D_p)^{(1/3)}$ ,
- [0018] 其中 $\rho_c$ 是以g/cm<sup>3</sup>计的所述核的密度, $\rho_f$ 是以g/cm<sup>3</sup>计的所述液体组合物的质量密度, $x_c$ 是所述颗粒中的所述核的质量分数, $D_c$ 是以 $\mu$ m计的所述核的直径,并且 $D_p$ 是以 $\mu$ m计的所述颗粒的直径。
- [0019] 10. 在一些实施例中,如前述段落中任一个所述的颗粒具有小于1.6mg/mL、小于1.4mg/mL、或甚至小于1.2mg/mL的总体真密度。
- [0020] 11. 在另一方面,提供了一种用于在制造和/或储存中减少颗粒团聚的方法,所述方法包括在最外层涂覆所述颗粒,所述最外层包含疏水的、水不溶性的、在水中崩解的材料,所述材料具有在25℃下在水中的小于约1mg/mL的水溶解度的量。
- [0021] 12. 在如段落11所述的方法的一些实施例中,所述最外面的涂层基本上由疏水的、水不溶性的、在水中崩解的材料组成或由其组成,所述材料具有在25℃下在水中的小于约1mg/mL的水溶解度的量。
- [0022] 13. 在如段落11或12所述的方法的一些实施例中,在含有所述颗粒的液体组合物与至少一个额外体积的水在25℃下接触后,所述最外面的涂层在5分钟内、在4分钟内、在3分钟内、在2分钟内、在1分钟内、在30秒内、或甚至在15秒内崩解。
- [0023] 14. 在如段落11-13中任一个所述的方法的一些实施例中,所述最外面的涂层占所述颗粒的总重量的小于8%、小于7%、小于6%、或甚至小于5%。
- [0024] 以下描述了所述组合物和方法的这些和其他方面和实施例。

## 具体实施方式

### [0025] I. 定义和缩写

[0026] 除非本文另外定义,否则本文所使用的所有技术与科学术语均具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。尽管与本文描述的那些方法和材料类似或等同的任何方法和材料可用于本发明的实践,但是本文描述了优选的方法和材料。因此,总体上通过参考说明书,以下立即定义的术语得以更全面地描述。此外,除非上下文另有明确指示,否则如本文使用的,单数术语“一个/一种(a/an)”和“所述(the)”包括复数引用。除非另

外指示,分别以5'至3'的方向从左至右来书写核酸;以氨基至羧基的方向从左至右来书写氨基酸序列。应当理解,本发明不限于所描述的特定方法、方案和试剂,因为它们可以根据本领域技术人员使用的上下文而变化。

[0027] 在本说明书通篇中给出的每一最大数值限度旨在包括每一较低数值限度,如同此类较低数值限度在本文中明确写出一样。在本说明书通篇中给出的每一最小数值限度将包括每一较高数值限度,如同此类较高数值限度在本文中明确写出一样。在本说明书通篇中给出的每一数值范围将包括落入此类较宽数值范围内的每一较窄数值范围,如同此类较窄数值范围在本文中全部明确写出一样。

[0028] 如本文使用的,术语“水溶性聚合物”是指以至少1mg/ml的量可溶于水中的聚合物。如本文使用的,“水性介质”或“水性溶液”是其中溶剂主要是水(即,溶剂至少50%是水、至少60%是水、至少70%是水、至少80%是水、或甚至至少90%是水)的溶液和/或悬浮液。水性介质可以包含任何数目的溶解或悬浮的组分,包括但不限于表面活性剂、盐、缓冲剂、稳定剂、络合剂、螯合剂、助洗剂、金属离子、附加的酶以及底物等。示例性水性介质是衣物和餐具洗涤液。纺织品、织物、餐具、厨具、以及其他材料等材料还可以存在于水性介质中或与水性介质接触。

[0029] 如本文使用的,术语“水不溶性的材料”是指甚至在混合时仍不可溶于水的材料,如具有在25°C下在水中的小于1mg/ml的溶解度的材料。

[0030] 如本文使用的,术语“疏水的”是指被水排斥(或排斥水)的材料。也就是说,在所述材料与水之间没有吸引力。

[0031] 如本文使用的,术语亲水亲油平衡(HLB)是指表面活性剂的亲水基团与疏水基团的关系的经验表达式。

[0032] 如本文使用的,术语“崩解材料”是指不可溶于水,但是具有能够从较大颗粒分解成当混合时能够悬浮于水中的较小颗粒的能力的材料。

[0033] 如本文使用的,术语“团聚”是指其中单个颗粒聚在一起以形成多个颗粒的组或簇的现象。颗粒之间的结合可以是松的结合或紧密的结合,包括通过在颗粒之间形成的共价键的结合。

[0034] 如本文使用的,关于液体衣物洗涤剂组合物的术语“少水”指示所述洗涤剂组合物含有约5%至20%的水(w/w)。

[0035] 如本文使用的,关于液体衣物洗涤剂组合物的术语“基本上非水性的”指示所述洗涤剂组合物含有约2%–5%的水(w/w)。

[0036] 如本文使用的,“非水性的”溶液含有小于约2%的水(w/w)。

[0037] 如本文使用的,当以特定的形式(例如非水性的、非常少水的、固体的等)“提供”组分时,此形式是指所述组分存在于单位剂量包装物中的最终形式,不是其中所述组分可能被添加至然后被添加至单位剂量包装物中的另一种组分中的形式。

[0038] 如本文使用的,短语“不足以基本上溶解水溶性包装”意指在六个月的时间段内在室温(即25°C)下实验对象液体不溶解多于5%的水溶性材料。

[0039] 如本文使用的,关于水溶性包装的内容物的术语“界定”意指特定的内容物(无论是液体、固体、或其组合的)被物理地包含在隔室中,所述隔室的至少一部分被水溶性材料限定。在一些情况下,内容物被水溶性材料完全界定,意指整个隔室由所述水溶性材料限

定,如在由水溶性材料制成的小袋的情况下。在一些情况下,内容物被水溶性材料仅部分地界定,意指隔室的仅一部分是由所述水溶性材料限定,并且剩余部分是由水不溶性材料限定,如在由水溶性材料制成的盖覆盖的杯或餐具的情况下。

[0040] 如本文使用的,术语“悬浮的”和“分散的”是指一种组分在另一种中的分布,例如固体形式的酰基基质在水溶性材料中的分布。

[0041] 如本文使用的,“冷”水是具有在冰点与约25°C之间的温度的水。

[0042] 如本文使用的,“室温”是25°C。

[0043] 如本文使用的,“温”水是具有在约26°C与约37°C之间的温度的水。

[0044] 如本文使用的,“热”水是具有在约37°C与沸点之间的温度的水。

[0045] 如本文使用的,“低”pH是小于约7的pH。

[0046] 如本文使用的,“高”pH是大于约7的pH。

[0047] 如本文使用的,术语“接触”意指进行物理接触,如通过将单位剂量包装物放置在水性溶液中。

[0048] 如本文使用的,化学组分的“固体”形式是指其粉末、晶体、细粒、聚集体、糊料或蜡。

[0049] 如本文使用的,化学组分的“液体”形式是指液体、凝胶、或浆料。

[0050] 如本文使用的,“真密度”是指颗粒的质量除以其体积,排除开孔和闭孔。

[0051] 如本文使用的,术语“喷雾干燥”是指通过用热气快速干燥而由液体或浆料生产干燥粉末的方法,如本领域中已知的并且例如在美国专利5,423,997和WO 2008/088751 A2中讨论的。

[0052] 如本文使用的,“d50”是指在所测量的群体中的50%超过或低于中点的情况下测量的颗粒的尺寸。

[0053] 如本文使用的,术语“UFC固体”是指来自发酵罐/生物反应器的超滤液浓缩物,并且与酶浓缩物固体同义。

[0054] 如本文使用的,“清洁组合物”和“清洁配制品”是指可以用于从待清洁的物品(如织物、餐具、接触镜片、其他固体基质、头发(洗发剂)、皮肤(肥皂和乳膏)、牙齿(漱口水、牙膏)等)上除去不希望的化合物的组合物。所述术语涵盖对于希望的特定类型的清洁组合物选择的任何材料/化合物。清洁组合物材料的具体选择是通过考虑待清洁的表面、物品或织物,以及针对使用期间的清洁条件的所希望的组合物形式而容易进行的。

[0055] 所述术语进一步是指适合于清洁、漂白、消毒和/或灭菌任何物体和/或表面的任何组合物。所述术语旨在包括但不限于洗涤剂组合物(例如衣物洗涤剂和精细织物洗涤剂;硬表面清洁配制品,如用于玻璃、木材、陶瓷和金属台面和窗户;地毯清洁剂;烘箱清洁剂;织物清新剂;织物柔顺剂;和纺织品和衣物预去污剂(pre-spotter)、以及餐具洗涤剂)。

[0056] 如本文使用的,关于旨在用于洗涤介质中的混合物(所述洗涤介质用于清洁弄脏的物体),使用术语“洗涤剂组合物”和“洗涤剂配制品”。在一些优选的实施例中,关于洗熨织物和/或服装(例如“衣物洗涤剂”),使用所述术语。在可替代的实施例中,所述术语是指其他洗涤剂,如用于清洁餐具、刀具等的那些(例如“餐具洗涤剂”)。

[0057] 如本文使用的,术语“非离子表面活性剂”是指具有不带电的极性基团的表面活性剂分子。

[0058] 如本文使用的,术语“阴离子表面活性剂”是指在组合物的pH下或在用途应用中具有带负电荷的极性基团的表面活性剂分子。本人在本文中考虑到阴离子表面活性剂的质量或浓度,将用于络合或中和表面活性剂(例如形成直链烷基苯磺酸盐(LAS)的单乙醇胺(MEA)盐)的盐包括在内。

[0059] 如本文使用的,短语“洗涤剂稳定性”是指洗涤剂组合物的稳定性。在一些实施例中,在洗涤剂的使用期间评价稳定性,而在其他实施例中,所述术语是指在储存期间的洗涤剂组合物的稳定性。

[0060] 如本文使用的,术语“硬表面清洁组合物”是指用于清洁硬表面如地板、墙壁、贴砖、浴室和厨房设备等的洗涤剂组合物。

[0061] 如本文使用的,“非织物清洁组合物”涵盖硬表面清洁组合物、餐具洗涤组合物、个人护理清洁组合物(例如口腔清洁组合物、假牙清洁组合物、个人清洁组合物等)、以及适用于纸浆和纸工业中的组合物。

[0062] 如本文使用的,“个人护理产品”意指用于头发、皮肤、头皮、和牙齿的清洁、漂白和/或消毒的产品,包括但不限于洗发剂、身体乳液、淋浴凝胶、局部保湿剂、牙膏、和/或其他局部清洁剂。在一些特别优选的实施例中,这些产品用于人类,而在其他实施例中,这些产品可用于非人类动物(例如,在兽医应用中)。

[0063] 如本文使用的“水混溶性”是指当液体与水以水与液体的指定比例混合时形成单一热力学液相或各向同性相的液体。

[0064] 如本文使用的“悬浮液”或“分散体”是指两相系统,其中不连续固相分散在连续液相内。固相可以由非常精细的颗粒或较大细粒组成,并且所述颗粒或细粒可以具有多种形状、形态和结构。例如,固体可以是直径小至1微米的喷雾干燥的颗粒、或直径为在100与1,000微米之间的较大的核-壳细粒。

[0065] 如本文使用的,“悬浮助剂”是指添加至液体组合物中用以防止或减少悬浮的颗粒的沉积或漂浮的材料。悬浮助剂典型地通过增加载体液体的粘度或屈服应力来发挥作用。具有显著屈服应力的流体将仅在施加大于所述屈服应力的应力下才流动,并且因此展现出剪切稀化或触变行为。有效的悬浮剂典型地通过形成颗粒或纤维的通过弱力桥联的可逆网络来起作用。悬浮剂的实例包括但不限于黄原胶和微纤维纤维素,例如Cellulon(加利福尼亚州圣地亚哥市斯比凯可公司(CP Kelco, San Diego, CA))。

[0066] 在本说明书中可使用以下缩写。在本说明书通篇中,还根据需要提供了定义。

[0067] °C 摄氏度

[0068] AU 活性单位

[0069] CaCl<sub>2</sub> 氯化钙

[0070] Cm 厘米

[0071] cm<sup>3</sup> 立方厘米

[0072] D(0.5) 在50%的颗粒等于或低于指定直径的情况下的中值粒度

[0073] D(0.9) 在90%的颗粒等于或低于指定直径的情况下的中值粒度

[0074] dH<sub>2</sub>O或DI 去离子水

[0075] eq. 当量

[0076] ETOH 乙醇

- |        |  |           |
|--------|--|-----------|
| [0077] | g或gm   | 克(下文注释)   |
| [0078] | H <sub>2</sub> O   | 水         |
| [0079] | hr   | 小时        |
| [0080] | M  | 摩尔的       |
| [0081] | 熔融温度   | 熔融温度      |
| [0082] | mg   | 毫克        |
| [0083] | min  | 分钟        |
| [0084] | mL和ml  | 毫升        |
| [0085] | mm   | 毫米        |
| [0086] | mM   | 毫摩尔的      |
| [0087] | MW   | 分子量       |
| [0088] | N  | 正常        |
| [0089] | Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>  | 硫酸钠       |
| [0090] | NaOH   | 氢氧化钠      |
| [0091] | nm   | 纳米        |
| [0092] | PE   | 聚乙烯       |
| [0093] | PEG  | 聚乙二醇      |
| [0094] | ppm  | 份/百万份     |
| [0095] | PVA  | 聚(乙烯醇)    |
| [0096] | PVP  | 聚(乙烯吡咯烷酮) |
| [0097] | sec  | 秒         |
| [0098] | TiO <sub>2</sub>   | 二氧化钛      |
| [0099] | U  | 单位        |
| [0100] | v/v  | 体积/体积     |
| [0101] | w/v  | 重量/体积     |
| [0102] | w/w  | 重量/重量     |
| [0103] | wt%  | 重量百分比     |
| [0104] | μg   | 微克        |
| [0105] | μL和μl  | 微升        |
| [0106] | μm   | 微米        |
| [0107] | μM   | 微摩尔的      |
| [0108] | II. 具有疏水的或水不溶性的、水崩解涂层的颗粒   |           |
| [0109] | 通常希望将具有活性剂的颗粒掺入少水液体洗涤剂中,以便提供清洁或其他益处。不幸的是,具有由具有水溶性或亲水特性的材料制成的外表面的常规颗粒在掺入少水洗涤剂期间和/或之后(如在制造、混合、处理、运输和/或储存期间)示出团聚。 |           |
| [0110] | 本发明的材料和方法通过在颗粒外表面使用疏水的和/或水不溶性的材料克服了这种不希望的团聚现象,以防止团聚发生,当少水洗涤剂被稀释成洗涤液时所述材料容易崩解。                                  |           |
| [0111] | 总体而言,所述颗粒包括(i)核、(ii)至少一个含有酶和/或其他活性组分的层、  |           |

(iii) 一个或多个附加的层、和 (iv) 具有疏水的和/或水不溶性特性的最外面的涂层(当在水中以1:1稀释时将快速崩解)。将更详细地描述这些组分。

[0112] A. 疏水的或水不溶性的且水崩解的表面涂层

[0113] 本发明的组合物和方法的关键特征是具有有疏水的和/或水不溶性特性的最外面的涂层的颗粒,以在制造、处理、运输和/或储存期间防止颗粒团聚,但是当稀释成洗涤液时所述涂层容易崩解。

[0114] 具有必要的疏水的和/或水不溶性特性但是在稀释时容易崩解的示例性材料包括但不限于天然蜡(如巴西棕榈蜡、蜂蜡、棕榈蜡、小烛树蜡)、合成蜡(如固体石蜡和微晶蜡)、低HLB表面活性剂(如具有低于HLB=6的值的那些)、疏水改性的聚乙烯醇、疏水改性的淀粉(如用脂肪酸侧链改性的那些)、疏水改性的纤维素聚合物。

[0115] 理想地,外涂层材料的熔点应足够高,以在加工和储存期间保持固体。因此,取决于工艺条件和应用,熔融温度应高于40°C、高于45°C、高于50°C、高于55°C、或甚至高于60°C。

[0116] 在含有颗粒的少水液体组合物与至少一个额外体积的水在25°C下接触后,涂层应在5分钟内、在4分钟内、在3分钟内、在2分钟内、在1分钟内、在30秒内、或甚至在15秒内崩解。

[0117] 外涂层组合物仅需以足以赋予希望的表面特性以避免团聚并且允许在洗涤液中稀释时快速崩解的水平掺入。因此,外涂层应尽可能的薄。在一些实施例中,相对于作为整体的颗粒,最外面的涂层的重量百分比(wt/wt%)应小于8%、小于7%、小于6%、或甚至小于5%。

[0118] B. 含有酶和其他活性物的涂层

[0119] 核(将在下文中描述)涂覆有和/或可以任选地含有多种酶或其他活性物中的一种或多种。尽管本说明书集中于酶,但是将显而易见的是,在使用相同颗粒的少水组合物中可以提供大量其他活性组分。

[0120] 示例性酶包括酰基转移酶、 $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶、 $\alpha$ -半乳糖苷酶、阿拉伯糖苷酶、芳基酯酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、角叉菜胶酶、过氧化氢酶、纤维二糖水解酶、纤维素酶、软骨素酶、角质酶、内切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶、内切- $\beta$ -甘露聚糖酶、酯酶、外切甘露聚糖酶、半乳聚糖酶、葡糖淀粉酶、半纤维素酶、透明质酸酶、角蛋白酶、漆酶、乳糖酶、木质素酶、脂肪酶、脂肪氧合酶、甘露聚糖酶、氧化酶、氧化还原酶、果胶裂解酶、果胶乙酰酯酶、果胶酶、戊聚糖酶、过水酶、过氧化物酶、过加氧酶、酚氧化酶、磷酸酶、磷脂酶、植酸酶、聚半乳糖醛酸酶、蛋白酶、支链淀粉酶、还原酶、鼠李糖半乳糖醛酸酶、 $\beta$ -葡聚糖酶、鞣酸酶、转谷氨酰胺酶、木聚糖乙酰酯酶、木聚糖酶、木葡聚糖酶、木糖苷酶、金属蛋白酶、附加的丝氨酸蛋白酶、及其组合。

[0121] 合适的蛋白酶的实例包括但不限于枯草杆菌蛋白酶,如衍生自芽孢杆菌属(*Bacillus*)的那些(例如枯草杆菌蛋白酶、迟缓芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、枯草杆菌蛋白酶Carlsberg、枯草杆菌蛋白酶309、枯草杆菌蛋白酶147和枯草杆菌蛋白酶168),包括如描述于例如美国专利号RE 34,606、5,955,340、5,700,676、6,312,936、以及6,482,628中的变体,所述专利全部通过引用并入本文。附加的蛋白酶包括胰蛋白酶(例如猪或牛起源的)和描述于WO 89/06270中的镰孢菌属(*Fusarium*)蛋白酶。在一些实施例中,蛋白酶是MAXATASE®、MAXACAL™、MAXAPEM™、

OPTICLEAN®、OPTIMASE®、PROPERASE®、PURAFECT®、  
PURAFECT® OXP、PURAMAX™、EXCELLASE™、和PURAFAST™(杰能科公司(Genencor));  
ALCALASE®、SAVINASE®、PRIMASE®、DURAZYM™、  
POLARZYME®、OVOZYME®、KANNASE®、  
LIQUANASE®、NEUTRASE®、RELEASE®和ESPERASE®(诺维信公司  
(Novozymes)); BLAP™和BLAP™变体(德国杜塞尔多夫市汉高股份有限及两合公司(Henkel  
Kommanditgesellschaft auf Aktien, Duesseldorf, Germany)) 和KAP(嗜碱芽孢杆菌  
(*B.alkalophilus*) 枯草杆菌蛋白酶(日本东京市花王公司(Kao Corp., Tokyo, Japan)) 中的  
一种或多种。附加的蛋白酶描述于WO 95/23221、WO 92/21760、WO 09/149200、WO 09/  
149144、WO 09/149145、WO 11/072099、WO 10/056640、WO 10/056653、WO 11/140364、WO  
12/151534、美国专利公开号2008/0090747、以及美国专利号5,801,039、5,340,735、5,500,  
364、5,855,625、US RE 34,606、5,955,340、5,700,676、6,312,936、和6,482,628中。

[0122] 合适的蛋白酶包括中性金属蛋白酶,包括描述于WO 07/044993和WO 09/058661中的那些。其他示例性金属蛋白酶包括在枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中表达的重组形式的中性金属蛋白酶nprE(参见例如WO 07/044993)和来自解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)的纯化的中性金属蛋白酶PMN。

[0123] 合适的脂肪酶包括但不限于绵毛状腐质菌(*Humicola lanuginosa*)脂肪酶(参见例如EP 258 068和EP 305 216);米黑根毛霉(*Rhizomucor miehei*)脂肪酶(参见例如EP 238 023);假丝酵母属脂肪酶,如南极洲假丝酵母(*C.antarctica*)脂肪酶(例如南极洲假丝酵母脂肪酶A或B;参见例如,EP 214 761);假单胞菌脂肪酶,如产碱假单胞菌(*P.alcaligenes*)脂肪酶和假产碱假单胞菌(*P.pseudoalcaligenes*)脂肪酶(参见例如,EP 218 272);洋葱假单胞菌(*P.cepacia*)脂肪酶(参见例如,EP 331 376);施氏假单胞菌(*P.stutzeri*)脂肪酶(参见例如,GB1,372,034);荧光假单胞菌(*P.fluorescens*)脂肪酶;芽孢杆菌属脂肪酶(例如枯草芽孢杆菌脂肪酶(Dartois等人,(1993) *Biochem.Biophys.Acta* [生物化学与生物物理学报]1131:253-260);嗜热脂肪芽孢杆菌(*B.stearothermophilus*)脂肪酶(参见例如,JP 64/744992);和短小芽孢杆菌(*B.pumilus*)脂肪酶(参见例如,WO 91/16422))。

[0124] 附加的合适的脂肪酶包括沙门柏干酪青霉(*Penicillium camembertii*)脂肪酶(Yamaguchi等人,(1991) *Gene*[基因]103:61-67)、白地霉(*Geotricum candidum*)脂肪酶(参见Schimada等人,(1989) *J.Biochem.* [生物化学杂志]106:383-388)、以及各种根霉属脂肪酶如德氏根霉(*R.delemar*)脂肪酶(Hass等人,(1991) *Gene*[基因]109:117-113)、雪白根霉(*R.niveus*)脂肪酶(Kugimiya等人,(1992) *Biosci.Biotech.Biochem* [生物科学、生物技术与生物化学]56:716-719)和米根霉(*R.oryzae*)脂肪酶。附加的脂肪酶是衍生自门多萨假单胞菌(*Pseudomonas mendocina*)的角质酶(参见WO 88/09367)和衍生自豌豆根腐镰孢菌(*Fusarium solanipisi*)的角质酶(WO 90/09446)。WO 11/111143、WO 10/065455、WO 11/084412、WO 10/107560、WO 11/084417、WO 11/084599、WO 11/150157、以及WO 13/033318中描述了各种脂肪酶。在一些实施例中,蛋白酶是M1 LIPASE™、LUMA FAST™、和LIPOMAX™(杰能科公司); LIPEX®、LIPOLASE®和LIPOLASE® ULTRA(诺维信公司);和LIPASE

P<sup>TM</sup>“Amano” (日本天野药业有限公司 (Amano Pharmaceutical Co.Ltd.) 中的一种或多种。

[0125] 合适的淀粉酶包括但不限于细菌或真菌起源的、或甚至哺乳动物起源的那些。许多合适的描述于 WO 9510603、WO 9526397、WO 9623874、WO 9623873、WO 9741213、WO 9919467、WO 0060060、WO 0029560、WO 9923211、WO 9946399、WO 0060058、WO 0060059、WO 9942567、WO 0114532、WO 02092797、WO 0166712、WO 0188107、WO 0196537、WO 0210355、WO 9402597、WO 0231124、WO 9943793、WO 9943794、WO 2004113551、WO 2005001064、WO 2005003311、WO 0164852、WO 2006063594、WO 2006066594、WO 2006066596、WO 2006012899、WO 2008092919、WO 2008000825、WO 2005018336、WO 2005066338、WO 2009140504、WO 2005019443、WO 2010091221、WO 2010088447、WO 0134784、WO 2006012902、WO 2006031554、WO 2006136161、WO 2008101894、WO 2010059413、WO 2011098531、WO 2011080352、WO 2011080353、WO 2011080354、WO 2011082425、WO 2011082429、WO 2011076123、WO 2011087836、WO 2011076897、WO 94183314、WO 9535382、WO 9909183、WO 9826078、WO 9902702、WO 9743424、WO 9929876、WO 9100353、WO 9605295、WO 9630481、WO 9710342、WO 2008088493、WO 2009149419、WO 2009061381、WO 2009100102、WO 2010104675、WO 2010117511、WO 2010115021、WO 2013184577、WO 9418314、WO 2008112459、WO 2013063460、WO 20110115028、WO 2009061380、WO 2009100102、WO 2014099523、WO 2015077126A1、WO 2013184577、WO 2014164777、PCT/US12/70334、PCT/US13/74282、PCT/CN2013/077294、PCT/CN2013/077134、PCT/CN2013/077137、PCT/CN2013/077142、PCT/CN2012/087135、PCT/US12/62209、PCT/CN2013/084808、PCT/CN2013/084809、和 PCT/US14/23458 中。可商购的淀粉酶包括但不限于 DURAMYL<sup>®</sup>、TERMAMYL<sup>®</sup>、FUNGAMYL<sup>®</sup>、STAINZYME<sup>®</sup>、STAINZYME PLUS<sup>®</sup>、STAINZYME ULTRA<sup>®</sup>、和 BAN<sup>TM</sup> (诺维信公司), 以及 POWERASE<sup>TM</sup>、RAPIDASE<sup>®</sup> 和 MAXAMYL<sup>®</sup> P、PREFERENZ<sup>®</sup> S100、PREFERENZ<sup>®</sup> S110、和 PREFERENZ<sup>®</sup> S1000 (杰能科公司) 中的一种或多种。

[0126] 合适的纤维素酶包括但不限于具有颜色护理益处的那些 (参见例如 EP 0 495 257)。实例包括特异腐质霉 (*Humicola insolens*) 纤维素酶 (参见例如美国专利号 4,435,307)、以及可商购的纤维素酶, 如 CELLUZIME<sup>®</sup>、CAREZYME<sup>®</sup> (诺维信公司)、和 KAC-500 (B)<sup>TM</sup> (花王公司)、和 Primafast<sup>®</sup> GOLD (杜邦公司 (DuPont))。在一些实施例中, 纤维素酶作为成熟野生型或变体纤维素酶的部分或片段掺入, 其中 N 末端的一部分缺失 (参见例如美国专利号 5,874,276)。附加的合适的纤维素酶包括在 WO 2005054475、WO 2005056787、美国专利号 7,449,318、和美国专利号 7,833,773 中发现的那些。

[0127] 合适的甘露聚糖酶描述于美国专利号 6,566,114、6,602,842、5,476 和 775、6,440,991、以及美国专利申请号 61/739267, 所有专利全部通过引用并入本文。可商购的包括但不限于 MANNASTAR<sup>®</sup>、PURABRITE<sup>TM</sup>、和 MANNAWAY<sup>®</sup>。

[0128] 在一些实施例中, 过氧化物酶与过氧化氢或其来源 (例如过碳酸盐、过硼酸盐或过硫酸盐) 组合用于本传授内容的组合物中。在一些替代性实施例中, 氧化酶与氧组合使用。两种类型的酶都用于“溶液漂白”, 即当织物在洗涤液中一起洗涤时防止纺织染料从一种染色的织物转移到另一种织物上), 优选与增效剂一起使用 (参见例如 WO 94/12621 和 WO 95/

01426)。合适的过氧化物酶/氧化酶包括但不限于植物、细菌或真菌起源的那些。在一些实施例中包括化学或遗传修饰的突变体。

[0129] 合适的过水解酶包括来自耻垢分枝杆菌 (*Mycobacterium smegmatis*) 的酶。此种酶、其酶促特性、其结构、以及其许多变体和同源物详细地描述于国际专利申请公开W0 05/056782A和W0 08/063400A、以及美国专利公开US 2008145353和US 2007167344中,所述专利通过引用并入。在一些实施例中,耻垢分枝杆菌过水解酶、或同源物包括S54V取代。

[0130] 其他合适的过水解酶包括碳水化合物家族酯酶家族7 (CE-7家族) 的成员,描述于例如W0 2007/070609和美国专利申请公开号2008/0176299、2008/176783、和2009/0005590中。CE-7家族的成员包括头孢菌素C脱乙酰酶 (CAHs; E.C.3.1.1.41) 和乙酰木聚糖酯酶 (AXEs; E.C.3.1.1.72)。CE-7酯酶家族的成员共享保守的签名基序 (Vincent等人, *J.Mol.Biol.* [分子生物学杂志], 330:593-606 (2003))。

[0131] 其他合适的过水解酶包括来自苜蓿中华根瘤菌 (*Sinorhizobium meliloti*)、百脉根中生根瘤菌 (*Mesorhizobium loti*)、牛莫拉氏菌 (*Moraxella bovis*)、根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*)、或突柄杆菌 *dejongeii* (*Prostheco bacter dejongeii*) (W0 2005056782)、门多萨假单胞菌 (美国专利号5,389,536)、或恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) (美国专利号5,030,240和5,108,457) 的那些。

[0132] 酶可以是结晶的、沉淀的、喷雾干燥的、冷冻干燥的、和/或压缩的,并且以其干燥形式或重悬浮的液体形式提供。酶可以作为超滤浓缩物提供。它们可以被纯化至预先选择的水平。

[0133] 核可以进一步涂覆有和/或含有一种或多种附加的组分,如漂白催化剂、稳定系统、螯合剂、光增亮剂、污垢释放聚合物、染料转移剂、分散剂、泡沫抑制剂、染料、香料、着色剂、填充剂盐、光活化剂、荧光剂、织物调理剂、可水解表面活性剂、防腐剂、抗氧化剂、抗收缩剂、抗皱剂、杀菌剂、杀真菌剂、颜色点缀剂、银护理剂、抗晦暗剂和/或抗腐蚀剂、碱性来源、增溶剂、载体、加工助剂、颜料、和pH控制剂、表面活性剂、助洗剂、染料转移抑制剂、沉积助剂、催化材料、漂白活化剂、漂白增效剂、过氧化氢、过氧化氢来源、预成型过酸、聚合物分散剂、粘土去除/抗再沉积剂、增白剂、结构弹性剂、织物柔顺剂、助水溶物、加工助剂和/或颜料。此类其他辅料和使用水平的合适实例发现于美国专利号5,576,282、6,306,812、6,326,348、6,610,642、6,605,458、5,705,464、5,710,115、5,698,504、5,695,679、5,686,014和5,646,101中,所述专利全部通过引用并入本文。可用于本发明的代表性洗涤剂配制品包括发现于W0 2013063460、W0 2003010266、W0 2006002755、W0 2006088535、和US 20110263475中的洗涤剂配制品,所述专利全部通过引用并入本文。此类辅助剂可以包括在核、酶层、或聚合物涂层中,只要它们不会不利地影响所描述的希望的颗粒特性。

[0134] C. 附加的涂层

[0135] 取决于本发明的颗粒和方法的具体实施例,可以包括有至少一个施用于核、或经涂覆的核的非水性、水溶性涂层,以保护酶和/或其他活性组分层免受存在于旨在将颗粒悬浮于其中的少水液体组合物的水的影响。涂层应为无毒且可生物降解的。涂层在25°C下在水中的溶解度应大于1、大于2、大于3、大于4、大于5、大于6、大于7、大于8、大于9、或甚至大于10mg/mL。当它们悬浮于其中的少水液体组合物用至少一体积的水稀释时,涂层应在5分钟内、在4分钟内、在3分钟内、在2分钟内、在1分钟内、在30秒内、或甚至在15秒内溶解。

[0136] 示例性材料是直链或支链的聚合物,所述聚合物具有使得所述聚合物(或不同聚合物的混合物)在室温下是固体的分子量。具体的示例性材料包括但不限于合成聚合物,如聚乙烯醇(PVA)、聚乙酸乙烯酯、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙二醇(PEG)、聚环氧乙烷(PEO)、聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸、吡咯烷酮羧酸、聚苯乙烯磺酸酯、和聚电解质;脂肪酸,如硬脂酸、油酸、肉豆蔻酸、和棕榈酸;胶,如阿拉伯树胶、瓜耳胶、黄原胶、琼脂糖、刺梧桐树胶(karaya)、黄芪胶、和刺槐豆胶;纤维素材料,如羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乙酸丁酸纤维素、乙酸邻苯二甲酸纤维素、羧甲基纤维素(CMC)、甲基纤维素、和羟乙基纤维素;以及其他材料,如葫芦环联脲(cucurbuturil)、聚乙基亚胺、季聚胺、角叉菜胶、果胶、壳聚糖、多糖、泊洛沙姆、聚酸酐、聚羟基链烷酸酯、麸质、明胶、海藻酸钠、角叉菜胶、淀粉、糊精、以及及其混合物。

[0137] D. 核

[0138] 在一些实施例中,以外部的、疏水的或水不溶性的、水崩解外涂层为特征的本发明的颗粒的核对于本发明的组合物和方法不是关键的,并且可以具有常规性质。常用的材料是盐和糖和其他相对便宜的水溶性材料。核可以是惰性的、或可以以活性成分为特征。在其他实施例中,核可以包括一些、或甚至全部活性剂,如以上提及的酶。

[0139] 在具体实施例中,选择核,使得颗粒具有接近于它们悬浮或旨在悬浮于其中的少水液体组合物的密度的总体颗粒密度。这进一步使本发明的颗粒区别于典型地具有较高密度且倾向于在悬浮液中沉降出来的常规颗粒。

[0140] 颗粒的低密度可以通过两种方法之一、或二者的组合实现。第一种方法是使用低密度核。下文描述了用于制造低密度核的多种材料,并且在本文中例示了几种。第二种方法是使用更常规的中到高密度的核,与密度调节剂组合使用,以减小总体颗粒密度。可以容易地将这些方法组合,使得核材料的选择和密度调节剂的使用两者均有利于总体低的颗粒密度。可替代地,可以使用密度调节剂,以在预先选择的核颗粒的基础上微调总体颗粒密度,如在定制在具有不同密度的不同少水组合物中使用的标准化颗粒的情况下。

[0141] 1. 由低密度材料制成的核

[0142] 颗粒的核可以由一种或多种无毒且可生物降解的材料制成。优选地,核溶解或分散于水中。如以上描述的,核可以具有与它们旨在悬浮于其中的少水组合物液体的密度相似的密度,使得它们在载体液体中保持均匀地悬浮而没有大量的沉降。大多数水性液体具有在 $1.0\text{g}/\text{cm}^3$ 与 $1.3\text{g}/\text{cm}^3$ 之间的密度(取决于所溶解的溶质),并且核的密度应在所述液体密度的 $0.5\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $0.4\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $0.3\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $0.2\text{g}/\text{cm}^3$ 、或甚至 $0.1\text{g}/\text{cm}^3$ 内。

[0143] 希望的核的密度取决于核相比于颗粒的总尺寸的相对尺寸。较大的核占整个颗粒的更大部分,使其密度更关键。较小的核可能仅占整个颗粒的一小部分,使其密度较不关键。可以基于用于计算颗粒在粘性介质中的沉降速度的斯托克斯定律(Stoke's law)来选择希望的核的密度:

$$[0144] \quad v_s = \frac{2(\rho_p - \rho_f)gR^2}{9\mu}$$

[0145] 在以上方程式中, $v_s$ 是颗粒的沉降速度(例如,m/s),如果 $\rho_p > \rho_f$ ,则沉降速度竖直向下,并且如果 $\rho_p < \rho_f$ 则沉降速度竖直向上, $g$ 是重力加速度( $\text{m}/\text{s}^2$ ), $\rho_p$ 是颗粒的质量密度(例如, $\text{kg}/\text{m}^3$ ), $\rho_f$ 是流体的质量密度( $\text{kg}/\text{m}^3$ ), $\mu$ 是颗粒悬浮于其中的水液体的动态粘度(例如,

kg/m\*s), 并且R是颗粒半径 (m)。考虑到实验对象颗粒的小的尺寸, 为了方便起见, 可以使用其他单位, 例如, 颗粒直径和半径优选地以 $\mu\text{m}$ 表示。

[0146] 对于给定的液体组合物, 粘度 ( $\mu$ ) 保持恒定, 因此, 要维持恒定的沉降粘度, 所需的密度差与颗粒半径或直径的平方成比例, 并且因为其他系数会以任何比率抵消, 所以它们可以忽略。示例性颗粒具有250 $\mu\text{m}$ 的直径和125 $\mu\text{m}$ 的半径。对于此颗粒, 颗粒密度 ( $\rho_p$ ) 与流体密度 ( $\rho_f$ ) 之间的密度差的绝对值, 即 ( $\rho_p - \rho_f$  或  $\Delta \rho_{pf}$ ) 应不多于0.5g/cm<sup>3</sup>, 所以大于或小于250 $\mu\text{m}$ 直径的任何颗粒均是可接受的, 只要沉降速率 ( $v_s$ ) 不增加。在液体介质粘度固定的情况下, 当

[0147] ( $|\Delta \rho_{pf}| * D_p^2$ ) = (0.5) \* (250)<sup>2</sup>时, 任何颗粒将具有相同的 $v_s$

[0148] 其中 $D_p$ 是总体颗粒直径。当对于最大密度通过下式给出差时, 此种颗粒将不会比 $v_s$ 更快地沉降 (或上升):

[0149]  $|\Delta \rho_{pf}| < (0.5) * (250)^2 / D_p^2$

[0150] 或

[0151]  $|\Delta \rho_{pf}| \leq 31250 / D_p^2$

[0152] 以另一种方式表达:

[0153]  $\rho_p \leq \rho_f + 31250 / D_p^2$ , 以避免沉降

[0154]  $\rho_p \geq \rho_f - 31250 / D_p^2$ , 以避免漂浮

[0155] 使用后一式, 可以计算作为总体颗粒直径 ( $D_p$ ) 的函数的所需的最大密度差 ( $|\Delta \rho_{pf}|$ ), 如在表1中示出的:

[0156] 表1. 对于不同的总体颗粒直径的最大密度差

$D_p$ ( $\mu\text{m}$ )	$ \Delta \rho_{pf} $ 最大 (g/cm <sup>3</sup> )
50	12.5
100	3.13
150	1.39
200	0.78
250	0.50
300	0.35
350	0.26
400	0.20
500	0.13
600	0.09
700	0.06
800	0.05
900	0.04
1000	0.03

[0157]

[0158] 还可以将以上关系扩展到定义对整个颗粒 ( $\rho_p$ ) 内的核的密度 ( $\rho_c$ ) 的约束。根据以下关系,核密度可能与总体颗粒密度相关:

$$[0159] \quad \rho_c / \rho_p = (m_c / v_c) / (m_p / v_p)$$

[0160] 其中  $m_c$  和  $m_p$  分别表示核的质量和整个颗粒的质量,并且  $v_p$  和  $v_c$  分别表示整个颗粒的体积和核的体积。重整理:

$$[0161] \quad \rho_c = \rho_p * m_c / m_p * (v_p / v_c)$$

[0162] 以核的直径 ( $D_c$ ) 和颗粒的直径 ( $D_p$ ) 表达体积并且将核的质量分数表示为  $x_c$ , 我们获得:

$$[0163] \quad \rho_c = \rho_p * x_c / (D_c / D_p)^{(1/3)}$$

[0164] 或者我们可以以核密度来示出颗粒密度:

$$[0165] \quad \rho_p = \rho_c * (D_c / D_p)^{(1/3)} / x_c$$

[0166] 因此,可以通过以下方式给出核与流体之间的最大密度差:代入以上表达式而得到核与流体之间的最大密度差  $\rho_c - \rho_f$  或  $\Delta \rho_{cf}$ :

$$[0167] \quad |\rho_p - \rho_f| \leq 18750 / D_p^2$$

$$[0168] \quad |\rho_c * (D_c / D_p)^{(1/3)} / x_c - \rho_f| \leq 18750 / D_p^2$$

[0169] 因此:

$$[0170] \quad \rho_c \leq (\rho_f + 31250 / D_p^2) * x_c / (D_c / D_p)^{(1/3)}, \text{以最小化沉降}$$

$$[0171] \quad \rho_c \geq (\rho_f - 31250 / D_p^2) * x_c / (D_c / D_p)^{(1/3)}, \text{以最小化漂浮}$$

[0172] 在使用较大颗粒的情况下,核密度是关键的,并且低密度材料是优选的。在使用较小颗粒的情况下,核密度是较不关键的,并且可以使用较高密度材料,如盐。低密度材料包括糖(例如蔗糖和山梨醇)、碳水化合物(例如淀粉和糖原)、饱和脂肪酸(例如硬脂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、以及它们的衍生物)、蜡(例如聚乙烯蜡)、聚合物(例如聚乙烯醇(PVA)、部分水解的聚乙烯醇(PHPVA)、聚乙二醇(PEG)、聚环氧乙烷(PEO)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、中度水解的PVA(IHPVA)、完全水解的PVA(FHPVA)、增塑的PVA、羧甲基纤维素(CMC)、羧甲基葡聚糖(CMD)、二乙基氨基乙基葡聚糖(DEAED)、乙基羟乙基纤维素(EHEC)、羟乙基纤维素(HEC)、羟丙基纤维素(HPC)、羟乙基甲基纤维素(HEMC)、羟丙基葡聚糖(HPD)、甲基纤维素(MC)、聚丙二醇(PPG)、聚环氧丙烷(PPO)、聚乙烯硫酸(PVSA)和海藻酸盐,所述聚合物具有一定分子量,使得所述聚合物在室温下是固体)、以及其组合。较高密度材料包括盐,如硫酸钠。

[0173] 核可以包含填充剂、缓冲剂、稳定剂、增塑剂、崩解剂、增充剂、润滑剂、染料、颜料、芳香剂等,但是所有此类组分均对核的密度有贡献,并且必须相应地进行选择。核可以包含捕获的空气或其他气体的囊,所述囊降低了核的密度。核可以包含酶、或酶可以被涂覆到包含或不包含酶的核上。

[0174] 颗粒的标称直径和尺寸分布不是关键的,但是可以进行定制以适应制造、性能、安全性、以及其他要求。具有酶/活性物涂层的较小的颗粒通常具有较高的有效负载与核重量比,但是更容易雾化。出于呼吸道安全性原因,应避免小于  $10\mu\text{m}$  并且尤其小于  $5\mu\text{m}$  的颗粒。小于约  $40\mu\text{m}$  的颗粒是人眼不可见的。较大的颗粒,例如大于约  $100\mu\text{m}$ 、 $150\mu\text{m}$ 、或甚至  $200\mu\text{m}$ , 是人眼可见的并且可以被着以亮色,使得它们在酶悬浮液中是显著可见的。示例性尺寸范围是  $50-100\mu\text{m}$ 、 $50-150\mu\text{m}$ 、 $100-150\mu\text{m}$ 、 $100-200\mu\text{m}$ 、 $150-250\mu\text{m}$ 、 $200-250\mu\text{m}$ 、 $200-300\mu\text{m}$ 、 $250-300$

$\mu\text{m}$ 、300–350 $\mu\text{m}$ 、300–400 $\mu\text{m}$ 、350–500 $\mu\text{m}$ 、400–550 $\mu\text{m}$ 等。在一些情况下,尺寸分布范围是窄的,使得颗粒在尺寸上是均匀的。在一些情况下,尺寸分布不是关键的。

[0175] 优选地,在用至少一体积的水稀释少水液体组合物之后,核在15min内、10min内、5min内、3min内、2min内、或甚至1min内溶解或分散于水中。在人眼不可见的较小的核(例如小于约40 $\mu\text{m}$ )的情况下,在清洁应用(例如洗衣循环)期间核溶解不是关键的,但是它们优选地是可生物降解的,使得它们不会在环境中累积。

### [0176] 2. 具有密度调节剂的核

[0177] 还可以通过掺入密度调节剂来调节总体颗粒密度。密度调节剂本身可以包含在核中、或在涂层中提供。密度调节剂本身可以包含在核中、或在酶/活性物层或涂层中提供。在酶/活性物层或涂层中提供密度调节剂的优势是可以简单地通过改变在随后施用的涂层中的密度调节剂的量来微调预先选择的核以使用在给定的少水组合物中。

[0178] 示例性密度调节剂是具有小于 $1\text{g}/\text{cm}^3$ 的密度的材料,并且包括在其他小颗粒、高度多孔材料中的淀粉、纤维素纤维、硅藻土、羽毛颗粒、沸石(如用于分子筛分)、面粉、磨碎的植物衍生的片段(如玉米棒、大豆粗粉、玉米糖浆固体)。其他可接受的密度调节剂包括珍珠岩和气相二氧化硅(特别是已经过处理使得是疏水的气相二氧化硅)。已经发现,珍珠岩和淀粉尤其可用于通过流化床喷涂工艺制造具有小于700 $\mu\text{m}$ 的直径的大致球形的低密度细粒。其他可能的密度调节剂包括飞灰、硼硅酸盐玻璃中空球、熔融玻璃中空球、陶瓷中空球、塑料中空球、中空纤维(例如DACRON®(杜邦公司))、低密度形式的硅酸盐(如用作用于粉末的助流剂的硅铝酸钠)、低密度形式的二氧化硅(如用作用于粉末的助流剂的那些)、锯屑、和/或气凝胶碎片。

### [0179] 3. 具有低密度核的颗粒的特性

[0180] 通过以上提供的式定义低密度颗粒。在一些实施例中,颗粒具有小于 $1.6\text{g}/\text{cm}^3$ 、小于 $1.5\text{g}/\text{cm}^3$ 、小于 $1.4\text{g}/\text{cm}^3$ 、小于 $1.3\text{g}/\text{cm}^3$ 、或甚至小于 $1.2\text{g}/\text{cm}^3$ 的总体真密度(即颗粒的质量除以其体积,排除开孔和闭孔),例如为 $1.0\text{--}1.6\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $1.0\text{--}1.5\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $1.0\text{--}1.4\text{g}/\text{cm}^3$ 、 $1.0\text{--}1.3\text{g}/\text{cm}^3$ 、和 $1.0\text{--}1.2\text{g}/\text{cm}^3$ ,并且颗粒的总体真密度与它们旨在悬浮于其中的少水液体组合物的密度之间的差小于 $\pm 0.5\text{g}/\text{cm}^3$ 、小于 $\pm 0.4\text{g}/\text{cm}^3$ 、小于 $\pm 0.3\text{g}/\text{cm}^3$ 、小于 $\pm 0.2\text{g}/\text{cm}^3$ 、甚至小于 $\pm 0.1\text{g}/\text{cm}^3$ 或甚至小于 $\pm 0.05\text{g}/\text{cm}^3$ 。这使得颗粒保持基本上悬浮于液体组合物中,而没有如对于常规颗粒典型的那样从悬浮液中落下。可以如在实例3中描述的计算真密度。如以上提及的,颗粒可以是足够大的,以至是人眼可见的,例如用以补充它们旨在溶解于其中的少水组合物的外观,或可以是足够小的,以至是人眼不可见的。在颗粒旨在是可见的情况下,它们可以包含染料和颜料。

[0181] 当存在于液体悬浮液中时,对于在 $25^\circ\text{C}$ 下储存的至少第一个30天,酶以小于1克/升溶解在载体液体中,并且小于20%的酶溶解在载体液相内。当用至少一体积的水稀释悬浮液中的颗粒时,酶是具有催化活性的,并且在稀释的几分钟内展现出它们原始催化潜能的大部分。在一些实施例中,在小于1、小于2、小于3、小于4、或小于5分钟内在预先选择的温度下,酶展现出至少约50%、60%、70%、80%、90%、95%或基本上全部的它们的原始催化潜能。

### [0182] III. 颗粒的制备

[0183] 本发明的颗粒可以通过颗粒产生领域中的技术人员已知的方法制造,所述方法包

括但不限于流化床涂覆、造粒、喷雾干燥、鼓式制粒、高剪切团聚、或这些技术的组合。最优选地,通过流化床喷涂工艺(如下文例示的)制造细粒。

[0184] IV. 含有液体酶悬浮液的组合物

[0185] 本发明的颗粒可以被包含在少水组合物中,如用于清洁、消毒、去污、纺织品加工、饲料、和食品的那些。组合物可以含有按重量计5%-20%的水。在一些实施例中,含有酶悬浮液的组合物含有按重量计约5%-10%、10%-15%、或15%-20%中的任一项(w/w)的水。颗粒可以悬浮于其中的示例性液体衣物洗涤剂组合物包括但不限于 **PUREX®** ULTRAPACKS (汉高公司 (Henkel))、**FINISH®** QUANTUM (利洁时公司 (Reckitt Benckiser))、**CLOROX™** 2PACKS (高乐士公司 (Clorox))、**OXICLEAN MAX FORCE POWER PAKS** (杜威公司 (Church&Dwight))、**TIDE®** STAIN RELEASE、**CASCADE®** ACTIONPACS、**TIDE®**和**ARIEL®** PODS™和**GAIN FLINGS** (宝洁公司 (Procter&Gamble))、**ALL™** MIGHTY PACS (太阳产品公司 (Sun Products))、**KIRKLAND SIGNATURE™** ULTRACLEAN PACS™。

[0186] 存在于低密度颗粒中的受关注的一种或多种酶在37℃下在少水组合物中稳定持续至少9天,并且当用至少一体积的水稀释少水组合物时是具有催化活性的。在一些实施例中,受关注的酶在25℃下在少水中稳定持续约2周、1个月、2个月、或3个月或更长,并且在水中稀释时展现出至少约50%、60%、70%、80%、90%、95%或基本上全部的其初始催化潜能。

[0187] 在少水组合物是洗涤剂组合物的情况下,其可以含有一种或多种表面活性剂、助洗剂、漂白剂、漂白剂前体、漂白活化剂、酶稳定剂、络合剂、螯合剂、泡沫调节剂、腐蚀抑制剂、抗静电剂、染料、香料、杀菌剂、杀真菌剂、和活化剂、以及典型地发现于衣物、餐具清洗(包括自动和手动餐具洗涤)和其他清洁组合物中的任何其他成分。

[0188] 在一些实施例中,洗涤剂组合物不含有硼或硼酸盐。在一些实施例中,洗涤剂含有低水平(例如亚毫米的)的钙。在一些实施例中,洗涤剂组合物含有低水平的(例如亚毫米的)第IV周期的金属,例如K、Ca、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn。

[0189] V. 使用方法

[0190] 本发明的颗粒可以用于要求来自少水液体组合物的酶促活性的任何应用中,在使用中所述少水液体组合物旨在预先用至少一体积的水稀释。稀释后,在经稀释的组合物中,至少约50%、60%、70%、80%、90%、或95%的酶是可溶的并且是具有催化活性的。

[0191] 在一些实施例中,应用是清洁,并且在桶或其他容器(包括待清洁的容器)中进行活化。在衣物洗涤剂组合物的情况下,典型地在洗涤机器中进行活化。在餐具洗涤洗涤剂组合物的情况下,典型地在餐具洗涤剂中进行活化。在纺织品组合物的情况下,典型地在合适的浴中进行活化。在食品、饮料或饲料的情况下,在需要将活性酶递送到施用位点的地方进行活化。

[0192] 颗粒作为清洁组合物(如洗涤剂组合物,例如衣物洗涤剂组合物或餐具洗涤洗涤剂组合物)的组分是特别有用的。尤其优选的是液体衣物洗涤剂组合物。此类清洁组合物典型地包含清洁辅料、或优选清洁辅料的组合。典型地,清洁辅料将以从0.001至99.9wt%、更典型地从0.01至80wt%的清洁辅料的量存在于组合物中。下文提供了以单位剂量衣物洗涤剂组合物的形式的具有合适的清洁辅料的示例性配制品。此类单位剂量配制品可以包含一

个、两个、三个或更多隔室。在每个隔室中的组分可以是不同或相同的,但是单位剂量配制品的总体/总(overall/total)成分具有相同的组成。

[0193] 以下实例旨在说明但不限制低密度颗粒。

[0194] 实例

[0195] 实例1

[0196] 少水洗涤剂组合物中的颗粒团聚的评估

[0197] 将10g的衣物洗涤剂添加至透明的15ml试管中。添加并混合约0.2g的颗粒以形成充分分散的悬浮液。将所述管置于立式圆筒形混合机(end-over-end mixer)上,并在室温(即25℃)下以低RPM旋转,这表示在制造和储存条件下的标称运动。7天后视觉上评定团聚程度。理想的结果是,所有颗粒均保持为不与任何其他颗粒结合的单个颗粒。较不理想的结果包括观察到少量颗粒的集聚。最不理想的结果是数十个至数百个或更多颗粒一起的团聚。

[0198] 实例2

[0199] 测量蛋白酶活性的N-琥珀酰-L-丙氨酰-L-丙氨酰-L-脯氨酰-L-苯基-对-硝基苯胺(AAPF-pNA)测定

[0200] 使用以下试剂溶液:

[0201] AAPF底物储备液:溶解于二甲亚砜(DMSO)中的160mM(即,100mg/mL) suc-AAPF-pNA,稳定性缓冲液:100mM MES(pH 5.5)和0.005%v/v Tween 80(可任选地包含10mM CaCl<sub>2</sub>),活性缓冲液:100mM Tris(pH 8.5或8.6)和0.005%v/v Tween-80(可任选地包含10mM CaCl<sub>2</sub>),测定溶液(以1:100稀释到活性缓冲液中的底物储备液):在100mM Tris(pH 8.5或8.6)中的1.6mM AAPF-pNA。

[0202] 程序:通过在稳定性缓冲液中制成纯化的枯草杆菌蛋白酶(0.5-10ppm)的系列稀释液来制备酶标准曲线。制备测试样品以在稳定性缓冲液中实现1-10ppm之间的蛋白酶浓度。通过用活性缓冲液以1:100稀释底物储备液来制备测定溶液。将200μL测定溶液添加至96孔板的每个孔中。

[0203] 通过将10μl经稀释的蛋白酶溶液添加至测定溶液板的每个孔中来进行测定。将所述溶液混合10秒,并且在410nm下在微孔板读取器中在25℃下(以动力学模式设定,在2分钟内)测量吸光度变化。将枯草杆菌蛋白酶活性(AU=活性单位)计算为mOD<sub>415</sub>/min x稀释系数,其中mOD<sub>410</sub>是指如在410nm下测量的放大1000倍的反应产物的光密度。

[0204] 实例3

[0205] 制造并测试颗粒

[0206] 使用标准流化床方法制造各种颗粒,如在US 6413749中例示的,所述专利通过引用并入。颗粒类型(标记为A-C)汇总在表2中。指示了核(核)的组成、有或没有粘合剂和/或有或没有密度调节剂的含有一种或多种酶的第一涂层(SP1)的组成、第二涂层(SP2)的组成,第三涂层(SP3)(如果适用)的组成。所有颗粒均包含指示量的变体枯草杆菌蛋白酶(enz),其允许使用如实例2中描述的标准化的蛋白酶活性测定来测量蛋白质释放和泄漏。

[0207] 表2. 颗粒的说明

	颗粒	核	SP1	SP2	SP3
[0208]	A	迷你蔗糖	22.5% enz、 2% PVA 10%淀粉	5% PVA、4% TiO <sub>2</sub> 、 1% Neodal	2% PVA 1% Flexiverse Green
	B	迷你蔗糖	22.5% enz、2%	5% PVA、4% TiO <sub>2</sub> 、	2% 巴西棕榈蜡
	颗粒	核	SP1	SP2	SP3
[0209]		糖	PVA 10%淀粉	1% Neodal	1% Flexiverse Green
	C	迷你蔗糖	22.5% enz、2% PVA 10%淀粉	6% PVA、4% 滑 石、 2% 巴西棕榈蜡 1% Flexiverse Green	

[0210] 在少水衣物洗涤剂中测试了颗粒的团聚性能标准。在评估期之后，颗粒B保持为悬浮在洗涤剂中的单个颗粒，而颗粒A具有显著的团聚，其中数十至数百个颗粒团聚在一起并且不再悬浮于洗涤剂中。预期颗粒C具有中间特性。

[0211] 本文引用的所有出版物、专利和专利申请均出于所有目的通过引用以其全文特此并入，并且其程度就像明确且单独地指出每一个单独的出版物、专利或专利申请通过引用并入一样。