(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 693 33 065 T2** 2004.04.01

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 675 944 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **693 33 065.1**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/DK93/00442**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **94 902 653.8**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 94/014940**
(86) PCT-Anmeldetag: **22.12.1993**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **07.07.1994**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **11.10.1995**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **25.06.2003**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **01.04.2004**

(51) Int Cl.[7]: **C11D 3/386**
C12N 9/20

(30) Unionspriorität:

152992	**22.12.1992**	**DK**
9693	**28.01.1993**	**DK**
44293	**20.04.1993**	**DK**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
Novozymes A/S, Bagsvaerd, DK

(74) Vertreter:
Patent- und Rechtsanwälte Bardehle, Pagenberg, Dost, Altenburg, Geissler, 81679 München

(72) Erfinder:
HASHIDA, Miyoko, Urayasu-shi, Chiba-ken 279, JP; IKEGAMI, Naoko, Ichikawa-shi, Chiba-ken 272, JP; ABO, Masanobu, Funabashi-shi, Chiba-ken 274, JP; TAKAMURA, Yukiko, Funabashi-shi, Chiba-ken 273, JP

(54) Bezeichnung: **ALKALISCHE LIPASE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

TECHNISCHES GEBIET

[0001] Diese Erfindung betrifft eine neue stellungsunspezifische alkalische Lipase, die z. B. in Detergenzien nützlich ist. Diese Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung der neuen Lipase und eine die neue Lipase umfassende Detergenz-Zusammensetzung.

FACHGEBIET

[0002] In den letzten 5 Jahren wurde eine mikrobielle Lipase, die von dem Pilz Humicola lanuginosa abgeleitet ist, in viele im Handel erhältliche Detergenzmarken eingebracht, um die Entfernung von Fettflecken zu verbessern. Auch wurden andere mikrobielle Lipasen zur Verwendung in Detergenzien, z. B. Bakterienlipase von Pseudomonas cepacia vorgeschlagen (US 4,876,024).
[0003] Viele Detergenzien sind mit einem hohen pH-Wert in Lösung alkalisch (z. B. um pH 10) und enthalten einen Gerüststoff zum Binden von Ca^{++}-Ionen. Es ist die Aufgabe dieser Erfindung, eine Lipase mit hoher Aktivität bei hohem pH-Wert in Abwesenheit von Ca^{++} bereitzustellen. Die Lipase sollte stellungsunspezifisch sein, damit sie alle Esterbindungen in Triglyceriden hydrolysieren kann.
[0004] WO 89/01032 beschreibt eine stellungsunspezifische Lipase von Pseudomonas cepacia. US 3,431,175 beschreibt eine Lipoproteinlipase, u. a. von Streptomyces parvus, wobei diese auf eine Olivenölemulsion nicht aktiv ist.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0005] Überraschend fanden wir, dass eine hoch alkalische, stellungsunspezifische Lipase von Stämmen von Streptomyces, Gruppe 1, erhalten werden kann. Stämme der Gruppe 1 von Streptomyces waren vorher zur Herstellung von Lipase nicht bekannt.
[0006] Demzufolge stellt die Erfindung in ihrem ersten Aspekt eine Lipasezubereitung bereit, welche

(1) stellungsunspezifisch ist,
(2) eine Aktivität bei pH 10 besitzt, die mehr als 50% der Aktivität bei dem optimalen pH ist, wenn beide Aktivitäten in einem Ca^{++}-freien Test mit Olivenöl als Substrat und Polyvinylalkohol als Emulgator bei 40°C für eine Dauer von 20 Minuten bestimmt werden, und
(3) herstellbar ist durch Züchten von einem Stamm von Streptomyces, Gruppe 1.

[0007] In einem anderen Aspekt stellt die Erfindung eine Lipase bereit, welche

(1) stellungsunspezifisch ist,
(2) eine optimale Aktivität bei einem pH im Bereich von 9–11 besitzt, wenn sie mit Olivenöl als Substrat und Polyvinylalkohol als Emulgator bei 40°C für eine Dauer von 20 Minuten bestimmt wird, und
(3) mit einer extrazelllulären Lipase immunologisch identisch ist, die von einem Stamm von Streptomyces, Gruppe 1, abstammt.

[0008] In einem dritten Aspekt stellt die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der Lipasezubereitung der Erfindung bereit, umfassend das Züchten eines Lipase-herstellenden Stammes von Streptomyces, Gruppe 1 in einem geeigneten Nährmedium, enthaltend Kohlenstoff- und Stickstoffquellen und anorganische Salze, gefolgt von einer Rückgewinnung des gewünschten Enzyms.
[0009] In einem weiteren Aspekt stellt die Erfindung eine die Lipase der Erfindung umfassende Detergenz-Zusammensetzung bereit.

KURZBESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0010] Die vorliegende Erfindung wird unter Bezugnahme auf die beiliegenden Zeichnungen veranschaulicht, in welchen
[0011] **Abb.** 1-7 pH-Profile für die Aktivität von Lipasezubereitungen der Erfindungen zeigen, die von den folgenden Stämmen abgeleitet sind: S griseus LB501 (DSM 7349), S. griseus LB 502 (DSM 7350), S. coelicolor LB 511 (FERM BP-4236), S. coelicolor LB512 (FERM BP-4237), S. griseus LB 524 (DSM 8672, S. coelicolor N 2293 (ATCC 23899) und S. parvus N 2300 (ATCC 12433). Weitere Einzelheiten sind in Beispiel 6 angegeben.
[0012] **Abb.** 8 zeigt Chromatogramme von Latroscan nach der Hydrolyse von Olivenöl mit einer Lipasezubereitung der Erfindung (von LB 502) und einer stellungsspezifischen Lipase des Fachgebiets (Lipolase). Weitere Einzelheiten sind in Beispiel 8 angegeben.

[0013] **Abb.** 9 zeigt die Wirkung einer Ca^{++}-Zugabe auf die Aktivität einer Lipasezubereitung der Erfindung. Weitere Einzelheiten sind in Beispiel 11 angegeben.

DETAILLIERTE OFFENBARUNG DER ERFINDUNG

Mikroorganismen

[0014] Der in dieser Erfindung verwendete Mikrobenstamm ist ein Bakterium der Reihe Actinomycetales, das zu Streptomyces, Gruppe 1, wie von S. T. Williams et al. Journal of General Microbiology (1983), 129, 1743–1813 definiert, gehört.

[0015] Innerhalb der Streptomyces, Gruppe 1, sind die folgenden Untergruppen, Spezies und Stämme bevorzugt. Abarten und Mutanten davon, die die vorstehend beschriebene Lipase herstellen können, können ebenso in der Erfindung verwendet werden.

Untergruppe	Spezies	Stamm
1A	*S. albidoflavus*	
	S. coelicolor	ATCC 23899
		FERM BP-4236
		FERM BP-4237
	S. limosus	ATCC 19778 (Artenstamm)
1B	*S. alboviridis*	ATCC 25425 (Artenstamm)
	S. griseus	ATCC 23345 (Artenstamm)
		DSM 7349
		DSM 7350
		DSM 8672
	S. parvus	ATCC 12433 (Artenstamm)
	S. setonii	ATCC 25497 (Artenstamm)
1C	*S. nitrosporeus*	ATCC 12769 (Artenstamm)

[0016] Die vorstehend erwähnten ATCC-Stämme sind frei von der American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland, USA erhältlich.

[0017] Die folgenden Stämme wurden von den Erfindern unter den Kategorien des Budapester Vertrages in der Internationalen Anerkennung der Hinterlegung von Mikroorganismen zum Zweck von Patentverfahren hinterlegt. Die Stämme wurden wie nachstehend gezeigt eingeteilt.

Taxonomische Bezeichnung	Hinterlegungs-Nr.	Hinterlegungsdatum	Bezeichnung des Hinterlegers
S. griseus	DSM 7349	10. Dezember 1992	LB 501
S. griseus	DSM 7350	10. Dezember 1992	LB 502
S. griseus	DSM 8672	2. November 1993	LB 524
S. coelicolor	FERM BP-4236	10. März 1993	LB 511
S. coelicolor	FERM BP-4237	10. März 1993	LB 512

[0018] Hier gibt DSM eine Hinterlegung an, die bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSM), Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Deutschland, veranlasst wurde. FERM gibt eine Hinterlegung an, die bei dem National Institute of Bioscience and Human-Technology (NIBHT), Agency of Industrial Science and Technology, Ministry of International Trade and Industry, 1–3, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaragi-ken 305, Japan veranlasst wurde.

Stellungsspezifität von Lipase

[0019] Die Stellungsspezifität kann durch teilweise Hydrolyse eines Triglycerids und Analyse des gebildeten Diglycerids überprüft werden. Die Lipase dieser Erfindung bildet sowohl 1,3-Diglycerid als auch 1,2-Diglycerid und ist deshalb stellungsunspezifisch., d. h. sie reagiert mit allen drei Esterbindungen in einem Triglycerid.

Lipaseaktivität bei alkalischem pH-Wert

[0020] Die durch die Erfindung bereitgestellte Lipase (lipolytisches Enzym) ist hoch alkalisch. Sie ist dadurch gekennzeichnet, dass sie bei der Bestimmung in Gegenwart von Ca++ mit Olivenöl als Substrat und Polyvinylalkohol als Emulgator bei 40°C für eine Dauer von 20 Min. sie mehr als 50% (vorzugsweise mehr als 80%) ihrer optimalen Aktivität bei pH 10 aufweist.
[0021] In einer anderen Ausführungsform kann sie dadurch gekennzeichnet sein, dass sie bei Bestimmung mit Olivenöl als Substrat und Polyvinylalkohol als Emulgator bei 40°C für eine Dauer von 20 Min. eine optimale Aktivität bei pH 9 oder mehr aufweist. Vorzugsweise liegt das Optimum des pH-Werts im Bereich von 9–11, z. B. bei pH 9,5 oder mehr, besonders bevorzugt bei pH 10 oder mehr, z. B. im Bereich von pH 9,5 bis pH 10,5.

Lipaseaktivität in Gegenwart eines Detergenz

[0022] Bevorzugte Lipasen der Erfindung bewahren hohe Aktivität in Gegenwart eines Detergenz. Sie können dadurch gekennzeichnet sein, dass sie eine Aktivität in einer Detergenzlösung bei pH 10,2 aufweisen, was mehr als 50% der Aktivität in Glycin oder Diethanolaminpuffer bei pH 10 ist, wenn beide Aktivitäten mit Olivenöl als Substrat bei einer Reaktionszeit von 60 Minuten gemessen werden, wobei die Detergenzlösung aus 0,35 g/l linearem Alkylbenzolsulfonat, 0,15 g/l Alkoholethoxylat, 1,25 g/l Natriumtripolyphosphat, 1,00 g/l Natriumsulfat, 0,45 g/l Natriumcarbonat und 0,15 g/l Natriummetasilicat besteht.
[0023] In einer anderen Ausführungsform können die bevorzugten Lipasen dadurch gekennzeichnet sein, dass sie eine Aktivität in einer Detergenzlösung bei pH 7,5 aufweisen, was mindestens 75% der Aktivität in Puffer bei demselben pH-Wert ist, wenn beide Aktivitäten mit p-Nitrophenylbutyrat als Substrat bei 40°C und einer Reaktionszeit von 30 Minuten gemessen werden, wobei der Puffer 0,2 M Tris-HCl ist und die Detergenzlösung 0,1 % Alkoholethoxylat oder lineares Alkylsulfonat ist.
[0024] Eine Lipase mit der angegebenen Aktivität in einer Detergenzlösung kann von Streptomyces, Untergruppe 1A oder 1B, z. B. von den Spezien S. griseus, S. coelicolor oder S. parvus, insbesondere von dem Stamm S. griseus DSM 7349, DSM 7350, DSM 8672, S. coelicolor FERM BP-4236, FERM BP-4237, ATCC 23899 oder S. parvus ATCC 12433 erhalten werden.

Lipaseaktivität in Abwesenheit von Ca^{++}

[0025] In einer besonders bevorzugten Ausführungsform weist die Lipase der Erfindung eine Aktivität in Abwesenheit von Ca++ von mehr als 50% der Aktivität bei 50 mM Ca^{++} auf, wenn beide Aktivitäten durch das nachstehend beschriebene Olivenöl/PVA-Verfahren gemessen werden.

Immunochemische Eigenschaften

[0026] Stellungsunspezifische Lipasen mit immunochemischen Eigenschaften, die mit denjenigen einer extrazellulären, von Lipase, die von einem Stamm von Streptomyces, Gruppe 1 abstammt, identisch oder teilweise identisch ist und die angegebene Aktivität bei hohem pH-Wert aufweisen, liegen im Rahmen der Erfindung. Die immunochemischen Eigenschaften können durch immunologische Identitätstests durch Vernetzungsreaktionen bestimmt werden. Die Identitätstests können durch das bekannte Ouchterlony-Doppelimmunodiffusionsverfahren oder durch reihenvernetzte Immunoelektrophorese nach I. M. Roitt, Immunology, Gower Medical Publishing (1985) und N. H. Axelsen, Handbook of Immunoprecipitation-in-Gel Techniques, Blackwell Scientific Publications (1983) Kapitel 5 und 14 durchgeführt werden. Die Begriffe immunochemische Identität (antigene Identität) und teilweise immunochemische Identität (teilweise antigene Identität) sind in Axelsen, vorstehend, Kapitel 5, 19 und 20 und Roitt, vorstehend, Kapitel 6 beschrieben.
[0027] Monospezifisches Antiserum zur Verwendung in immunologischen Tests kann z. B. in Ratten gegen

eine gereinigte Lipase, z. B. wie in Kapitel 41 von N. H. Axelsen, vorstehend, oder Kapitel 23 von N. H. Axelsen et al., A Manual of Quantitative Immunoelektrophoresis, Blackwell Scientific Publications (1973) beschrieben, angereichert werden.

Bestimmung der Lipaseaktivität

[0028] Die Lipaseaktivität wird unter Verwendung von mit Polyvinylalkohol emulgiertem Olivenöl als Substrat bestimmt (Olivenöl und 2%ige PVA-Lösung in einem Volumenverhältnis von 1 : 3; PVA, n = 1750 ± 50). Ein Gemisch aus 0,1 ml Lipaselösung, 0,2 ml 200 mM Diethanolaminpuffer und 0,2 ml Olivenöl/PVA-Emulsion wird bei 40°C für eine Dauer von 10 oder 20 Minuten gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 0,1 ml 1 N HCl beendet.
[0029] Nach der Beendigung werden dem Reaktionsmedium 2,0 ml eines 1 : 1-Gemischs von Chloroform und Methanol, enthaltend 0,1% Lithocholinsäure als interner Standard, zugesetzt, wobei das Medium dann kräftig gemischt wird. Nach der Ablagerung wird die Lösungsmittelschicht entfernt und der Bestimmung auf freigesetzte Fettsäuren durch DSC-FID-Analyse (Latroscan™) unterzogen.

Lipaseherstellung

[0030] Die Lipase der Erfindung kann durch Züchten eines der vorstehend beschriebenen Mikroorganismen in einem geeigneten Nährmedium, enthaltend Kohlenstoff- und Stickstoffquellen und anorganische Salze, gefolgt von der Gewinnung der Lipase, hergestellt werden.
[0031] Die Lipase kann auch durch rekombinierte DNA-Technologie durch auf dem Fachgebiet an und für sich bekannte Verfahren, z. B. durch Isolieren eines die Lipase kodierenden DNA-Fragments, Kombinieren des DNA-Fragements mit (einem) geeigneten Exprimierungsignal(en) in einem geeigneten Vektor, Einbringen des Vektors oder von Teilen davon in einen geeigneten Wirt (d. h. ein Escherichia coli, ein Mitglied des Genus Bacillus, Streptomyces oder Saccharomyces, oder einen Faserpilz, vorzugsweise ein Miglied des Genus Aspergillus) entweder als selbstreplizierendes Plasmid oder integriert in das Chromosom, Züchten des Wirtsorganismus' unter Bedingungen, die zur Exprimierung der Lipase führen, und Wiedergewinnung der Lipase aus dem Kulturmedium erhalten werden.
[0032] Nach dem Züchten kann die Lipase aus der Kulturbrühe durch herkömmliche Verfahren wie hydrophobe Chromatografie, Ionenaustauschchromatographie und Kombinationen davon gewonnen und gereinigt werden.

Lipaseanwendung

[0033] Die Lipase der Erfindung kann in herkömmlichen Lipaseanwendungen, insbesondere bei hohem pH-Wert, z. B. in Wasch- und Geschirrspüldetergenzien bei wirtschaftlichen und industriellen Reinigungen und in der Lederverarbeitung verwendet werden.
[0034] Die Lipase der Erfindung ist stellungsunspezifisch (d. h. sie kann alle drei Esterbindungen in einem Triglycerid hydrolysieren) und kann auch für die gesamte Hydrolyse von Fetten und Ölen verwendet werden. Geeignete Bedingungen können pH 7, 60°C sein, da die Lipase um einen neutralen pH-Wert wärmestabiler ist.

Waschdetergenz-Zusammensetzungen

[0035] Erfindungsgemäß kann die Lipase typischerweise ein Bestandteil einer Detergenz-Zusammensetzung sein. Als solche kann sie in einer Detergenz-Zusammensetzung in Form eines nicht staubenden Granulats, einer stabilisierten Flüssigkeit oder eines geschützten Enzyms beinhaltet sein. Nicht staubende Granulate können z. B. wie in U.S. 4,106,991 und 4,661,452 (beide an Novo Industri A/S) offenbart hergestellt und gegebenenfalls durch auf dem Fachgebiet bekannte Verfahren beschichtet werden. Beispiele für wachsartige Beschichtungsmaterialien sind Poly(ethylenoxid)-Produkte (Polyethylenglycol, PEG) mit mittleren Molekulargewichten von 1000 bis 20000, ethoxylierte Nonylphenole mit 16 bis 50 Ethylenoxideinheiten, ethoxylierte Fettalkohole, in welchen der Alkohol 12 bis 20 Kohlenstoffatome enthält und in welchen 15 bis 80 Ethylenoxideinheiten vorliegen, Fettalkohole, Fettsäuren und Mono- und Di- und Triglyceride von Fettsäuren. Beispiele für filmbildende Beschichtungsmaterialien, die zur Anwendung durch Flüssigbetttechniken geeignet sind, sind in Patent GB 1483591 angegeben. Flüssige Enzymzubereitungen können z. B. durch Zugabe eines Polyols wie Polypropylenglycol, eines Zuckers oder Zuckeralkohols, von Milchsäure oder Borsäure gemäß etablierten Verfahren stabilisiert werden. Andere Enzymstabilisatoren sind auf dem Fachgebiet bekannt. Geschützte Enzyme können gemäß den in EP 238,216 offenbarten Verfahren hergestellt werden.
[0036] Die Detergenz-Zusammensetzung der Erfindung kann in jeder beliebigen Form, z. B. als Pulver, Körnchen, Paste oder Flüssigkeit vorliegen. Ein flüssiges Detergenz kann wässrig, typischerweise enthaltend bis

zu 70% Wasser und 0–30% organisches Lösungsmittel, oder nichtwässrig sein.

[0037] Die Detergenz-Zusammensetzung umfasst ein oder mehrere oberflächenaktive Stoffe, wobei jeder davon anionisch, nichtionisch, kationisch oder zwitterionisch sein kann. Das Detergenz enthält gewöhnlich 0–50% anionischen oberflächenaktiven Stoff wie lineares Alkylbenzolsulfonat (LAS), alpha-Olefinsulfonat (AOS), Alkylsulfat (Fettalkoholsulfat) (AS), Alkoholethoxysulfat (AEOS oder AES), sekundäre Alkansulfonate (SAS), alpha-Sulfofettsäuremethylester, Alkyl- oder Alkenylbernsteinsäure oder Seife. Es kann auch 0–40% nichtionischen oberflächenaktiven Stoff wie Alkoholethoxylat (AEO oder AE), carboxylierte Allkoholethoxylate, Nonylphenolethoxylat, Alkylpolyglycosid, Alkyldimethylaminoxid, ethoxyliertes Fettsäuremonoethanolamid, Fettsäuremonoethanolamid, Alkyl(Nmethyl)glucoseamid oder Polyhydroxyalkylfettsäureamid (z. B. wie in WO 92/06154 beschrieben) enthalten.

[0038] Die Detergenz-Zusammensetzung kann zusätzlich ein oder mehrere andere Enzyme wie Amylase, Cutinase, Protease, Cellulase, Peroxidase und Oxidase umfassen.

[0039] Das Detergenz kann 1–65% eines Detergenzgerüststoffs oder Komplexbildners wie Zeolith, Diphosphat, Triphosphat, Phosphonat, Citrat, Nitrilotriessigsäure (NTA), Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Diethylentriaminpentaessigsäure (DTMPA), Alkyloder Alkenylbernsteinsäure, lösliche Silikate oder geschichtete Silikate (z. B. SKS-6 von Hoechst) enthalten. Das Detergenz kann auch ohne Gerüststoff, d. h. im Wesentlichen frei von einem Detergenzgerüststoff sein.

[0040] Das Detergenz kann ein oder mehrere Polymere umfassen. Beispiele sind Carboxymethylcellulose (CMC), Poly(vinylpyrrolidon) (PVP), Polyethylenglycol (PEG), Poly(vinylalkohol) (PVA), Polycarboxylate wie Polyacrylate, Malein-/Acrylsäure-Copolymere und Laurylmethacrylat/Acrylsäure-Copolymere.

[0041] Das Detergenz kann ein Bleichsystem enthalten, das eine H_2O_2-Quelle wie Perborat oder Percarbonat umfassen kann, die dann mit einem Persäure-bildenden Bleichaktivator wie Tetraacetylethylendiamin (TAED) oder Nonanoyloxybenzolsulfonat (NOBS) kombiniert werden kann. In einer anderen Ausführungsform kann das Bleichsystem Peroxysäuren z. B. des Amid-, Imid- oder Sulfon-Typs umfassen.

[0042] Die Enzyme der Detergenz-Zusammensetzung der Erfindung können unter Verwendung von herkömmlichen Stabilisatoren, z. B. eines Polyols wie Propylenglycol oder Glycerin, eines Zuckers oder Zuckeralkohols, von Milchsäure, Borsäure oder eines Borsäurederivats wie z. B. eines aromatischen Boratesters stabilisiert werden, und die Zusammensetzung kann wie z. B. in WO 92/19709 und WO 92/19708 beschrieben zubereitet werden.

[0043] Das Detergenz kann auch andere herkömmliche Detergenzzusätze wie z. B. Gewebeweichmacher, einschließlich Tone, Schäumungsverstärker, Schaumunterdrücker, Antikorrosionsmittel, Schmutzsuspensionsmittel, Mittel gegen Wiederablagerung von Schmutz, Farbstoffe, Bakterizide, optische Aufheller oder Duftstoff enthalten.

[0044] Der pH-Wert (gemessen in wässriger Lösung bei Verwendungskonzentration) ist gewöhnlich neutral oder alkalisch, z. B. 7–11.

[0045] Besondere Formen der Detergenz-Zusammensetzungen innerhalb des Rahmens der Erfindung schließen ein:

1) Eine Detergenz-Zusammensetzung, die als Granulat mit einer Schüttdichte von mindestens 600 g/l zubereitet wurde, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	7–12%
Alkoholethoxysulfat (z. B. $C_{12–18}$-Alkohol, 1–2 EO) oder Alkylsulfat (z. B. $C_{18–18}$)	1–4%
Alkoholethoxylat (z. B. $C_{14–15}$-Alkohol, 7 EO)	5–9%
Natriumcarbonat (als Na_2CO_3)	14–20%
lösliches Silicat (als $Na_2O·2SiO_2$)	2–6%
Zeolith (als $NaAlSiO_4$)	15–22%
Natriumsulfat (als Na_2SO_4)	0–6%
Natriumcitrat/Zironensäure (als $C_6H_5Na_3O_7/C_8H_8O_7$)	0–15%
Natriumperborat (als $NaBO_3·H_2O$)	11–18%
TADE	2–6%
Polymere (z. B. Malein-/Acrylsäure-Carboxymethylcellulose	0–2%
Copolymer, PVP, PEG)	0–3%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze(z. B. Schaumunterdrücker, Duftstoff, optischer Aufheller, Lichtbleicher)	0–5%

2) Eine Detergenz-Zusammensetzung, die als Granulat mit einer Schüttdichte von mindestens 600 g/l zubereitet wurde, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	6–11%
Alkoholethoxysulfat (z. B. $C_{12–18}$-Alkohol, 1–2 EO) oder Alkylsulfat (z. B. $C_{16–18}$)	1–3%
Alkoholethoxylat (z. B. $C_{14–15}$-Alkohol, 7 EO)	5–9%
Natriumcarbonat (als Na_2CO_3)	15–21%
lösliches Silicat (als $Na_2O·2SiO_2$)	1–4%
Zeolith (als $NaAlSiO_4$)	24–34%
Natriumsulfat (als Na_2SO_4)	4–10%
Natriumcitrat/Zironensäure (als $C_6H_5Na_3O_7/CgH_8O_7$)	0–15%
Carboxymethylcellulose	0–2%
Polymere (z. B. Malein-/Acrylsäure-Copolymer, PVP, PEG)	1–6%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze(z. B. Schaumunterdrücker, Duftstoff)	0–5%

3) Eine Detergenz-Zusammensetzung, die als Granulat mit einer Schüttdichte von mindestens 600 g/l zubereitet wurde, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	5–9%
Alkoholethoxylat (z. B. $C_{12–15}$-Alkohol, 7 EO)	7–14%
Seife als Fettsäure (z. B. $C_{16–22}$)	1–3%
Natriumcarbonat (als Na_2CO_3)	10–17%
lösliches Silicat (als $Na_2O·2SiO_2$)	3–9%
Zeolith (als $NaAlSiO_4$)	23–33%
Natriumsulfat (als Na_2SO_4)	0–4%
Natriumperborat (als $NaBO_3·H_2O$)	8–16%
TADE	2–8%
Phosphonat (z. B. EDTMPA)	0–1%
Carboxymethylcellulose	0–2%
Polymere (z. B. Malein-/Acrylsäure-Copolymer, PVP, PEG)	1–3%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze(z. B. Schaumunterdrücker, Duftstoff, optische Aufheller)	0–5%

4) Eine Detergenz-Zusammensetzung, die als Granulat mit einer Schüttdichte von mindestens 600 g/l zubereitet wurde, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	8–12%
Alkoholethoxylat (z. B. $C_{12–15}$-Alkohol, 7 EO)	10–25%
Natriumcarbonat (als Na_2CO_3)	14–22%
lösliches Silicat (als $Na_2O·2SiO_2$)	1–5%
Zeolith (als $NaAlSiO_4$)	25–35%
Natriumsulfat (als Na_2SO_a)	0–10%
Carboxymethylcellulose	0–2%
Polymere (z. B. Malein-/Acrylsäure-Copolymer, PVP, PEG)	1–3%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze(z. B. Schaumunterdrücker, Duftstoff)	0–5%

5) Eine wässrige flüssige Detergenz-Zusammensetzung, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	15–21%
Alkoholethoxylat (z. B. $C_{14–15}$-Alkohol, 7 EO oder $C_{12–15}$-Alkohol, 5EO)	12–18%
Seife als Fettsäure (z. B. Oleinsäure)	3–13%
Alkenylbernsteinsäure ($C_{12–14}$)	0–13%
Aminoethanol	8–18%
Zitronensäure	2–8%
Phosphonat	0–3%
Polymere (z. B. PVP, PEG)	0–3%
Borat (als B_4O_7)	0–2%
Ethanol	0–3%
Propylenglycol	8–14%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze(z. B. Dispersionsmittel, Schaumunterdrücker, Duftstoff, optische Aufheller)	0–5%

6) Eine wässrige strukturierte flüssige Detergenz-Zusammensetzung, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	15–21%
Alkoholethoxylat (z. B. $C_{12–15}$-Alkohol, 7 EO oder $C_{12–15}$-Alkohol, 5EO)	3–9%
Seife als Fettsäure (z. B. Oleinsäure)	3–10%
Zeolith (als $NaAlSiO_4$)	14–22%
Kaliumcitrat	9–18%
Borat (als B_4O_7)	0–2%
Carboxymethylcellulose	0–2%
Polymere (z. B. PEG, PVP)	0–3%
Haftpolymere wie z. B. Laurylmethacrylat/Acrylsäure-Copolymer; Molverhältnis 25 : 1, MG 3800)	0–3%
Glycerin	0–5%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze (z. B. Dispersionsmittel, Schaumunterdrücker, Duftstoff, optische Aufheller)	0–5%

7) Eine Detergenz-Zusammensetzung, die als Granulat mit einer Schüttdichte von mindestens 600 g/l zubereitet wurde, umfassend

Fettalkoholsulfat	5–10%
ethoxyliertes Fettsäuremonoethanolamid	3–9%
Seife als Fettsäure	0–3%
Natriumcarbonat (als Na_2CO_3)	5–10%
lösliches Silicat (als $Na_2O{\cdot}2SiO_2$)	1–4%
Zeolith (als $NaAlSiO_4$)	20–40%
Natriumsulfat (als Na_2SO_4)	2–8%
Natriumperborat (als $NaBO_3{\cdot}H_2O$)	12–18%
TADE	2–7%
Polymere (z. B. Malein-/Acrylsäure-Copolymer, PEG)	1–5%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze (z. B. optischer Aufheller, Schaumunterdrücker, Duftstoff)	0–5%

8) Eine Detergenz-Zusammensetzung, die als Granulat zubereitet wurde, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	8–14%
ethoxyliertes Fettsäuremonoethanolamid	5–11%
Seife als Fettsäure	0–3%
Natriumcarbonat (als Na_2CO_3)	4–10%
lösliches Silicat (als $Na_2O{\cdot}2SiO_2$)	1–4%
Zeolith (als $NaAlSiO_4$)	30–50%
Natriumsulfat (als Na_2SOa)	3–11%
Natriumcitrat (als $C_6H_5Na_3O_7$)	5–12%
Polymere (z. B. PVP, Malein-/ Acrylsäure-Copolymer, PEG)	1–5%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze (z. B. Schaumunterdrücker, Duftstoff)	0–5%

9) Eine Detergenz-Zusammensetzung, die als Granulat zubereitet wurde, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	6–12%
nichtionischen oberflächenaktiven Stoff	1–4%
Seife als Fettsäure	2–6%
Natriumcarbonat (als Na_2CO_3)	14–22%
Zeolith (als $NaAlSiO_4$)	18–32%
Natriumsulfat (als Na_2SO_4)	5–20%
Natriumcitrat (als $C_6H_5Na_3O_7$)	3–8%
Natriumperborat (als $NaBO3{\cdot}H_2O$)	4–9%
Bleichaktivator (z. B. NOBS oder TAED)	1–5%
Carboxymethylcellulose	0 –2%
Polymere (z. B. Polycarboxylat oder PEG)	1–5%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze (z. B. optische Aufheller, Duftstoff)	0–5%

10) Eine wässrige flüssige Detergenz-Zusammensetzung, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	15–23%
Alkoholethoxysulfat (z. B. $C_{12–15}$-Alkohol, 2–3 EO)	8–15%
Alkoholethoxylat (z. B. $C_{12–15}$-Alkohol, 7 EO oder $C_{12–15}$-Alkohol, 5EO)	3–9%
Seife als Fettsäure (z. B. Laurinsäure)	0–3%
Aminoethanol	1–5%
Natriumcitrat	5–10%
Hydrotrop (z. B. Natriumtoluolsulfonat)	2–6%
Borat (als B_4O_7)	0–2%
Carboxymethylcellulose	0–1%
Ethanol	1–3%
Propylenglycol	2–5%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze (z. B. Polymere, Dispersionsmittel, Duftstoff, optische Aufheller)	0–5%

11) Eine wässrige flüssige Detergenz-Zusammensetzung, umfassend

lineares Alkylbenzolsulfonat (berechnet als Säure)	20–32%
Alkoholethoxylat (z. B. $C_{12–15}$-Alkohol, 7 EO oder $OC_{12–15}$-Alkohol, 5 E)	6–12%
Aminoethanol	2–6%
Zitronensäure	8–14%
Borat (als B_4O_7)	1–3%
Polymer (z. B. Malein-/Acrylsäure-Copolymer, Haftpolymere wie z. B. Laurylmethacrylat/Acrylsäure-Copolymer und CMC)	0–3%
Glycerin	3–8%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze (z. B. Hydrotrope, Dispersionsmittel, Duftstoff, optische Aufheller)	0–5%

12) Eine Detergenz-Zusammensetzung, die als Granulat mit einer Schüttdichte von mindestens 600 g/l zubereitet wurde, umfassend

anionischen oberflächenaktiven Stoff (lineares Alkylbenzolsulfonat, Alkylsulfat, alpha-Olefinsulfonat, alpha-Sulfofettsäuremethylester, Alkansulfonate, Seife)	25–40%
nichtionischen oberflächenaktiven Stoff (z. B. Alkoholethoxylat	1–10%
Natriumcarbonat (als Na_2CO_3)	8–25%
lösliche Silicate (als $Na_2O{\cdot}2SiO_2$)	5–15%
Natriumsulfat (als Na_2SO_4)	0–5%
Zeolith (als $NaAlSiO_4$)	15–28%
Natriumperborat (als $NaBO_3{\cdot}4H_2O$)	0–20%
Bleichaktivator (TADE oder NOBS)	0–5%
Enzyme	0–5%
Begleitzusätze (z. B. Duftstoff, optische Aufheller)	0–3%

13) Wie in 1)–12) beschriebene Detergenz-Zubereitungen, wobei der Gehalt an linearem Alkylbenzolsulfonat oder ein Teil davon durch Alkylsulfat (C_{12}–C_{18}) ersetzt ist.
14) Wie in 1)–13) beschriebene Detergenz-Zubereitungen, die eine stabilisierte oder eingekapselte Persäure entweder als zusätzlichen Bestandteil oder als Ersatz für schon beschriebene Bleichsysteme enthalten.
15) Wie in 3), 7), 9) und 12) beschriebene Detergenz-Zubereitungen, wobei der Gehalt von Perborat durch Percarbonat ersetzt ist.
16) Als nichtwässrige Detergenzflüssigkeit zubereitete Detergenz-Zubereitung, umfassend einen flüssigen nichtionischen oberflächenaktiven Stoff wie z. B. linearen alkoxylierten primären Alkohol, ein Gerüststoff-System (z. B. Phosphat), Enzym und Alkali. Das Detergenz kann auch einen anionischen oberflächenaktiven Stoff und/oder ein Bleichsystem umfassen.

[0046] Die Lipase der Erfindung kann in herkömmlich in Detergenzien eingesetzten Konzentrationen eingebracht werden. Es wird gegenwärtig erwogen, dass in der Detergenz-Zusammensetzung der Erfindung die Lipase in einer Menge, entsprechend 50–10.000 LE pro Liter Waschlauge, vorzugsweise 100–2.000 LE/1 oder 50–50.000 LE pro Gramm Detergenz, vorzugsweise 500–10.000 LE/g zugesetzt werden kann. Die Menge an Lipaseprotein kann 0,001–100 mg pro Liter Waschlauge oder 0,001–100 mg pro Gramm Detergenz betragen.

Geschirrspülzusammensetzung

[0047] Die Geschirrspüldetergenz-Zusammensetzung umfasst einen oberflächenaktiven Stoff, der anionisch, nichtionisch, kationisch amphoterisch oder ein Gemisch dieser Arten sein kann. Das Detergenz enthält 0–90% nichtionischen oberflächenaktiven Stoff wie gering bis nicht schäumende ethoxylierte propoxylierte geradkettige Alkohole.
[0048] Die Detergenz-Zusammensetzung kann Detergenzgerüststoffsalze von anorganischen und/oder organischen Arten enthalten. Die Detergenzgerüststoffe können phosphorhaltige und/oder nicht-phosphorhaltige Arten sein. Die Detergenz-Zusammensetzung enthält gewöhnlich 1–90% Detergenzgerüststoffe.
[0049] Beispiele für phosphorhaltige anorganische alkalische Detergenzgerüststoffe schließen wasserlösliche Salze, insbesondere Alkalimetallpyrophosphate, -orthophosphate, – polyphosphate und -phosphonate ein. Beispiele für nicht-phosphorhaltige anorganische Gerüststoffe schließen wasserlösliche Alkalimetallcarbonate, -borate und -silicate, sowie die verschiedenen Arten von wasserlöslichen kristallinen oder amorphen Aluminosilikaten ein, unter welchen Zeolithe die bekanntesten Vertreter sind.
[0050] Beispiele für geeignete organische Gerüststoffe schließen die Alkalimetall-, Ammonium und substituierte Ammoniumcitrate, -succinate, -malonate, -fettsäuresulfonate, -carboxymethoxy -succinate, -ammoniumpolyacetate, -carboxylate, -polycarboxylate, -aminopolycarboxylate, -polyacetylcarboxylate und -polyhydrosulfonate ein.
[0051] Andere geeignete organische Gerüststoffe schließen die Polymere und Copolymere mit höherem Molekulargewicht, von welchen bekannt ist, dass sie Gerüststoffeigenschaften aufweisen, z. B. geeignete Polyacrylsäure, Polymalein- und Polyacryl-/Polymaleinsäure-Copolymere und deren Salze ein.
[0052] Die Geschirrspüldetergenz-Zusammensetzung kann Bleichmittel des Chlor/Brom-Typs oder des Sauerstoff-Typs enthalten. Beispiele für anorganische Bleichmittel vom Chlor/Brom-Typ sind Lithium-, Natrium- oder Calciumhypochlorit und -hypobromit, sowie chloriertes Trinatriumphosphat. Beispiele für organische Bleichmittel vom Chlor/Brom-Typ sind heterocyclische N-Brom- und N-Chlorimide wie Trichlorisocyanur-, Tribromisocyanur, Dibromisocyanur- und Dichlorisocyanursäuren und Salze davon mit wasserlöslichen Kationen wie Kalium und Natrium. Hydantoinverbindungen sind ebenso geeignet.
[0053] Bevorzugt sind Sauerstoff-Bleichmittel, z. B. in Form eines anorganischen Persalzes, vorzugsweise mit einer Bleich-Vorstufe oder als Peroxysäureverbindung. Typische Beispiele für geeignete Peroxy-Bleichverbindungen sind Alkalimetallperborate, sowohl -tetrahydrate als auch -monohydrate, Alkalimetallpercarbonate, -persilikate und -perphosphate. Bevorzugte Aktivatormaterialien sind TAED und Glycerintriacetat.

[0054] Die Geschirrspüldetergenz-Zusammensetzung der Erfindung kann unter Verwendung von herkömmlichen Stabilisatoren für das (die) Enzym(e), z. B. eines Polyols wie Propylenglycol, eines Zuckers oder eines Zuckeralkohols, von Milchsäure, Borsäure oder eines Borsäurederivats, z. B. eines aromatischen Boratesters stabilisiert werden.
[0055] Die Geschirrspüldetergenz-Zusammensetzung der Erfindung kann auch andere herkömmliche Detergenzzusätze, z. B. Entflockungsmaterial, Füllstoff, Schaumunterdrücker, Antikorrosionsmittel, Schmutzsuspensionsmittel, Maskierungsmittel, Mittel gegen Wiederablagerung von Schmutz, Dehydrierungsmittel, Farbstoffe, Bakterizide, Fluoreszierungsmittel, Verdickungsmittel und Duftstoffe enthalten.
[0056] Schließlich kann die Lipase der Erfindung in herkömmlichen Geschirrspüldetergenzien, z. B. jedem der beliebigen, die in den folgenden Patentveröffentlichungen beschrieben sind, verwendet werden: EP 551670, EP 533239, WO 9303129, EP 507404, US 5141664, GB 2247025, EP 414285, GB 2234980, EP 408278, GB 2228945, GB 2228944, EP 387063, EP 385521, EP 373851, EP 364260, EP 349314, EP 331370, EP 318279, EP 318204, GB 2204319, EP 266904, US 5213706, EP 530870, CA 2006687, EP 481547, EP 337760, WO 93/14183, US 5223179, WO 93/06202, WO 93/05132, WO 92/19707, WO 92/09680, WO 92/08777, WO 92/06161, WO 92/06157, WO 92/06156, WO 91/13959, EP 399752, US 4941988, US 4908148.

BEISPIELE

[0057] Die folgenden Beispiele veranschaulichen weiter die vorliegende Erfindung, und sie sind nicht dazu beabsichtigt, den wie beanspruchten Rahmen der Erfindung in irgendeiner Weise zu beschränken.
[0058] BEISPIEL 1 Liapseherstellung Keimkulturen wurden in Schüttelkolben von jedem der Stämme LB 501 (DSM 7349), LB 502 (DSM 7350), LB 511 (FERM BP-4236) bzw. LB 512 (FERM BP-4237) in einem Waksman-Medium mit der folgenden Zusammensetzung (g/Liter) hergestellt:

Glucose	10
Pepton	5
Fleischextrakt	5
NaCl pH-Wert, eingestellt auf 7,0	5

[0059] Nach 2 Tagen bei 30°C und 230 UpM wurden 5 ml der Keimkultur in 100 ml des folgenden Mediums (g/Liter) enthaltenden Schüttelkolben angeimpft:

Pharmamedia™ (bereitgestellt von Traders Protein, The Procter & Gamble Oliseed Products Co.)	20 g
Maiseinweichspulver	10 g
Glycerin	10 g
K_2HPO_4	1 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ Einstellung des pH-Werts vor Einbringen in einem Autoklaven auf 7,0 Verweilzeit im Autoklaven 20 Min.(121°C)	0,5 g

[0060] 1 ml Jojobaöl wurde jedem Schüttelkolben zugesetzt, und die Kolben wurden bei 27°C 4 Tage bei 230 UpM gezüchtet.
[0061] Die Kulturbrühe wurde der Flüssig/Fest-Trennung durch Zentrifugation unterzogen. Der Überstand wurde gefriergetrocknet und eine rohe Pulverzubereitung erhalten.

BEISPIEL 2

Lipaseherstellung

[0062] Wie nachstehend angegeben wurden Stämme in Schüttelkolben mit einem Volumen von 250 ml, enthaltend 100 ml Kulturmedium, bezeichnet als ACT-1, ACT-2, ACT-3, ACT-4 und ACT-5 mit der folgenden Zusammensetzung (Ml/SK bedeutet ml pro Schüttelkolben), gezüchtet.

	ACT-1	ACT-2	ACT-3	ACT-4	ACT-5
Pharmamedia (g/l)	20	20	20	20	20
M.E.P- (g/l)	10	10	10		10
N.Z.-Amin (g/l)				10	
Glycerin (g/l)	10	10	10	10	10
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (g/l)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
K_2HPO_4 (g/l)	1	1	1	1	1
Jojobaöl (ml/SK)	1		1	1	2
Sojaöl (ml/SK)		2			
Einstellung auf pH	6,0	6,5	6,5	6,0	6,0

[0063] Jeder Stamm wurde bei 27°C 4 Tage lang gezüchtet. Am Ende des Züchtens wurden der pH-Wert und die Lipaseaktivität (LE) der Kulturbrühe gemessen. Eine Lipaseeinheit (LE) ist die Menge an Enzym, die unter Standardbedingungen (d. h. bei 30,0°C, pH 7,0 und Tributyrin-Substrat) 1 µmol titrierbare Buttersäure pro Minute freisetzt. Ergebnisse:

Spezies	Stamm	Kulturmedium	pH-Wert nach Züchten	LE/ml
S. griseus	LB 501	ACT-1	8,1	8,0
S. griseus	LB 502	ACT-2	8,3	3,0
S. griseus	LB 524	ACT-1	8,3	3,5
S. coelicolor	LB 511	ACT-5	8,7	6,5
S. coelicolor	LB 512	ACT-3	8,2	6,4
S. coelicolor	ATCC 23899	ACT-1	8,6	4,5
S. parvus	ATCC 12433	ACT-1	8,4	3,1

BEISPIEL 3

Lipaseherstellung

[0064] Wie nachstehend angegeben wurden Stämme in Schüttelkolben, enthaltend Kulturmedium ACT-1 (beschrieben in Beispiel 2), bei 27°C gezüchtet. Der pH-Wert und die Lipaseaktivität der Kulturbrühe wurden nach 3, 4 und 5 Tagen gemessen. Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Spezies	Stamm	Tag	LE-Aktivität	pH-Wert
S. griseus	LB 502 (DSM 7350)	3	10,6	8,3
		4	10	8,7
		5	10	8,9
S. coelicolor	ATCC 23899	3	5,2	6,8
		4	6,1	8,0
		5	2,6	8,6
S. limosus	ATCC 19778	3	0,6	7,1
		4	1,5	7,1
		5	2,2	7,5
S. albovidiris	ATCC 25425	3	1,8	8,1
		4	4,6	8,4
		5	5,2	8,8
S. griseus	ATCC 23345	3	2,1	7,9
		4	2,9	8,1
		5	7,0	8,3
S. parvus	ATCC 12433	4	0,6	8,1
		5	1,2	8,2
S. setonii	ATCC 25497	3	35	7,6
		4	56	7,9
		5	72	8,3
S. nitrosporeus	ATCC 12769	3	0,5	7,4
		4	0,2	7,9
		5	0,7	8,0

BEISPIEL 4

Lipaseherstellung von S. griseus LB 502 (DSM 7350)

[0065] Der Stamm wurde bei 27°C in Schüttelkolben auf einem Medium mit der folgenden Zusammensetzung gezüchtet:

Pharmamedia	20 g/l
Maiseinweichpulver	6,64 g/l
Glycerin	10 g/l
K_2HPO_4	1 g/l
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,5 g/l
Jojobaöl (ml/SK)	1 ml/Schüttelkolben
pH-Wert, eingestellt auf	6,0

Nach 4 Tagen betrug die Ausbeute etwa 30 LE/ml.

BEISPIEL 5

Lipasereinigung

[0066] Rohe Lipase von S. griseus LB 501 (DSM 7349) wurde durch hydrophobe Chromatografie, gefolgt von Ionenaustauschchromatografie wie folgt gereinigt.
[0067] Hydrophobe Chromatografie: In Beispiel 1 hergestelltes rohes Lipasepulver wurde gelöst und eingestellt auf 3,5 M CH_3COONH_4. Dies wurde auf eine Säule aus t-Butyl Macropep HIC (Produkt von Biorad) aufgetragen und die Säule mit derselben Konzentration an CH_3COONH_4 gewaschen, um den Hauptteil der Farbe und des Proteins zu entfernen. Danach wurde ein Gradient gestartet, zuerst schnell abwärts auf 1 M, dann langsam abwärts auf 0 M. Zwei Peaks waren im Chromatogramm zu sehen, und demzufolge wurden zwei Lipase-Pools aufgefangen. Die Gesamtwiedergewinnung der Lipaseaktivität betrug über 80%.
[0068] Ionenaustauschchromatografie: Nach Einengen und Deionisieren durch Ultrafiltration (Rückgewinnung 60–70% aufgrund der hohen Viskosität) wurde jeder Pool auf eine Säule aus DEAE-Toyopearl aufgetragen. Ein breiter, aufgefangene Lipaseaktivität enthaltender Peak war im Chromatogramm zu sehen. Etwas Farbe wurde entfernt und die Wiedergewinnung der Lipaseaktivität betrug über 80%. Schließlich wurde jeder Pool wieder ultrafiltriert (Rückgewinnung über 80%)
[0069] Das Ausgangsmaterial wies eine Gesamtlipaseaktivität von 16.500 LE auf. Die Pools 1 und 2 wiesen spezifische Lipaseaktivitäten von 74,4 LE/mg Protein und 43,3 LE/mg Protein und Gesamtlipaseaktivitäten von 3350 LE bzw. 1860 LE auf. Folglich betrug die Gesamtrückgewinnung an Lipaseaktivität 32%.
[0070] Von beiden Pools wurde gefunden, dass sie mindestens zwei Lipasen mit isoelektrischen Punkten (durch isoelektrisches Fokussieren) von 5,5 oder weniger und Molekulargewichte zwischen 28 und 43 kD enthielten.

BEISPIEL 6

pH-Aktivitätskurven von Lipasezubereitungen

[0071] Die pH-Profile wurden für Lipasezubereitungen von den folgenden Stämmen bestimmt:
S. griseus LB 501 (DSM 7349)
S. griseus LB 502 (DSM 7350)
S. coelicolor LB 511 (FERM BP-4236)
S. coelicolor LB 512 (FERM BP-4237)
S. griseus LB 524 (DSM 8672)
S. coelicolor N 2293 (ATCC 23899)
S. parvus N 2300 (ATCC 12433)
[0072] Die pH-Profi1e der Lipasezubereitungen wurden in Abwesenheit von Ca++ bei 40°C mit Olivenöl als Substrat und PVA als Emulgator bei einer Reaktionszeit von 20 Minuten unter Verwendung eines Glycinpuffers bei pH 8,5–10,5 bestimmt. Die Ergebnisse sind in den **Abb.** 1-7 als relative Aktivität (%rel.) gegen pH dargestellt.
[0073] Es ist ersichtlich, dass die Lipasen optimale Aktivität in Abwesenheit von Ca++ bei etwa pH 9–10 aufweisen und dass sie mehr als 50% der optimalen Aktivität bei pH 10 aufweisen.

BEISPIEL 7

Lipaseaktivität bei alkalischem pH-Wert

[0074] Lipasezubereitungen wurden auf Lipaseaktivität bei pH 6–10 durch eine Diffusionsplattentechnik getestet.
[0075] Die nach 3- und 4-tägigem Züchten in Beispiel 3 erhaltenen Lipasezubereitungen wurden getestet. Diffusionsplatten wurden wie in Beispiel 11 von WO 88/02775 beschrieben mit einem Testmedium, enthaltend Olivenöl und PVA bei pH 6, 8,5 bzw. 10 hergestellt, und die Gegenwart oder Abwesenheit von Lipaseaktivität bei dem pH-Wert des Mediums durch das Erscheinen einer Klärzone bestimmt.
[0076] Die Ergebnisse zeigten, dass alle Lipasezubereitungen von Beispiel 3 Aktivität bei pH 6, 8,5 und 10 aufzeigten, d. h. dass sie alle bei einem hohen pH-Wert bis zu 10 aktiv waren.

BEISPIEL 8

Stellungsspezifität

[0077] Die Stellungsspezifität wurde durch Hydrolyse von Triglycerid und Analyse der mit einer Lipasezubereitung der Erfindung gebildeten Diglyceride bestimmt.
[0078] Eine Lipasezubereitung von S. griseus LB 502 (DSM 7350) wurde zum Hydrolysieren von Olivenöl als Substrat mit PVA als Emulgator bei pH 10 in Glycinpuffer für eine Dauer von 30 Minuten bei pH 10 verwendet, wonach die Hydrolyseprodukte durch Latroscan analysiert wurden. Lipolase, eine stellungsspezifische Lipasezubereitung des Fachgebiets, abgeleitet von Humicola lanuginosa, wurde als Vergleich verwendet.
[0079] Die Ergebnisse sind in **Abb.** 8 dargestellt. Es ist ersichtlich, dass mit der Lipasezubereitung der Erfindung mehr 1,3-Diglycerid als 1,2-Diglycerid gebildete wurde, was zeigte, dass die Zubereitung mit höherer Aktivität an der 2-Position als an den 1- und 3-Positionen des Triglycerids stellungsunspezifisch ist. Durch Lipolase wurde fast keine Bildung von 1,3-Diglycerid erhalten, wodurch bestätigt wurde, dass sie stellungsspezifisch ist, d. h. dass sie nur an den 1- und 3-Positionen des Triglycerids reagiert.
[0080] Lipasezubereitungen der Erfindung von S. griseus LB 524 (DSM 8672), S. coelicolor N 2293 (ATCC 23899) und S. parvus N 2300 (ATCC 12433) erzeugten ähnliche Ergebnisse wie LB 502.

BEISPIEL 9

Wirkung von Detergenz auf Lipaseaktivität

[0081] Die Lipaseaktivität von verschiedenen Lipasezubereitungen wurde in Gegenwart von 0,1% eines nichtionischen oder anionischen oberflächenaktiven Stoffs (Alkoholethoxylat oder lineares Alkylbenzolsulfonat) bei pH 7,5 gemessen und mit einer Kontrollsubstanz ohne Detergenz verglichen.
[0082] Die Lipasezubereitungen von Beispiel 2 wurden verwendet. In jedem Test wurden 0,1 ml Lipaselösung mit 0,4 ml einer 1,0 mM Lösung von p-Nitrophenylbutyrat in 0,2 M Tris-HCl (pH7,5) und 0,5 ml einer 0,2%igen Detergenzlösung gemischt. Eine Kontrollsubstanz wurde mit Wasser statt der Detergenzlösung hergestellt. Das Gemisch wurde bei 40°C für eine Dauer von 30 Minuten inkubiert und der Hydrolysegrad durch Messen der optischen Dichte bei 415 nm bestimmt.
[0083] Die Ergebnisse sind als relative Aktivität in Gegenwart von Detergenz verglichen mit der Kontrollsubstanz ausgedrückt.

Spezies	Stamm	Relative Aktivität in Detergenz	
		Alkoholethoxylat	Lineares Alkylbenzolsulfonat
S. griseus	LB 501 (DSM 7349)	55%	75%
S. griseus	LB 502 (DSM 7350)	>100%	>100%
S. griseus	LB 524 (DSM 8672)	100%	97%
S. coelicolor	LB 511 (FERM BP-4236)	100%	21%
S. coelicolor	LB 512 (FERM BP-4237)	87%	50%
S. coelicolor	ATCC 23899	95%	75%
S. parvus	ATCC 12433	97%	>100%

[0084] Es ist ersichtlich, dass in Gegenwart von Alkoholethoxylat alle Lipasezubereitungen mehr als 50% deren Aktivität, die meisten mehr als 75% und einige mehr als 90% bewahren. In Gegenwart von linearem Alkylbenzolsulfonat bewahren die meisten Lipasezubereitungen mindestens 50% deren Aktivität, die meisten von diesen mindestens 75% und einige mehr als 90%.

BEISPIEL 10

Lipaseaktivität in Detergenz

[0085] Die Lipaseaktivität von verschiedenen Lipasezubereitungen wurde in einer Lösung eines Bausatz-Detergenzes bei hohem pH-Wert gemessen und mit einer Kontrollsubstanz ohne Detergenz verglichen.
[0086] In jedem Test wurde die Lipasezubereitung einer Detergenzlösung mit der folgenden Zusammensetzung (angegeben als Aktivstoff) zugesetzt. Das Gemisch wurde mit Olivenöl als Substrat und PVA als Emulgator bei 40°C für eine Dauer von 60 Minuten inkubiert, wonach die Menge an gebildeter freier Fettsäure bestimmt wurde. Eine Kontrollsubstanz wurde mit Glycin oder Diethanolpuffer bei demselben pH-Wert statt der Detergenzlösung hergestellt.

Lineares Alkylbenzolsulfonat (Nansa 1169/P)	0,35 g/l
Alkoholethoxylat (Dobanol 25-7)	0,15 g/l
Natriumtripolyphosphat (NTPP)	1,25 g/l
Natriumsulfat	1,00 g/l
Natriumcarbonat	0,45 g/l
Natriummetasilikat	0,15 g/l
pH-Wert	10,2

[0087] Die Ergebnisse werden als relative Aktivität in Gegenwart von Detergenz verglichen mit der Kontrollsubstanz ausgedrückt.

Spezies	Stamm	Relative Aktivität in Detergenzlösung	In Kontrollsubstanz verwendeter Puffer
S. griseus	LB 502 (DSM 7350)	67%	Diethanolamin
S. griseus	LB 524 (DSM 8672)	76%	Glycin
S. coelicolor	ATCC 23899	96%	Diethanolamin
S. parvus	ATCC 12433	73%	Diethanolamin

[0088] Es ist ersichtlich, dass die vorstehenden Lipasezubereitungen eine relative Aktivität von mehr als 50% in der Detergenzlösung verglichen mit der Kontrollsubstanz aufweisen.

BEISPIEL 11

Wirkung von Ca^{++} auf Lipaseaktivität

[0089] Die Aktivität einer Lipasezubereitung der Erfindung wurde ohne Zugabe von Ca++ und unter Zugabe von verschiedenen Mengen von Ca++ gemessen.
[0090] Eine Lipasezubereitung von S. griseus LB 502 (DSM 7350) wurde mit Olivenöl als Substrat und PVA als Emulgator bei 40°C für eine Dauer von 10 Minuten in Diethanolaminpuffer bei pH 10 inkubiert, wonach der Hydrolysegrad bestimmt wurde. Der Versuch wurde unter Zugabe eines Calciumsalzes in verschiedenen Konzentrationen wiederholt. Die Ergebnisse sind in **Abb.** 9 dargestellt. Es ist ersichtlich, dass die Lipaseaktivität dieser Zubereitung nicht abnimmt, wenn die Ca^{++}-Konzentration vermindert wird.

Internationale Anmeldung Nr.: PCT/ /

MIKROORGANISMEN

Sonderformblatt in Verbindung mit den auf Seite 2, Zeile 17 der Beschreibung betreffenden Mikroorganismen.

A. IDENTIFIKATION DER HINTERLEGUNG:

Weitere Hinterlegungen sind auf einem Zusatzblatt identifiziert ☒

Name des Hinterlegungsinstituts:

Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

Adresse des Hinterlegungsinstituts (einschließlich Postleitzahl und Land):

Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Deutschland

Hinterlegungsdatum:	Teilnehmernummer:
10. Dezember 1992	DSM 7349

B. ZUSÄTZLICHE INDIKATIONEN: (frei lassen, wenn nicht zutreffend). Diese Information wird auf einem beiliegenden Extrablatt fortgesetzt ☐

In Bezug auf die Bestimmungen, in welchen ein Europäisches und/oder Australisches Patent beantragt wird, wird während der Anhängigkeit der Patentanmeldung eine Probe der hinterlegten Mikroorganismen nur einem unabhängigen Fachmann bereitgestellt, der durch die um die Probe ersuchende Person ernannt wurde (Regel 28 (4) EPC / Vorschrift 3.25 der Australischen Regelstatuten 1991 Nr. 71).

C. Genannte Staaten, für welche die Indikationen erstellt wurden: (falls die Indikationen nicht für alle genannten Staaten gelten)

D. Einzelausstattung der Indikationen: (frei lassen, wenn nicht zutreffend)

Die nachstehend aufgezählten Indikationen werden dem Internationalen Büro später unterbreitet: (Bestimmung der allgemeinen Natur der Indikationen, z.B. „Teilnehmernummer der Hinterlegung")

E. ☐ Dieses Blatt wurde mit der Internationalen Anmeldung bei Einreichung erhalten (muss vom erhaltenden Amt geprüft werden

(Bevollmächtigter Beamter)

☐ Empfangsdatum (des Anmelders) durch das Internationale Büro

(Bevollmächtigter Beamter)

Von PCT/RO/134 (Januar 1991)

Internationale Anmeldung Nr.: PCT/ /

MIKROORGANISMEN

Sonderformblatt in Verbindung mit den auf Seite 2, Zeile 18 der Beschreibung betreffenden Mikroorganismen.

A. IDENTIFIKATION DER HINTERLEGUNG:

Weitere Hinterlegungen sind auf einem Zusatzblatt identifiziert ☒

Name des Hinterlegungsinstituts:

Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

Adresse des Hinterlegungsinstituts (einschließlich Postleitzahl und Land):

Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Deutschland

Hinterlegungsdatum:	Teilnehmernummer:
10. Dezember 1992	DSM 7350

B. ZUSÄTZLICHE INDIKATIONEN: (frei lassen, wenn nicht zutreffend). Diese Information wird auf einem beiliegenden Extrablatt fortgesetzt ☐

In Bezug auf die Benennungen, in welchen ein Europäisches und/oder Australisches Patent beantragt wird, wird während der Anhängigkeit der Patentanmeldung eine Probe der hinterlegten Mikroorganismen nur einem unabhängigen Fachmann bereitgestellt, der durch die um die Probe ersuchende Person ernannt wurde (Regel 28 (4) EPC / Vorschrift 3.25 der Australischen Regelstatuten 1991 Nr. 71).

D. Genannte Staaten, für welche die Indikationen erstellt wurden: (falls die Indikationen nicht für alle genannten Staaten gelten)

D. Einzelausstattung der Indikationen: (frei lassen, wenn nicht zutreffend)

Die nachstehend aufgezählten Indikationen werden dem Internationalen Büro später unterbreitet: (Bestimmung der allgemeinen Natur der Indikationen, z.B. „Teilnehmernummer der Hinterlegung")

E. ☐ Dieses Blatt wurde mit der Internationalen Anmeldung bei Einreichung erhalten (muss vom erhaltenden Amt geprüft werden

(Bevollmächtigter Beamter)

☐ Empfangsdatum (des Anmelders) durch das Internationale Büro

(Bevollmächtigter Beamter)

Von PCT/RO/134 (Januar 1991)

Internationale Anmeldung Nr.: PCT/ /

MIKROORGANISMEN

Sonderformblatt in Verbindung mit den auf Seite 2, Zeile 18 der Beschreibung betreffenden Mikroorganismen.

A. IDENTIFIKATION DER HINTERLEGUNG:

Weitere Hinterlegungen sind auf einem Zusatzblatt identifiziert ☒

Name des Hinterlegungsinstituts:

National Institute of Bioscience and Human Technology

Adresse des Hinterlegungsinstituts (einschließlich Postleitzahl und Land):

AGENCY OF INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY
Ministry of International Trade and Industry 1-3, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaragi-ken 305, Japan

Hinterlegungsdatum:	Teilnehmernummer:
10. März 1993	FERM BP-4236

B. ZUSÄTZLICHE INDIKATIONEN: (frei lassen, wenn nicht zutreffend). Diese Information wird auf einem beiliegenden Extrablatt fortgesetzt ☐

In Bezug auf die Benennungen, in welchen ein Europäisches und/oder Australisches Patent beantragt wird, wird während der Anhängigkeit der Patentanmeldung eine Probe der hinterlegten Mikroorganismen nur einem unabhängigen Fachmann bereitgestellt, der durch die um die Probe ersuchende Person ernannt wurde (Regel 28 (4) EPC / Vorschrift 3.25 der Australischen Regelstatuten 1991 Nr. 71).

E. Genannte Staaten, für welche die Indikationen erstellt wurden: (falls die Indikationen nicht für alle genannten Staaten gelten)

D. Einzelausstattung der Indikationen: (frei lassen, wenn nicht zutreffend)

Die nachstehend aufgezählten Indikationen werden dem Internationalen Büro später unterbreitet: (Bestimmung der allgemeinen Natur der Indikationen, z.B. „Teilnehmernummer der Hinterlegung")

E. ☐ Dieses Blatt wurde mit der Internationalen Anmeldung bei Einreichung erhalten (muss vom erhaltenden Amt geprüft werden

(Bevollmächtigter Beamter)

☐ Empfangsdatum (des Anmelders) durch das Internationale Büro

(Bevollmächtigter Beamter)

Von PCT/RO/134 (Januar 1991)

Internationale Anmeldung Nr.: PCT/ /

MIKROORGANISMEN

Sonderformblatt in Verbindung mit den auf Seite 2, Zeile 19 der Beschreibung betreffenden Mikroorganismen.

A. IDENTIFIKATION DER HINTERLEGUNG:

Weitere Hinterlegungen sind auf einem Zusatzblatt identifiziert ☒

Name des Hinterlegungsinstituts:

National Institute of Bioscience and Human Technology

Adresse des Hinterlegungsinstituts (einschließlich Postleitzahl und Land):

AGENCY OF INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY
Ministry of International Trade and Industry 1-3, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaragi-ken 305, Japan

Hinterlegungsdatum:	Teilnehmernummer:
10. März 1993	FERM BP-4237

B. ZUSÄTZLICHE INDIKATIONEN: (frei lassen, wenn nicht zutreffend). Diese Information wird auf einem beiliegenden Extrablatt fortgesetzt ☐

In Bezug auf die Benennungen, in welchen ein Europäisches und/oder Australisches Patent beantragt wird, wird während der Anhängigkeit der Patentanmeldung eine Probe der hinterlegten Mikroorganismen nur einem unabhängigen Fachmann bereitgestellt, der durch die um die Probe ersuchende Person ernannt wurde (Regel 28 (4) EPC / Vorschrift 3.25 der Australischen Regelstatuten 1991 Nr. 71).

F. Genannte Staaten, für welche die Indikationen erstellt wurden: (falls die Indikationen nicht für alle genannten Staaten gelten)

D. Einzelausstattung der Indikationen: (frei lassen, wenn nicht zutreffend)

Die nachstehend aufgezählten Indikationen werden dem Internationalen Büro später unterbreitet: (Bestimmung der allgemeinen Natur der Indikationen, z.B. „Teilnehmernummer der Hinterlegung")

E. ☐ Dieses Blatt wurde mit der Internationalen Anmeldung bei Einreichung erhalten (muss vom erhaltenden Amt geprüft werden

(Bevollmächtigter Beamter)

☐ Empfangsdatum (des Anmelders) durch das Internationale Büro

(Bevollmächtigter Beamter)

Von PCT/RO/134 (Januar 1991)

Internationale Anmeldung Nr.: PCT/ /

MIKROORGANISMEN

Sonderformblatt in Verbindung mit den auf Seite 2, Zeile 19 der Beschreibung betreffenden Mikroorganismen.

A. IDENTIFIKATION DER HINTERLEGUNG:

Weitere Hinterlegungen sind auf einem Zusatzblatt identifiziert ☐

Name des Hinterlegungsinstituts:

Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

Adresse des Hinterlegungsinstituts (einschließlich Postleitzahl und Land):

Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Deutschland

Hinterlegungsdatum:	Teilnehmernummer:
2. November 1993	DSM 8672

B. ZUSÄTZLICHE INDIKATIONEN: (frei lassen, wenn nicht zutreffend). Diese Information wird auf einem beiliegenden Extrablatt fortgesetzt ☐

In Bezug auf die Benennungen, in welchen ein Europäisches und/oder Australisches Patent beantragt wird, wird während der Anhängigkeit der Patentanmeldung eine Probe der hinterlegten Mikroorganismen nur einem unabhängigen Fachmann bereitgestellt, der durch die um die Probe ersuchende Person ernannt wurde (Regel 28 (4) EPC / Vorschrift 3.25 der Australischen Regelstatuten 1991 Nr. 71).

G. Genannte Staaten, für welche die Indikationen erstellt wurden: (falls die Indikationen nicht für alle genannten Staaten gelten)

D. Einzelausstattung der Indikationen: (frei lassen, wenn nicht zutreffend)

Die nachstehend aufgezählten Indikationen werden dem Internationalen Büro später unterbreitet: (Bestimmung der allgemeinen Natur der Indikationen, z.B. „Teilnehmernummer der Hinterlegung")

E. ☐ Dieses Blatt wurde mit der Internationalen Anmeldung bei Einreichung erhalten (muss vom erhaltenden Amt geprüft werden

(Bevollmächtigter Beamter)

☐ Empfangsdatum (des Anmelders) durch das Internationale Büro

(Bevollmächtigter Beamter)

Von PCT/RO/134 (Januar 1991)

Patentansprüche

1. Lipasezubereitung, welche:
(1) stellungsunspezifisch ist,

(2) eine Aktivität bei pH 10 besitzt, welche mehr als 50 % der Aktivität bei dem optimalen pH ist, wenn beide, Aktivitäten in einem Ca^{++}freiem Test mit Olivenöl als Substrat und Polyvinylalkohol als Emulgator bei 40°C für 20 Minuten bestimmt werden, und
(3) herstellbar ist durch Züchten von einem Stamm von Streptomyces coelicolor, Streptomyces limosus, Streptomyces alboviridis, Streptomyces griseus, Streptomyces parvus, Streptomyces setonii oder Streptomyces nitrosporeus.

2. Lipasezubereitung nach Anspruch 1, wobei der Stamm Streptomyces coelicolor FERM BP-4236, FERM BP-4237, ATCC 23899, Streptomyces limosus ATCC 19778, Streptomyces alboviridis ATCC 25425, Streptomyces griseus ATCC 23345, DSM 7349, DSM 7350, DSM 8672, Streptomyces parvus ATCC 12433, Streptomyces setonii ATCC 25497 oder Streptomyces nitrosporeus ATCC 27472 ist.

3. Lipasezubereitung nach Anspruch 1, welche eine Aktivität in einer Detergenzlösung bei pH 10,2 besitzt, welches mehr als 50 % der Aktivität in Diethanolaminpuffer bei pH 10 ist, wenn beide Aktivitäten mit Olivenöl als Substrat und Polyvinylalkohol als Emulgator bei 60 Minuten Reaktionszeit gemessen werden und die Detergenzlösung aus 0,35 g/l linearem Alkylbenzensulfonat, 0,15 g/l Alkoholethoxylat, 1,25 g/l Natriumtripolyphosphat, 1,00 g/l Natriumsulfat, 0,45 g/l Natriumcarbonat und 0,15 g/l Natriummetasilikat besteht.

4. Lipasezubereitung nach Anspruch 3, wobei der Stamm ein Stamm von Streptomyces griseus, Streptomyces coelicolor oder Streptomyces parvus ist.

5. Lipasezubereitung nach Anspruch 4, wobei der Stamm Streptomyces griseus DSM 7349, DSM 7350, DSM 8672, Streptomyces coelicolor FERM BP-4236, FERM BP-4237, ATCC 23899 oder Streptomyces parvus ATCC 12433 ist.

6. Lipasezubereitung nach Anspruch 3, welche eine Aktivität in der Abwesenheit von Ca++ besitzt, welche mehr als 50 % der Aktivität bei 50 mM Ca++ ist, wenn beide Aktivitäten mit Olivenöl als Substrat und Polyvinylalkohol als Emulgator bei pH 10 gemessen werden.

7. Lipasezubereitung nach Anspruch 6, wobei der Stamm Streptomyces griseus DSM 7350 ist.

8. Lipasezubereitung nach einem beliebigen vorangehenden Anspruch, welche als ein Detergenzzusatz in der Form eines nicht-staubenden Granulats, einer stabilisierten Flüssigkeit, eines Schlamms oder eines geschützten Enzyms bereitgestellt wird.

9. Verfahren zum Herstellen einer Lipasezubereitung nach einem beliebigen der Ansprüche 1–8, umfassend das Züchten eines Lipase-herstellenden Stammes von Streptomyces coelicolor, Streptomyces limosus, Streptomyces alboviridis, Streptomyces griseus, Streptomyces parvus, Streptomyces setonii oder Streptomyces nitrosporeus in einem geeigneten Nährmedium, enthaltend Kohlenstoff- und Stickstoffquellen und anorganische Salze, gefolgt von einer Gewinnung der Lipasezubereitung.

10. Verfahren nach Anspruch 9, in welchem der Stamm Streptomyces coelicolor FERM BP-4236, FERM BP-4237, ATCC 23899, Streptomyces limosus ATCC 19778, Streptomyces alboviridis ATCC 25425, Streptomyces griseus ATCC 23345, DSM 7349, DSM 7350, DSM 8672, Streptomyces parvus ATCC 12433, Streptomyces setonii ATCC 25497 oder Streptomyces nitrosporeus ATCC 27472 ist oder eine Lipase-herstellende Variante oder Mutante hiervon.

11. Detergenz-Zusammensetzung, umfassend einen oberflächenaktiven Stoff und die Lipasezubereitung nach einem beliebigen der Ansprüche 1–8.

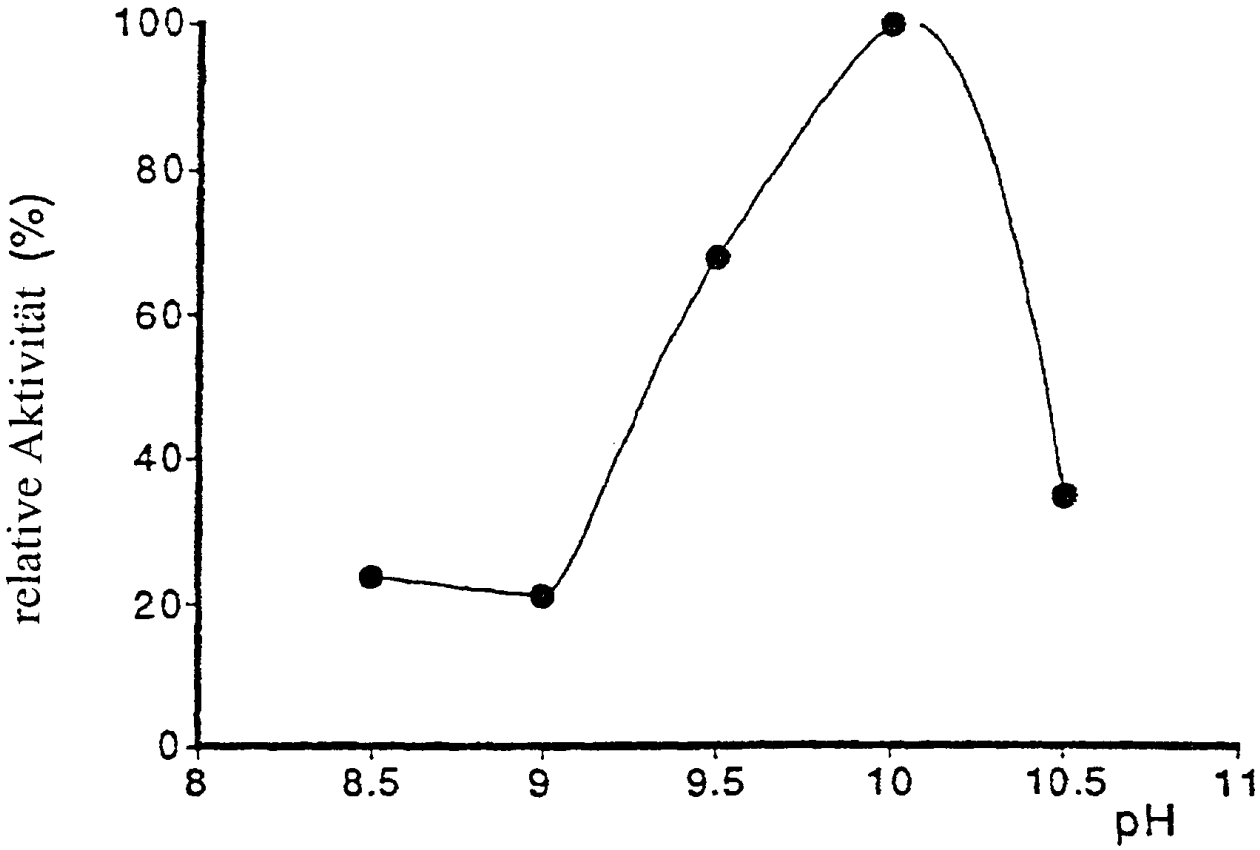
12. Detergenz-Zusammensetzung nach Anspruch 11, welche weiterhin 1–40% eines Detergenzgerüststoffes umfasst, und welche einen pH von 7–11, gemessen in einer wässrigen Lösung, besitzt.

13. Detergenz-Zusammensetzung nach Anspruch 12, wobei der Gerüststoff ein Phosphatgerüststoff ein Zeolith oder Natriumcitrat ist.

14. Detergenz-Zusammensetzung nach einem beliebigen der Ansprüche 11–13, weiterhin umfassend ein zweites Detergenzenzym, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Proteasen, Amylasen, Zellulasen, Oxidasen und Peroxidasen.

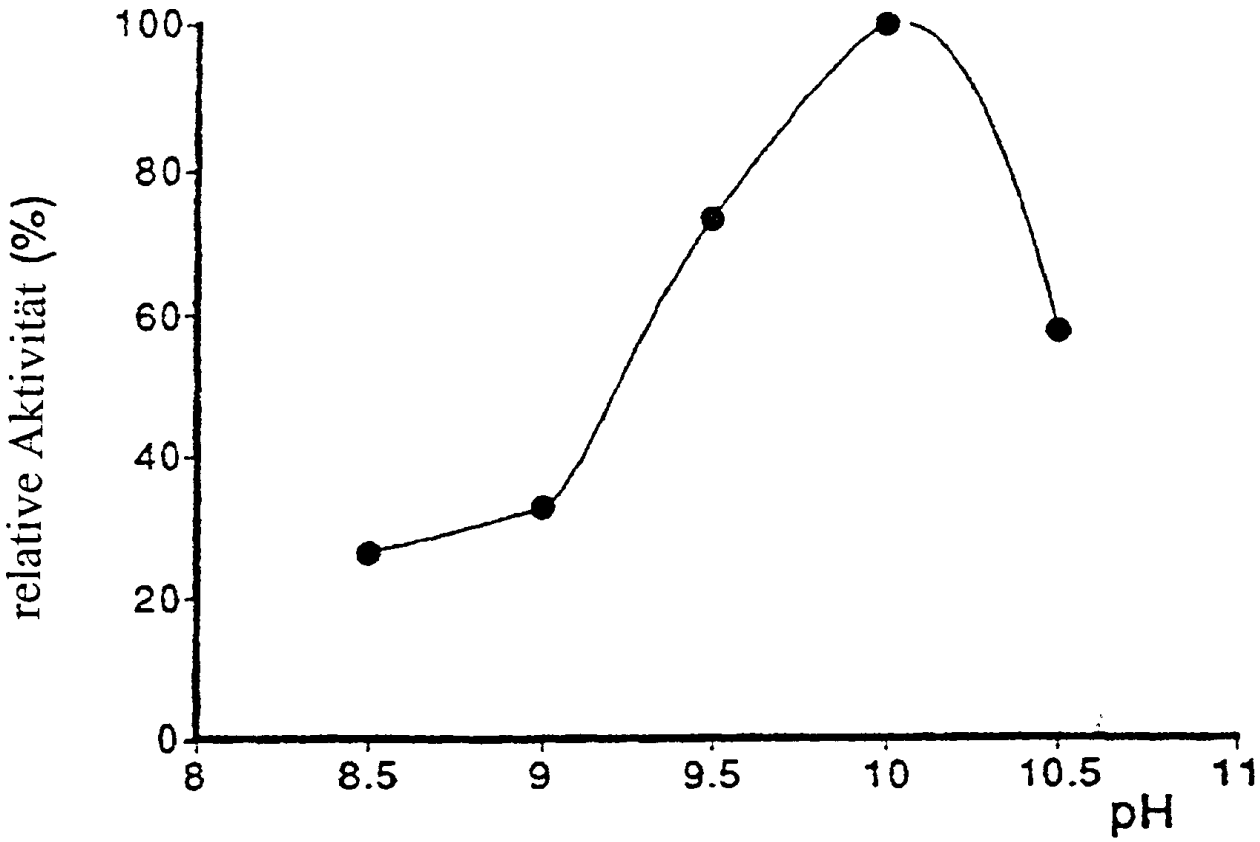
Es folgen 9 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



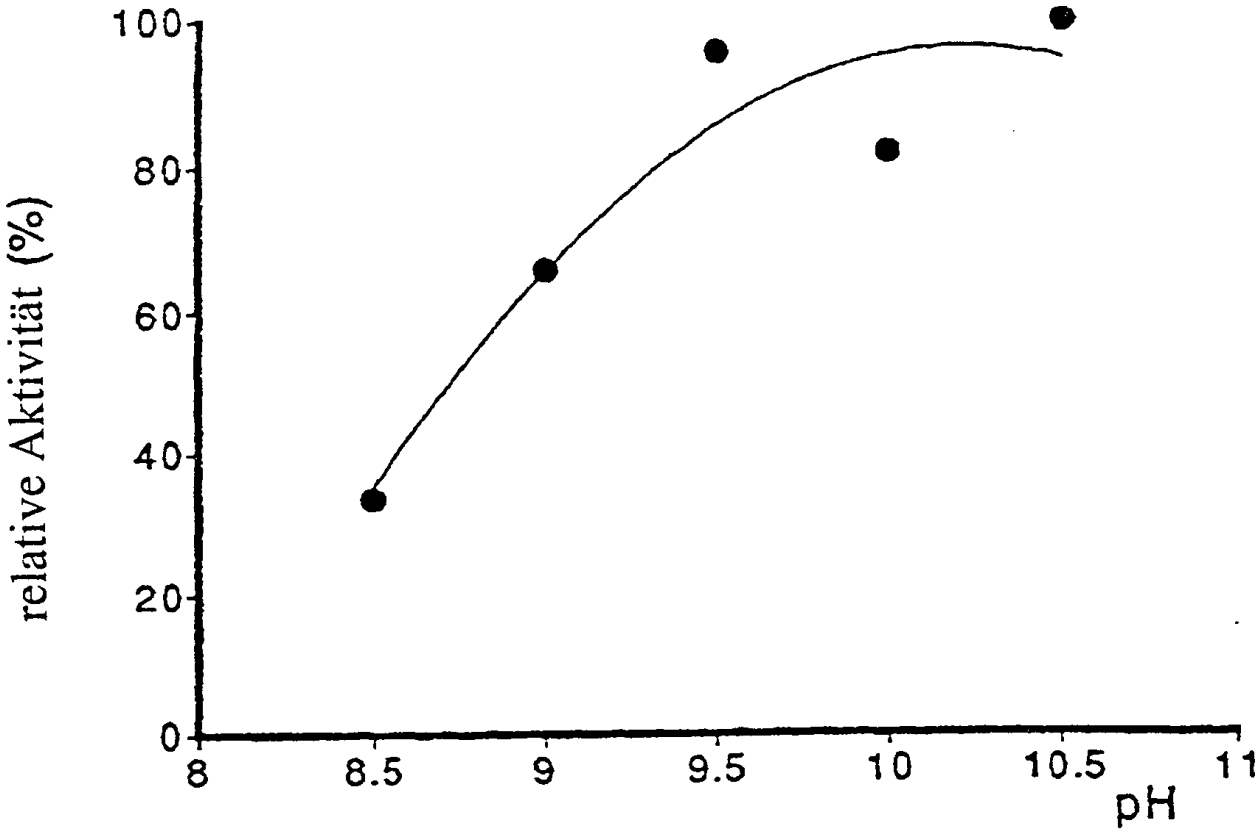
pH-Profil von Lipase LB 501

Abb. 1



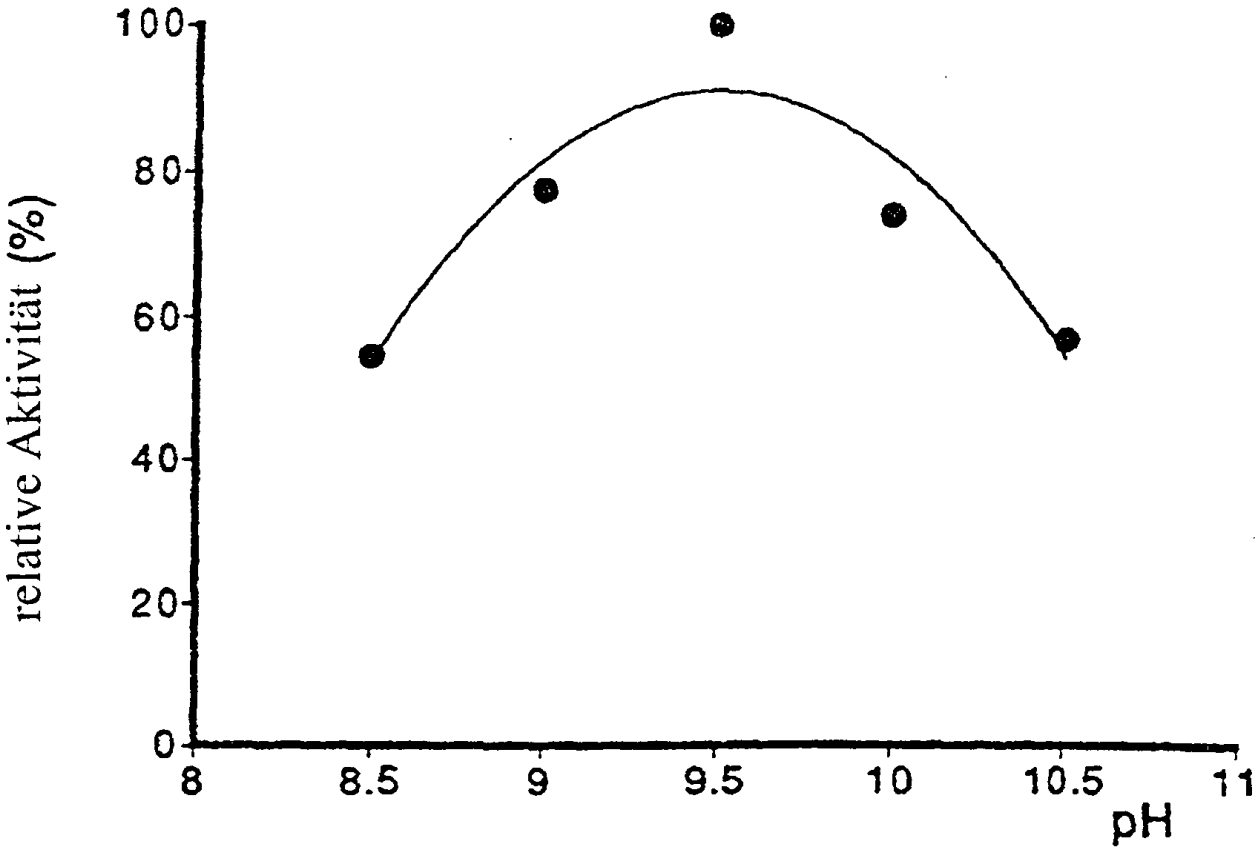
pH-Profil von Lipase LB 502

Abb. 2



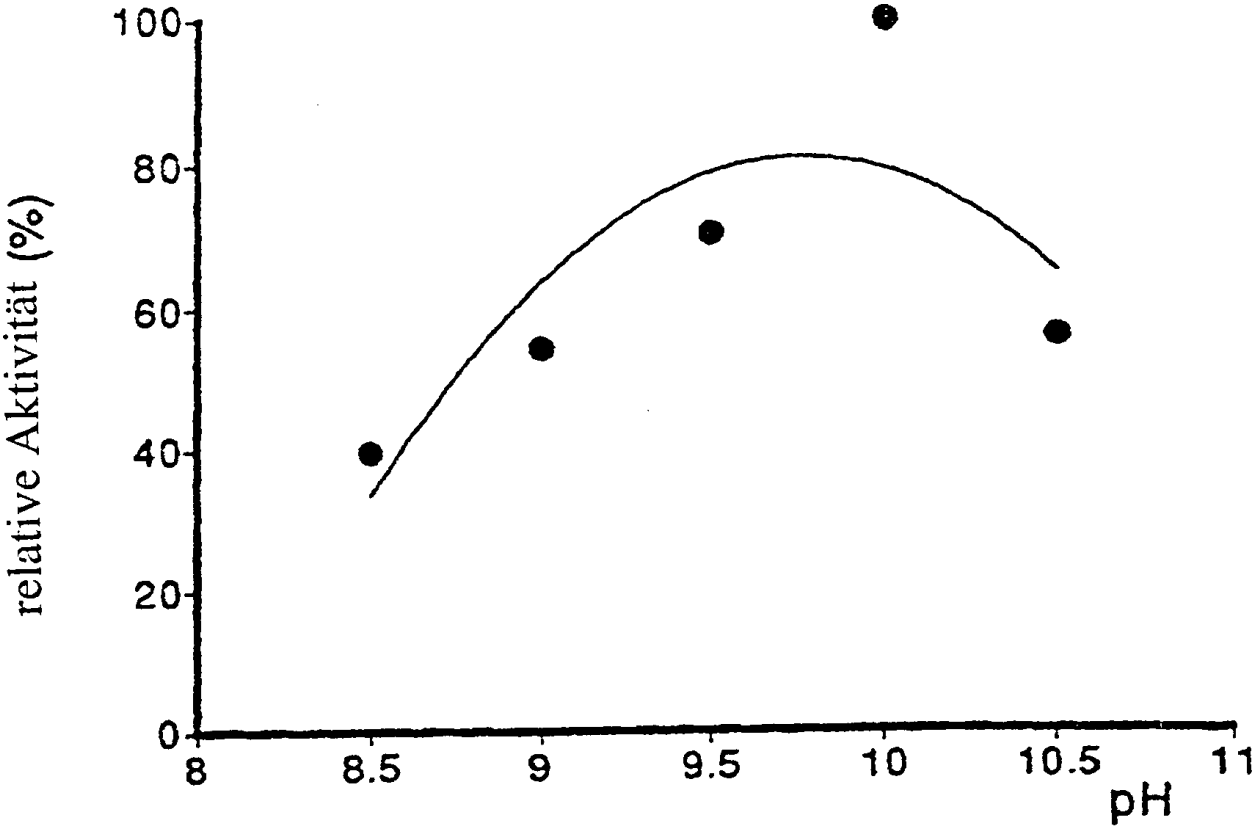
pH-Profil von Lipase LB 511

Abb. 3



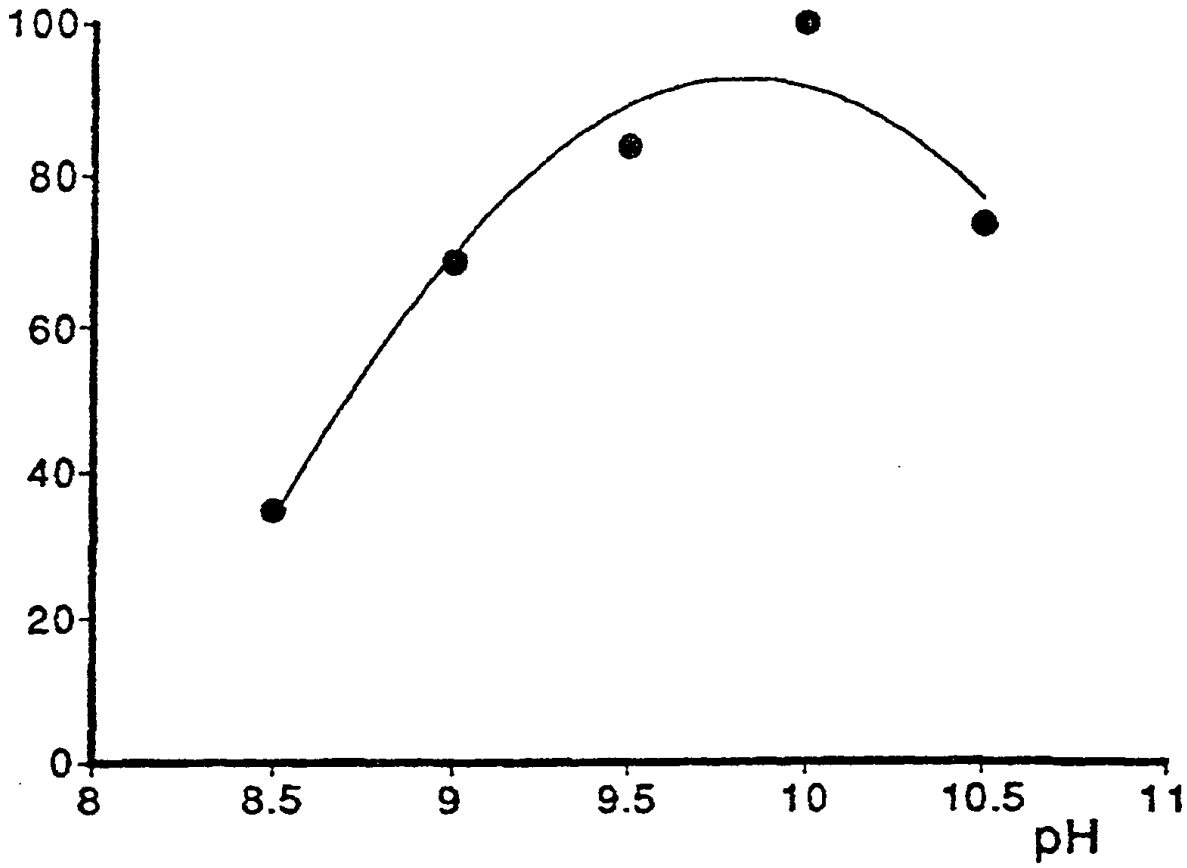
pH-Profil von Lipase LB 512

Abb. 4



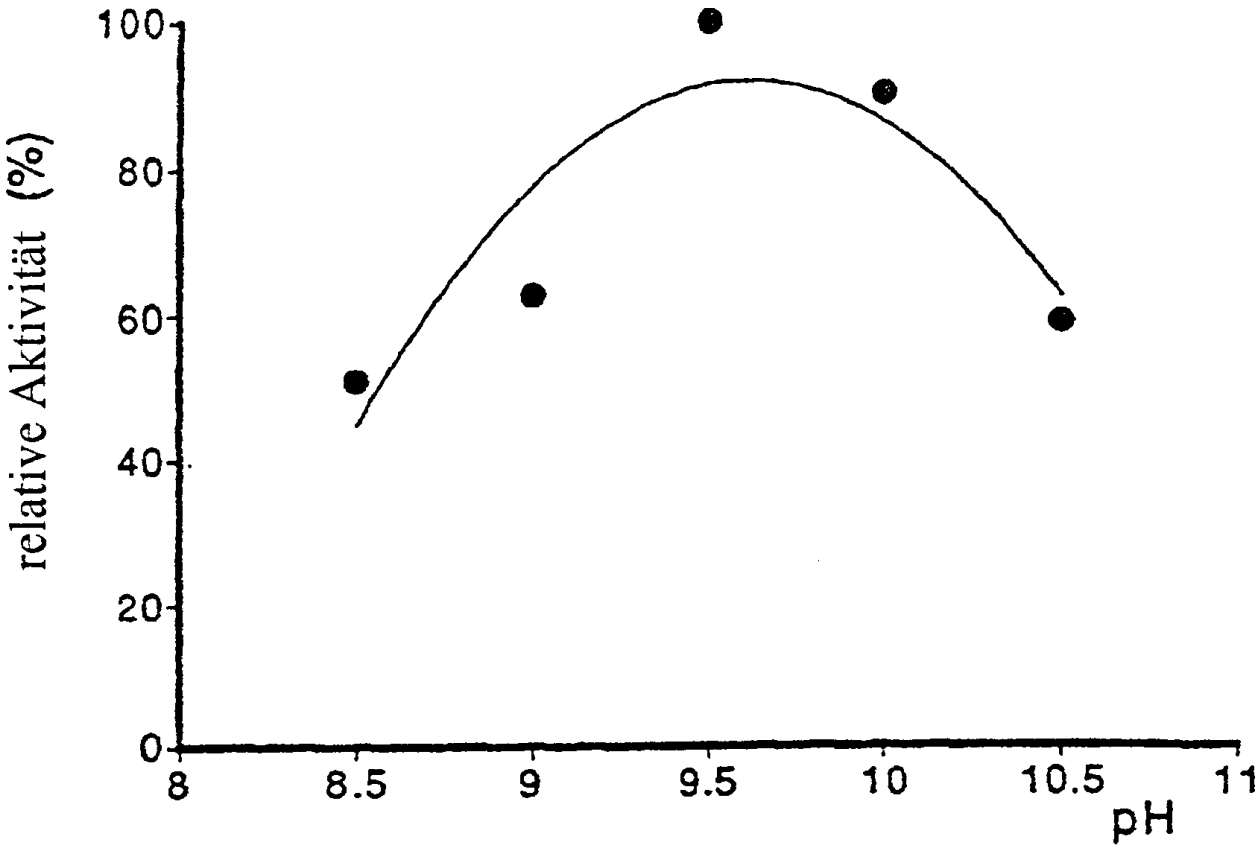
pH-Profil von Lipase LB 524

Abb. 5



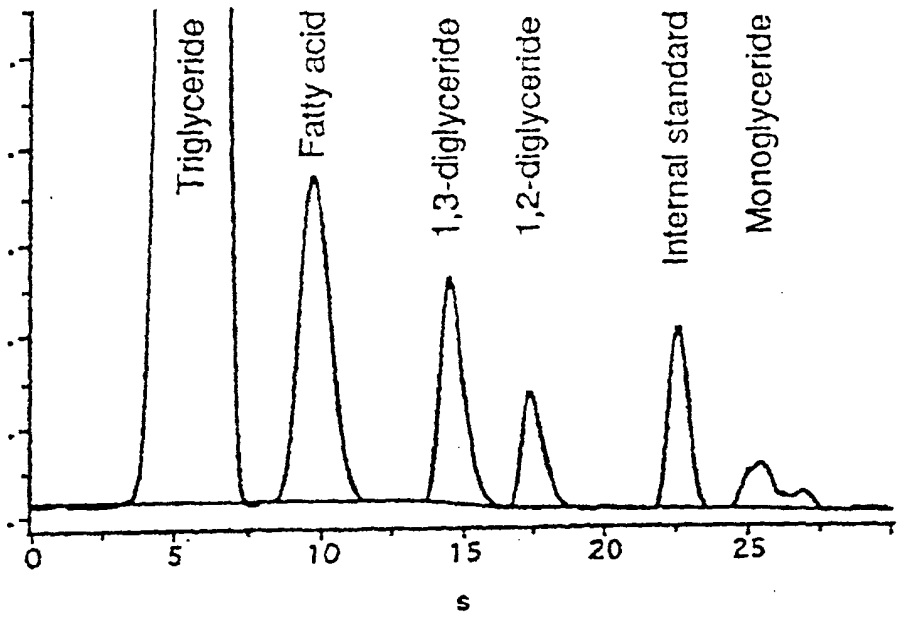
pH-Profil von Lipase ATCC 23899

Abb. 6

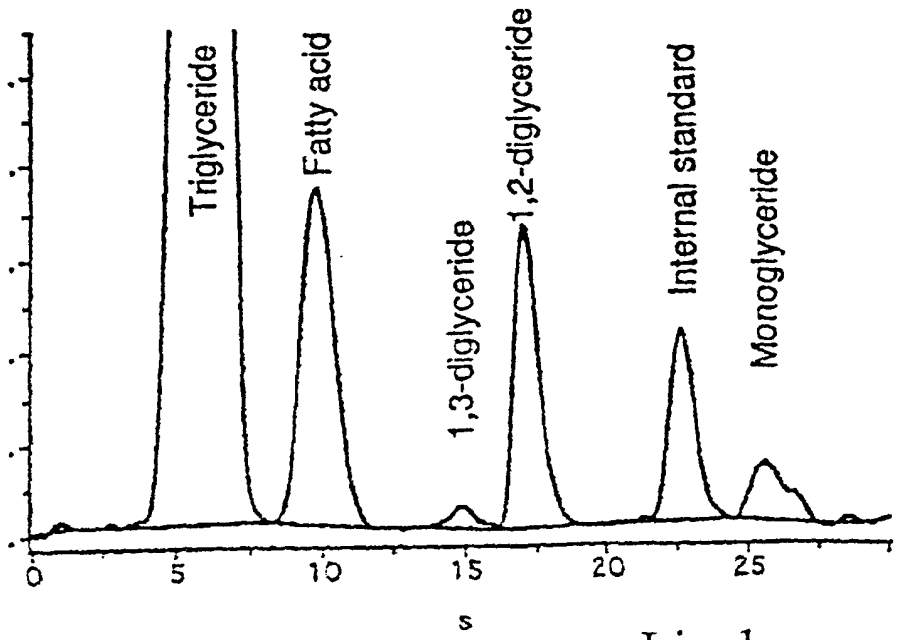


pH-Profil von Lipase ATCC 12433

Abb. 7



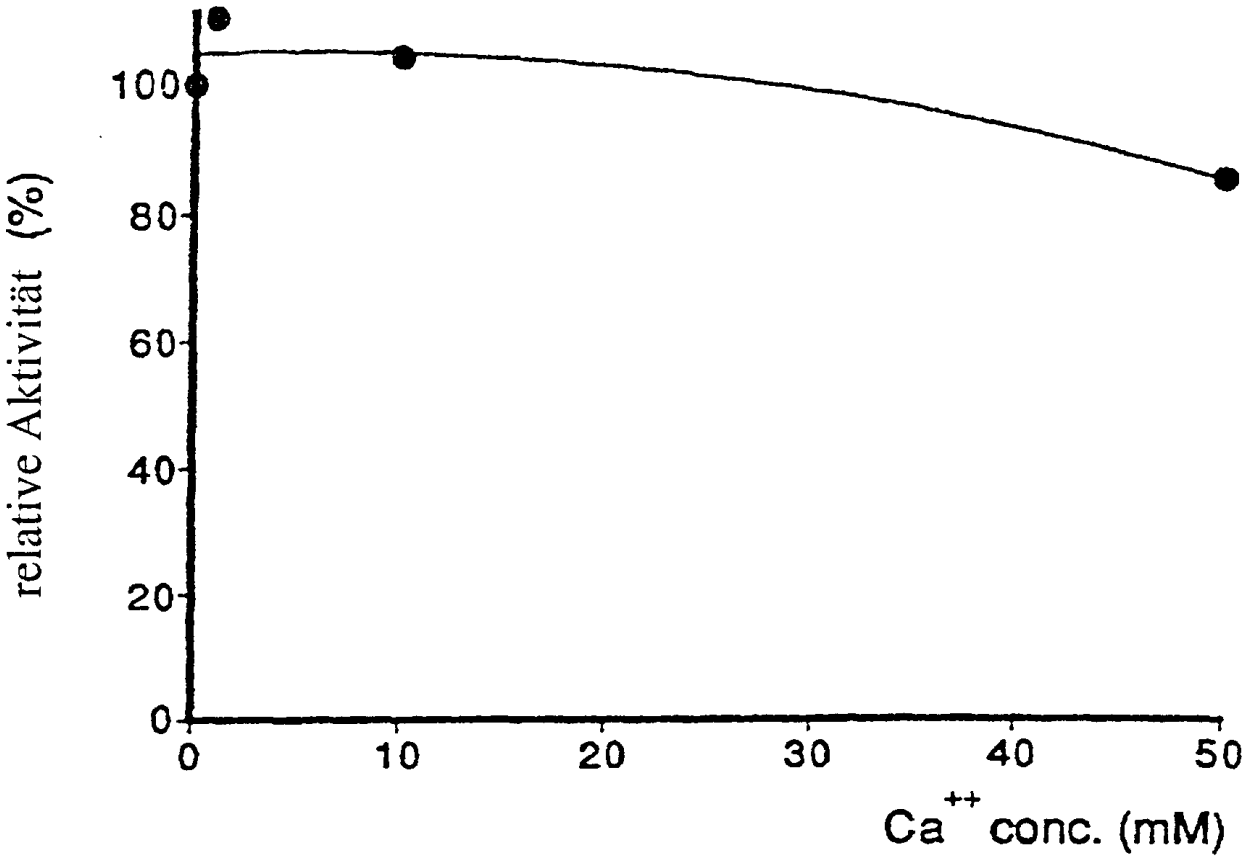
Lipase LB 502



Lipolase

Latrosanchromatogramme

Abb. 8



Wirkung von Ca^{++} auf Lipase LB 502

Abb. 9