

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA
Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

-5 ENE. 1979

5 ENE 1979
Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

11	NUMERO	H 718 967	10	AI
21	FECHA DE PRESENTACION	20-7-78		

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:	32	FECHA	33	PAIS
31	NUMERO		20 de julio de 1977		Inglaterra.
			que fué completada el 17 de mayo de 1978		
47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			B01S		
54	TITULO DE LA INVENCION				
	PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR PARTICULAS CONTENIENDO ENZIMAS.				
71	SOLICITANTE (S)				
	GIST-BROCADES N.V.				
	DOMICILIO DEL SOLICITANTE				
	1, Wateringseweg, Delft, Holanda.				
72	INVENTOR (ES)				
	Pieter Karel Bogerman. Petrus Johannes Eygermans. Antoon Gerardus Van Velzen.				
73	TITULAR (ES)				
74	REPRESENTANTE				
	GOMEZ-ACEBO Y POMBO.				

Esta invención se relaciona con un procedimiento para preparar enzimas, en forma particulada, especialmente para preparar enzimas como las normalmente utilizadas en las composiciones de lavado así como las utilizadas para otros fines, por ejemplo, en composiciones farmacéuticas.

Los enzimos han sido utilizados durante varios años en composiciones de lavado. Uno de los problemas que surgen en la formulación de composiciones de lavado enzimáticamente activas es el hecho de que cuando se formula la composición de lavado enzimática se forma polvo de enzima. Esto es desagradable para los operarios que trabajan con las composiciones enzimáticas y a veces se presentan irritaciones en la piel o reacciones alérgicas.

La formación de polvo de enzima puede evitarse en un grado considerable teniendo la enzima en una forma distinta al polvo que normalmente se obtiene. Esto se efectúa ventajosamente poniendo la enzima en forma particulada sólida. Son ya conocidos los procesos para poner las enzimas en forma particulada, por ejemplo como se describe en la Patente británica No. 1.324.116, la cual describe un proceso en donde una mezcla líquida de la enzima y un aglutinante, es decir un emulsionante no iónico de bajo punto de fusión, se dispersa en gotas por medio de un disco dentado y se conduce a una torre de refrigeración en donde se dejan solidificar dichas gotas. De este modo, se obtiene un producto libre de polvo que se formula fácilmente en composiciones de lavado.

Aunque las partículas enzimáticas obtenidas de acuerdo con la citada patente son buenas y pueden utilizarse sin riesgo de formación de polvo, las mismas pueden ser mejoradas para evitar que, si se ejerce presión mecánica sobre las

partículas, por ejemplo la presión del pie de alguien que ande sobre las partículas desparramadas, se disgreguen fácilmente en partículas más pequeñas y en polvo, de modo que el polvo enzimático procedente de las partículas rotas pueda ser transportado junto con corrientes de aire.

Constituye un objeto de la presente invención proporcionar partículas enzimáticas que no se disgregan o prácticamente no se disgregan para formar polvo cuando se aplica sobre las mismas una presión mecánica.

La presente invención proporciona un procedimiento para preparar partículas conteniendo enzimas que no forman polvo, o prácticamente no forman polvo, cuando se ejerce una presión mecánica externa sobre las mismas, que comprende mezclar homogéneamente una cantidad (preferiblemente de hasta 50% aproximadamente) de una enzima en forma seca o sustancialmente seca, para dar la actividad enzimática deseada en las partículas cuando se conforman, 20 a 60% aproximadamente (con preferencia 30 a 50% aproximadamente) de un agente cohesivo orgánico hidrófilo compatible con la enzima, 10 a 60% aproximadamente (con preferencia 20 a 45 % aproximadamente) de un agente de carga adecuado para utilizarse en composiciones enzimáticas, y una pequeña cantidad de agua, si es necesario, suficiente para dar un contenido en humedad en las partículas, cuando se forman, de 5 a 15 %; dividir la mezcla obtenida mecánicamente en partículas, por ejemplo pellets, del tamaño deseado; y revestir las partículas para evitar la pérdida de humedad. (Puede que no sea necesario añadir agua en el caso de que el contenido en humedad de los componentes sea suficiente para suministrar el contenido en humedad requerido en el producto final). Opcionalmente, se puede añadir una cantidad de un agente regula-

dor de humedad suficiente para mantener un contenido en humedad en las partículas (una vez conformadas) de 5 a 15 % aproximadamente, a temperaturas normales y a humedades relativas también normales.

5 Los porcentajes mencionados en esta memoria y en las reivindicaciones adjuntas son porcentajes en peso, a menos que se diga lo contrario.

10 Para los fines de las composiciones de lavado, la formulación básica se pueda elegir entre una amplia gama de materias primas, puesto que no es necesario que sean consumibles, si bien son preferiblemente biodegradables. Para las composiciones farmacéuticas, destinadas a la administración oral, los componentes deberán ser comestibles y farmacéuticamente aceptables.

15 Las partículas conteniendo enzimas, obtenidas según la invención, son extremadamente útiles para composiciones de lavado si, para esta finalidad, las enzimas se eligen entre las normalmente usadas en las composiciones de lavado. Ejemplos de aquellas enzimas son las enzimas proteolíticas (proteasas),
20 enzimas amilolíticas (amilasas) o enzimas lipolíticas (lipasas) y mezclas de las anteriores. Ejemplos de enzimas proteolíticas adecuadas son las enzimas de origen bacterial, tales como las enzimas proteolíticas de especie Bacillus, por ejemplo, B. subtilis, B. licheniformis y B. alcalophilus. Igualmente,
25 las enzimas amilolíticas son preferiblemente enzimas de origen bacterial, tales como las enzimas amilolíticas producidas por especies de Bacillus, por ejemplo, B. subtilis. Algunas bacterias producen simultáneamente enzimas proteolíticas y aminolíticas adecuadas. Las enzimas lipolíticas que pueden ser usadas
30 son con preferencia enzimas de origen microbial. Estas se pueden

producir por especies de Candida, por ejemplo, Candida cylindraceae . Igualmente, las lactasas son de utilidad. Las enzimas útiles para composiciones farmacéuticas son, por ejemplo, invertasa, glucoamilasa, etc.

5

10

15

El **cohesivo** orgánico hidrófilo usado en la formación de la mezcla de enzimas puede seleccionarse entre derivados de almidón y celulosa y un tipo preferido de derivado de almidón es amilopeptina acetilada denominada "goma de amilopeptina". Este tipo de goma es una amilopeptina con un grado de acetilación de 5 a 30% aproximadamente. Ejemplos de otros agentes cohesivos de utilidad son la goma arábiga, dextrina, goma de karaya, metilcelulosa, tragacanto y otros tipos de amilopeptina, o como metilaminopeptina. Igualmente, se pueden emplear ciertos hidrolisatos de almidón (con preferencia con un DE (equivalente dextrosa) de aproximadamente 30); puede utilizarse un hidrolisato de almidón como cohesivo en el caso de que tenga propiedades cohesivas, es decir si contiene derivados de amilopeptina.

20

25

30

El agente de carga incluido en la mezcla enzimática es con preferencia un carbohidrato soluble en agua, conteniendo generalmente de 5 a 12 (preferiblemente 6) átomos de carbono. Ejemplos adecuados de carbohidratos que tienen 5 átomos de carbono - las pentosas - son xilosa, arabinosa, ribosa y lixosa. Ejemplos adecuados de carbohidratos con 6 átomos de carbono - las hexosas - son glucosa, mannososa, galactosa, fructosa y sorbosa. Adicionalmente, pueden emplearse disacáridos, que tienen normalmente 12 átomos de carbono, tales como sucrosa, maltosa o celobiosa. El carbohidrato más preferido es glucosa. Puesto que la glucosa cristaliza bastante fácilmente (así como otros diversos carbohidratos) se puede sustituir una

parte o la totalidad de la glucosa u otro carbohidrato por almidón hidrolizado en un cierto grado. Se utiliza ventajosamente un hidrolisato de almidón con un valor DE de 20 a 70 aproximadamente, con preferencia 30 a 60 aproximadamente. Dichos hidrolisatos de almidón son denominados también jarabes de glucosa. Preferiblemente, se utiliza una cantidad de 40 a 70% aproximadamente del peso total de la carga para sustituir a la glucosa u otro carbohidrato. Los agentes de carga preferidos son glucosa, sucrosa o hidrolisato de almidón.

Podrá apreciarse que los hidrolisatos de almidón que tienen propiedades cohesivas pueden ejercer una doble acción, como agente cohesivo y como agente de carga.

Se pueden añadir agentes lubricantes a la mezcla enzimática con el fin de facilitar la mezcla de los componentes que ha de ser dividida en partículas por medios mecánicos. Con preferencia se añade, a la mezcla enzimática, de 2 a 7 % aproximadamente (convenientemente de 3 a 5 % aproximadamente) de agente lubricante.

Ejemplos de agentes lubricantes que pueden ser usados de acuerdo con la invención, son sustancias poliméricas tales como alcohol polivinílico, aceite o cera de parafina, ácido esteárico y polivinilpirrolidona. Igualmente, el glicerol actúa como agente lubricante.

En la mezcla enzimática se puede incluir un agente regulador de la humedad, en una cantidad suficiente para mantener un contenido en humedad deseado. Es necesario mantener un contenido total en humedad de 5 a 15 % aproximadamente, con preferencia de 5 a 10 % aproximadamente, al objeto de mantener la naturaleza flexible de las partículas enzimáticas después de su formación. Ejemplos de agentes útiles para mantener el conte-

nido en humedad, son los polioles que tienen de 2 a 6 átomos de carbono y de 2 a 4 grupos hidroxí unidos a diferentes átomos de carbono. Ejemplos de este grupo de compuestos son etilenglicol, 1,2-propilenglicol y 1,3-propilenglicol, 1,2-, 1,3- y 2,2-butilenglicol, glicerol y sorbitol. Preferiblemente se utilizan glicerol y sorbitol. Con el fin de mantener el citado contenido en humedad, se añade, en función de las circunstancias, de 0,5 a 5 % aproximadamente, con preferencia de 1 a 3 % aproximadamente, de dicho componente regulador de la humedad.

Adicionalmente, se pueden añadir a la mezcla enzimática otros ingredientes antes de la formación de partículas a partir de dicha mezcla, por ejemplo puede añadirse un pigmento tal como dióxido de titanio o un abrillantador óptico. Las cantidades normalmente usadas son de 1 a 10% aproximadamente, con preferencia de 3 a 7 % aproximadamente, de pigmento, especialmente en el caso de dióxido de titanio.

En adición, se pueden añadir cargas, tales como sílice, *Penicillium mycelium*, polvo o fibras conteniendo celulosa, serrín y bentonita, en cantidades de, por ejemplo, 3 a 10%. Dichas cargas se pueden añadir al objeto de lograr la estabilidad estructural de las partículas, especialmente cuando las composiciones han de ser manipuladas en grandes cantidades.

Los ingredientes se pueden mezclar entre sí en cualquier secuencia, a temperatura ambiente e incluso a temperaturas elevadas, dependiendo la temperatura máxima de la naturaleza de la enzima.

La mezcla es un polvo a temperaturas normales pero se hace plástica a temperaturas elevadas y tras la aplicación de presión. La menor temperatura a aplicar puede ser aque-

lla en la cual la mezcla se hace plástica y la mayor temperatura dependerá de la naturaleza de la enzima. En general son adecuadas las temperaturas de 40 a 70°C aproximadamente, aunque en casos particulares pueden emplearse, o deben emplearse, otras temperaturas. La plastificación de la mezcla se puede efectuar mediante un mezclador-amasador y, en principio, puede usarse cualquier mezclador en el cual la mezcla se plastifique bajo condiciones suaves (con bajo esfuerzo cortante) y a partir del cual la mezcla plastificada puede retirarse de forma discontinua o continua.

Directamente después de la plastificación, la mezcla todavía plástica se prensa a través de una bomba y aparato formador de cordón, por ejemplo, una bomba de engranajes y un extruder. El aparato formador de cordón puede comprender un plato de un único orificio o de múltiples orificios, a través de los cuales pueden formarse cordones con la sección transversal deseada, por ejemplo secciones transversales de 0,5 a 3 mm aproximadamente, con preferencia de 0,7 a 1,5 mm.

Las partículas deseadas se pueden obtener en forma granulada cortando los cordones así formados. La instalación de granulación para dicha finalidad puede situarse a cierta distancia del plato de orificios. La granulación puede realizarse también mediante una instalación de corte proporcionada con uno o más bordes en movimiento que cortan al producto extruído sobre el plato de orificios. El equipo de corte está compuesto preferiblemente de un número de cuchillas rotativas de madera que las cuchillas, en función de la situación del eje de rotación con respecto al plato de orificios, se mueven continuamente o bien una vez por rotación, a través del plato de orificios.

Igualmente, es posible combinar las etapas de plastificación, bombeo y granulación en un solo equipo, por ejemplo un extruder de husillo. La tolva del extruder se llena con mezcla en polvo la cual, cuando se alimenta al equipo, se hace plástica por el calor y presión generados por el husillo rotativo. La última parte del husillo efectúa una acción de mezcla y una generación de presión suficiente para la extrusión a través de un plato de múltiples orificios.

Los componentes de la mezcla, en la proporción deseada, se pueden suministrar también por separado a un equipo adecuado que combina las etapas de mezclado, plastificación, bombeo y extrusión a través de un plato de orificios. Como ejemplo de dicho equipo se pueden mencionar un extruder de doble husillo proporcionado con auxiliares de mezclado.

En función del tamaño deseado de las partículas enzimáticas, se utiliza un plato con orificios de 0,5 a 3 mm aproximadamente, con preferencia de 0,7 a 1,5 mm, aunque pueden emplearse, en casos particulares, orificios mayores o inferiores. El tamaño y también la forma de las partículas enzimáticas depende igualmente de la velocidad de las cuchillas de corte, de su número y de la composición de la mezcla.

Con el fin de evitar la pérdida de humedad, las partículas resultantes se revisten, con preferencia con 0,5 a 5 % aproximadamente (en función del tipo de agente de revestimiento), de un revestimiento que puede seleccionarse, por ejemplo, entre diversos agentes repeledores del agua, tales como aceite de parafina o aceite de linaza, diversos tipos de ceras, por ejemplo cera de tierra, grasa de cacao, cera de candelilla, cera de carnauba, cera de ceresina, lanolina, cera de parafina, cera de aveja y mezclas de las anteriores.

La aglomeración de las partículas, que puede presentarse cuando las mismas se introducen en bolsas para su transporte, puede evitarse revistiendo las partículas, ya revestidas como antes se ha descrito, con un agente antiapelmazante, tal como almidón de maíz u otros almidones, sílices absorbentes, tal como Aerosil o polvo de talco.

Las partículas conteniendo enzimas, obtenidas según la invención, no causan o practicamente no causan la formación de polvo de enzima. La formación de polvo de enzima se puede medir por medio de un método de ensayo normalizado, por ejemplo el ensayo de elutriación. Este ensayo se describe en la Patente belga No. 838.125 y se efectua con una muestra de 60 g. La actividad del polvo se mide, en el caso de una proteasa, en DU (unidades Delft, método descrito en la Patente británica No. 1.353.317, página 4, línea 114 y siguientes).

La formación de polvo, tal y como se mide de acuerdo con el ensayo de elutriación, es para las partículas obtenidas de acuerdo con la invención con una actividad inferior a 100 DU aproximadamente, y con preferencia inferior a 50 DU aproximadamente.

La invención se relaciona adicionalmente con las partículas enzimáticas preparadas de acuerdo con el proceso anteriormente indicado. En función de las condiciones bajo las cuales se han preparado las partículas, las mismas, para utilizarse en composiciones de lavado, pueden tener tamaños de partículas de 0,2 a 3 mm aproximadamente, con preferencia de 0,5 a 1,5 mm aproximadamente, en sección transversal. Para otras finalidades, por ejemplo para composiciones farmacéuticas de administración oral, los tamaños de partícula serán normalmente, tal y como es la práctica normal, superiores. Las partículas son de naturaleza flexible y pueden defor-

marse bajo presión sin que se disgreguen a un polvo causando de este modo la formación de polvo. Sin embargo, las presiones como las que se originan en las bolsas rellenas de partículas, no deben deformar excesivamente a las partículas. La "flexibilidad" de las partículas puede adaptarse a diferentes tamaños de bolsa. En las bolsas pequeñas, la presión sobre las partículas en las regiones más bajas de las bolsas es inferior que en las bolsas mayores y, para bolsas pequeñas, los requerimientos en cuanto a la resistencia a la deformación son menos exigentes que para las bolsas mayores.

La invención se relaciona igualmente con composiciones de lavado que contienen, además de los componentes usuales de las composiciones de lavado, las partículas conteniendo enzimas preparadas de acuerdo con el proceso anteriormente indicado. Estas composiciones de lavado contienen por otra parte uno o más detergentes como los utilizados normalmente en las composiciones enzimáticas de lavado, tales como detergentes no iónicos y detergentes aniónicos, por ejemplo bencenosulfonato de sodio. Las composiciones de lavado contienen normalmente agentes que, inter alia, tienen un efecto reblandecedor sobre el agua de lavado, tales como fosfatos complejos, por ejemplo tripolifosfato sódico, pirofosfato sódico o ablandadores de agua libres de fosfatos, por ejemplo ácido nitrilotriacético o sus sales, o citrato sódico. Se pueden añadir otros componentes, por ejemplo, silicato sódico anhidro, componentes alcalinos débiles tales como carbonato sódico, agentes oxidantes tales como perborato sódico, cargas tales como sulfato sódico y otros componentes tales como carboximetilcelulosa, perfumes, abrillantadores ópticos y pigmentos tal como dióxido de titanio.

Normalmente se emplea una cantidad de partículas enzimáticas preparadas por tratamiento, según la invención, de una enzima proteolítica, para dar a la composición de lavado final una actividad proteolítica de 1.000 a 3.000 aproximadamente, con preferencia de 1.500 a 2.500 aproximadamente, 5 DU/g. La cantidad de detergente usado en la composición de lavado es generalmente de 4 a 20% aproximadamente, con preferencia de 6 a 12 % aproximadamente. La cantidad de agente reblandecedor de agua es generalmente de 35 a 55 % aproximadamente, con preferencia de 40 a 50% aproximadamente. La cantidad 10 de los restantes componentes es en general de 1 a 20% aproximadamente, completando la carga el 100%. La preparación de la composición de lavado se efectúa del modo usual: todos los ingredientes se pueden mezclar entre sí o bien se puede preparar en primer lugar una mezcla madre conteniendo algunos de los 15 ingredientes añadidos en bajos porcentajes.

La presente invención incluye también dentro de su alcance composiciones enzimáticas como las anteriormente descritas, adecuadas para la formación de partículas conteniendo enzima mediante el proceso de la invención. 20

La invención se ilustra por los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

(A) Preparación de partículas conteniendo Maxatase (marca registrada) 25

Se mezclan entre sí los siguientes ingredientes mientras se calienta hasta la disolución de todos los ingredientes:

1 parte en peso de glicerol,

30 2 partes en peso de polivinilpirrolidona

2 partes en peso de Berol-80 (un condensado de alcohol graso C_{18} -óxido de polietileno conteniendo aproximadamente 80 unidades óxido de etileno).

5 Esta mezcla se añade a 26 partes en peso de un concentrado de Maxatase de aproximadamente 1,7 MDU/g y a continuación se añaden:

5 partes en peso de dióxido de titanio,

15 partes en peso de jarabe de glucosa (hidrolisato de almidón de aproximadamente 43 DE),

10 15 partes en peso de glucosa,

33 partes en peso de Amylogum CLS-0473 (una amilopeptina acetilada de Avebe, Holanda), y

1 parte en peso aproximadamente de agua.

15 El contenido total en humedad de la mezcla resultante es de 7 % aproximadamente. La mezcla se combina hasta lograr una pasta homogénea a una temperatura de unos 65°C y se alimenta entonces a un extruder dotado de una placa perforada que tiene orificios de 1 mm. El extruder se proporciona además con dos cuchillas de corte rotativas por detrás de la placa perforada y con una camisa alimentada con agua de refrigeración o calentamiento, según se desee. La pasta se extruye a una temperatura de unos 65°C y los cordones extruídos se cortan inmediatamente en pequeñas partículas mediante las cuchillas cortadoras. Las partículas se enfrían en una bandeja.

25 Las partículas así obtenidas, que tienen secciones transversales de aproximadamente 2 mm y exhiben una actividad proteolítica (calculada) de 0,43 MDU/g, se revisten con 1 % en peso de aceite de parafina, seguido de 3 % de almidón de maíz. Las partículas conteniendo enzima así obtenidas
30 son deformables bajo presión mecánica sin desintegración, pero

bajo la presión normal que se presenta en las partes más bajas de las bolsas normalmente utilizadas, las partículas se deforman fuertemente en una cantidad superior a unos cuantos porcentajes. El ensayo de elutriación muestra un valor de 18 DU.

5 (B) Formulación en una composición de lavado

Las partículas así obtenidas se utilizan para la formulación de una composición de lavado. Se mezclan entre sí los siguientes ingredientes:

- 54 partes en peso de sulfato sódico,
- 10 24 partes en peso de tripolifosfato sódico,
- 6 partes en peso de pirofosfato sódico
- 10 partes en peso de bicarbonato sódico
- 2 partes en peso de carboximetilcelulosa sódica y
- 15 4 partes en peso de dialquilfenoxi poli(etilenoxi)etanol.

Después de mezclar intimamente los ingredientes en una composición de lavado, se añaden 0,5 partes en peso de las partículas conteniendo enzima (preparadas como se ha indicado en (A)) y se mezcla intimamente en toda la composición de lavado. La composición de lavado así obtenida tiene la misma actividad de lavado que una composición de lavado similar en donde las partículas conteniendo enzima fueron sustituidas por una cantidad de las partículas enzimáticas obtenidas según el proceso indicado en la Patente británica No. 1.324.116, que tienen la misma actividad enzimática en la composición de lavado final (aproximadamente 2.000 DU/g).

EJEMPLO 2

Preparación de partículas conteniendo enzima en diversas cantidades de carga y diversos revestimientos

30 A partir de la receta indicada en el ejemplo 1

(A) para las partículas conteniendo enzima, se utilizan las siguientes cargas y revestimientos en las cantidades indicadas:

Carga	Revestimiento 1	Revestimiento 2	Ensayo de elutriación (DU)
5 % C	0,5% E	3% G	45
2 % A	2,5 % E + 2,5 % F	2% A	32
2 % A	2,5 % E + 2,5 % F	3% G	18
2 % A	0,5 % E + 0,5 % F	1% A	10
1 % A	---	1% A	80

5

10

15

20

25

- A = Aerosil 972 (una sílice hidrófoba adsorbente)
- C = Arbocel C250 (un serrín fino)
- D = Bentonita
- E = Aceite de parafina
- F = Monoestearato de glicerol
- G = Almidón de maíz

La Tabla demuestra que todas las partículas preparadas conteniendo enzima, muestran valores de elutriación bastante bajos, siendo las más preferidas las partículas de la cuarta muestra. Las partículas enzimáticas se formulan en las composiciones de lavado en la forma indicada en el ejemplo 1(B). Las composiciones de lavado tienen la misma actividad de lavado que una composición de lavado similar conteniendo las partículas enzimáticas de acuerdo con la Patente británica No. 1.324.116.

El ensayo de elutriación mencionado anteriormente se efectua como sigue:

Un lecho de partículas enzimáticas se expone a una co-

rriente de aire de manera que las partículas que tienen una velocidad final predeterminada o más baja sean arrastradas con la corriente de aire. El método es una modificación del ensayo de elutriación normalizado descrito en BS 3406, volumen 3, 1963, y se efectúa en un tubo de elutriación verticalmente dispuesto conteniendo un filtro de polvo. Las partículas transportadas por la corriente de aire se recogen en el filtro y se pesan, determinándose su actividad enzimática (expresada en unidades de glicina o unidades Amylogum CLS-0473. La velocidad media de la corriente de aire es de 0,8 metros/segundo.

EJEMPLO 3

Preparación de partículas conteniendo enzima con diversas cantidades de otras cargas

A partir de la receta indicada en el ejemplo 1(A) para las partículas conteniendo enzima, se utilizan las siguientes cargas: 2 % de Aerosil 972; 5 % y 10 % de bentonita; 5 % de micelio de penicilina (obtenido del caldo de fermentación resultante de fermentaciones de penicilina G). Las partículas se revisten con 1 % de aceite de parafina, seguido por 1 % de Aerosil 972.

Todas las cargas indicadas resultaron ser de utilidad, aunque las partículas conteniendo 10% de bentonita tendieron a ser un poco frágiles.

Las partículas enzimáticas se formularon en composiciones de lavado en la forma indicada en el ejemplo 1(B). Las composiciones de lavado muestran la misma actividad de lavado que una composición de lavado similar conteniendo las partículas enzimáticas según la Patente británica No. 1.324.116.

EJEMPLO 4

Variación de la receta del ejemplo 1 para la preparación de par-

tículas conteniendo enzima.

5 Se repite la preparación de las partículas según el ejemplo 1 (A) con la diferencia de que Amylogum CLS-0473 se sustituye por una cantidad igual de Paselli MD-30 (un hidrolisato de almidón que tiene un DE de aproximadamente 30, suministrado por Avebe, Holanda). Las partículas se revisten con 1% de aceite de parafina, seguido por 1 % de Aerosil 972.

10 Según otro experimento, se repite la preparación de las partículas según el ejemplo 1(A) excepto que se excluyen el Berol-80, la polivinilpirrolidona y la glucosa y en su lugar se utilizan 10 partes en peso de bentonita. Todos los componentes se mezclan entre sí a una temperatura de unos 65°C y la pasta resultante se extruye y corta en partículas. Las partículas se revisten del mismo modo que las partículas conteniendo Paselli MD-30.

15 Las partículas de ambas preparaciones según este ejemplo, resultaron ser muy útiles y las formulaciones de composición de lavado (preparadas del mismo modo que en el ejemplo 1 (B)) mostraron sustancialmente la misma actividad de lavado que una composición de lavado similar conteniendo partículas enzimáticas según la Patente británica No. 1.324.116.

EJEMPLO 5

Preparación de partículas conteniendo enzima para uso farmacéutico

25 Se utiliza la siguiente receta para la preparación de un granulado según la invención:

25% de glucoamilasa (aprox. 25.000 U/g),

6,25% de invertasa (aprox. 325.000 SU/g),

45% de Amylogum CLS-0473,

30 20% de jarabe de glucosa (hidrolisato de almidón de aprox. 43 DE),

3,75% de glicerol.

5 El polvo se extruye directamente a través de orificios de 1 mm de diámetro y el extruido se corta para formar gránulos. Los gránulos se revisten en la forma descrita en el ejemplo 3. Este tipo de preparación es de utilidad para su administración oral a pacientes que sufren un metabolismo anormal de carbohidratos causado por una deficiencia de invertasa, glucoamilasa o isomaltasa.

EJEMPLO 6

10 Otra preparación de partículas conteniendo Maxatasa

15 Para esta finalidad se emplea la siguiente receta:
50% de Maxatase (2,3 millones DU/g),
35% de Amylogum CLS-0473
15% de jarabe de glucosa (hidrolisato de almidón, aprox. 43 DE).

Esta receta se forma en gránulos en la forma indicada en el ejemplo 5. Después de la granulación, las partículas se revisten con 5 % de dióxido de titanio.

EJEMPLO 7

20 Otra preparación de partículas conteniendo Maxatasa

25 Para esta finalidad se emplea la siguiente receta:
45% de metilcelulosa
20% de Maxatase (2,4 millones DU/g),
10% de jarabe de glucosa (hidrolisato de almidón, aprox. 43 DE),
4% de cera de parafina
5% de dióxido de titanio
2% de glicerol
1% de glucosa.

30 Se prepara un granulado de acuerdo con el método

descrito en el ejemplo 5, encontrándose que tiene propiedades similares. (El revestimiento del granulado se efectua en la forma descrita en el ejemplo 3).

EJEMPLO 8

5 Otra preparación de partículas conteniendo Maxatase

Para esta finalidad se usa la siguiente receta:

- 45% de goma arábica
- 20% de Maxatase (2,4 millones DU/g),
- 10% de jarabe de glucosa (hidrolisato de almidón,
- 10 aprox. 43 DE),
- 4% de cera de parafina
- 5% de dióxido de titanio
- 2% de glicerol
- 14% de glucosa.

15 Se prepara un granulado de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 5, resultando tener propiedades similares. (El revestimiento de los gránulos se efectua en la forma descrita en el ejemplo 3).

EJEMPLO 9

20 Preparación conteniendo amilasa

Para esta finalidad se emplea la siguiente receta:

- 25% de amilasa (16.400 BAU/g),
- 37% de Amylogum CLS-0473.
- 16% de glucosa syrup (hidrolisato de almidón, aprox. 43 DE),
- 25 16% de glucosa
- 5% de dióxido de titanio
- 1% de glicerol

Otra receta también usada fue:

- 50% de amilasa (16.000 BAU/g),
- 30 35% de Amylogum CLS-0473,
- 15% de jarabe de glucosa (hidrolisato de almidón, aprox. 43 DE).

5 A partir de cada una de las recetas se prepara un granulado de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 5, resultando ambos granulados con propiedades similares. El revestimiento de los gránulos se efectúa en la forma descrita en el ejemplo 3).

EJEMPLO 10

Varias formulaciones conteniendo Maxatase

Muestra No.	1	2	3	4	5	6	7
Amylogum CLS-0473 (%)	40	40	40	40	40	40	40
10 Maxatase (%) (1)	20	20	20	20	20	20	20
Sorbitol (%)	-	2	-	-	-	-	-
Glicerol (%)	2	-	2	2	2	2	2
Cera de parafina (%)	-	-	4	-	2	4	4
Aerosil 972 (%)	-	-	-	2	1	-	-
15 Berol 80 (%)	1	1	1	1	1	-	-
Dióxido de titanio (%)	5	5	5	5	5	5	5
Glucosa (%)	22	22	18	20	19	19	14
Jarabe de glucosa (%) (2)	10	10	10	10	10	10	10
Ensayo de elutriación (3)	29	20	14	10	20	32	11

20 (1) 2,18 millones DU/g

(2) hidrolisato de almidón, aproximadamente 43 DE

(3) para 60 gramos de muestra.

El revestimiento de las partículas se efectúa en la forma descrita en el ejemplo 3.

EJEMPLO 11

Preparación conteniendo una proteasa alcalina

Para esta finalidad se emplea la siguiente receta:

34% Amylogum CLS-0473

5 17% de glucosa

17% de jarabe de glucosa (hidrolisato de almidón,
aprox. 43 DE).

7% de ácido esteárico

20% de PB 92 (1,7 millones ADU/g) (1),

10 5% de dióxido de titanio.

(1) PB 92 es una enzima proteolítica alcalina descrita en la
Patente USA No. 4.002.572.

15 Se prepara un granulado de acuerdo con el método
descrito en el ejemplo 5, resultando tener propiedades simila-
res; inter alia el ensayo de elutriación aplicado sobre una
muestra de 60 g, muestra un valor de 95 ADU/g. (El revestimien-
to del granulado se efectua en la forma descrita en el ejemplo
3).

EJEMPLO 12

20 Estabilidad en almacenamiento de un granulado según la invención,
conteniendo Maxatase

25 Se utiliza un polvo de lavado disponible en el
comercio (400 g), conteniendo perborato sódico. Se añade una
cantidad de granulado enzimático del ejemplo 10 (muestra 5),
previamente revestido con 1 % de una mezcla 1:1 de monoesteara-
to de glicerol y aceite de parafina, para obtener una actividad
de 6.000 DU/gramo, y la composición se mezcla totalmente de nue-
vo.

30 A partir de la muestra se toman muestras pesadas
de 20 g aproximadamente para llevar a cabo el ensayo de estabi-

5 lidad en almacenamiento, justamente después del mezclado y después de 0,5, 1, 2 y 3 meses de almacenamiento a 37°C. Las muestras se ensayan después de la disolución de las mismas en agua corriente sintética (conteniendo 111 mg/litro de CaO,
10 27,5 mg/litro de MgO y 210 mg/litro de NaHCO₃ dureza alemana 15^g), conteniendo suficiente ditionito sódico para neutralizar la acción del perborato y diluyendo con agua corriente hasta una concentración adecuada para el ensayo de la actividad en unidades Delft (véase la patente británica No. 1.353.317) (serie A en la siguiente tabla).

15 Se lleva a cabo un ensayo simialr con un granulado disponible en el comercio de la misma enzima (Maxatase P. de Gist-Brocades N.V. Holanda; preparada de acuerdo con el método descrito en la patente británica No. 1.324.116) (serie B). Se obtienen los siguientes resultados:

Tiempo de almacenamiento(en moldes)	0,5	1	2	3
Serie A	100	99	89	91
Serie B	94	92	82	75

20 La tabla demuestra que la estabilidad en almacenamiento de la serie A, según la invención, es buena e incluso es mejor que aquella de la serie comparativa B la cual tenia también una estabilidad evidentemente buena.

EJEMPLO 13

Preparación conteniendo lactasa

25 Para esta finalidad se emplea la siguiente receta:

45 % de Amylogum CLS-0473.

30 % de lactasa (precipitada)

25 % de jarabe de glucosa (hidrolisato de almidón, aprox. 43 DE).

5 Se prepara un granulado de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 5 y se reviste en la forma descrita en el ejemplo 3. Cuando la temperatura se mantiene a 50°C o menos durante la preparación de los gránulos, la actividad del granulado es del 95 % de la actividad de partida, mientras que cuando la temperatura se deja subir a 50-70°C, la actividad restante es considerablemente más baja, es decir 55 % de la actividad original. Este ejemplo demuestra que la temperatura a utilizar depende grandemente de la enzima.

10 EJEMPLO 14

Se emplea la siguiente receta para la preparación de partículas por el procedimiento descrito en el ejemplo 1:

- 1 parte en peso de glicerol
- 15 2 partes en peso de Berol 80
- 1 parte en peso de Maxatase,
- 5 partes en peso de dióxido de titanio
- 22 partes en peso de jarabe de glucosa (hidrolisato de almidón de aprox. 43 DE)
- 20 21 partes en peso de glucosa y
- 46 partes en peso de Amylogum CLS-0473.

Las partículas se revisten en la forma descrita en el ejemplo 1.

25 Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarse en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental.

REIVINDICACIONES

5 1.- Procedimiento para preparar partículas conteniendo enzimas que no forman o prácticamente no forman polvo cuando se aplica a las mismas una presión mecánica externa, caracterizado porque comprende mezclar homogeneamente una cantidad de un
10 enzima en forma seca o sustancialmente seca para dar la actividad enzimática deseada en las partículas una vez formadas; con 20 a 60% aproximadamente de un agente cohesivo orgánico hidrofilo, compatible con el enzima; con 10 a 60% aproximadamente
15 de un agente de carga adecuado para usarse en composiciones enzimáticas; y con una pequeña cantidad de agua, si es necesario, suficiente para dar un contenido en humedad en las partículas, una vez formadas, de 5 a 15%; dividir la mezcla obtenida mecánicamente en partículas del tamaño deseado; y revestir las
partículas al objeto de evitar la pérdida de humedad.

20 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende mezclar homogeneamente hasta 50% de un enzima en forma seca o sustancialmente seca; 20 a 60% de un agente cohesivo orgánico hidrofilo, compatible con el enzima;
25 20 a 60% de un agente de carga adecuado para usarse en composiciones enzimáticas; opcionalmente una pequeña cantidad de agua; y una cantidad de agente regulador de humedad suficiente para mantener un contenido en humedad en las partículas, una vez formadas, de 5 a 15%, a temperaturas normales y bajo humedades
relativas también normales; dividir la mezcla obtenida mecánicamente en partículas del tamaño deseado; y revestir las partículas para evitar la pérdida del contenido en humedad.

3.- Procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque el agente cohesivo hidrofilo se elige entre

almidón y derivados de celulosa.

4.- Procedimiento según la reivindicación 1, 2 ó 3, caracterizado porque el agente cohesivo hidrofílico se elige entre amilopectina acetilada, goma arábiga, goma de karaya, dextrina, metilcelulosa, tragacanto, metilemilopectina e hidrolisatos de almidón que tienen propiedades cohesivas.

5.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el cohesivo hidrofílico es amilopectina acetilada con un grado de acetilación de 5 a 30% aproximadamente.

6.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque la cantidad de cohesivo hidrofílico usado es de 30 a 50% aproximadamente.

7.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el agente de carga se elige entre carbohidratos solubles en agua conteniendo de 5 a 12 átomos de carbono.

8.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque el agente de carga se elige entre glucosa, sucrosa e hidrolisato de almidón.

9.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque el agente de carga es una mezcla de glucosa y 40-70% de hidrolisato de almidón que tiene un Equivalente Dextrosa de 20 a 70 aproximadamente.

10.- Procedimiento según la reivindicación 9, caracterizado porque el equivalente dextrosa del hidrolisato de almidón es de 30 a 60 aproximadamente.

11.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque la cantidad de agente de carga usado es de 20 a 45% aproximadamente.

5 12.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque se añade un agente regulador de la humedad, elegido entre polioles que tienen de 2 a 6 átomos de carbono y 2 a 4 grupos hidroxil unidos a diferentes átomos de carbono.

13.- Procedimiento según la reivindicación 12, caracterizado porque el agente regulador de humedad se elige entre glicerol y sorbitol.

10 14.- Procedimiento según la reivindicación 12 ó 13, caracterizado porque la cantidad de agente regulador de humedad es de 0,5 a 5% aproximadamente.

15 15.- Procedimiento según la reivindicación 14, caracterizado porque la cantidad de agente regulador de humedad es de 1 a 3% aproximadamente.

16.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, caracterizado porque el enzima se elige entre proteasas, amilasas, lipasas, lactasas, invertasa y glucoamilasa.

20 17.- Procedimiento según la reivindicación 16, caracterizado porque las proteasas se eligen entre las producidas por cepas de Bacillus.

18.- Procedimiento según la reivindicación 17, caracterizado porque la cepa de Bacillus es subtilis, Bacillus licheniformis ó Bacillus alcalophilus.

25 19.- Procedimiento según la reivindicación 16, caracterizado porque la amilasa se elige entre aquellas producidas por Bacillus subtilis.

20.- Procedimiento según la reivindicación 16, caracterizado porque la lipasa se elige entre las producidas por cepas de Candida.

30 21.- Procedimiento según la reivindicación 20, carac-

terizado porque la cepa de Candida es Candida cylindraceae.

22.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la cantidad de enzima usada es de hasta 50 % aproximadamente.

5 23.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque se añade adicionalmente un agente lubricante.

10 24.- Procedimiento según la reivindicación 23, caracterizado porque el agente lubricante se elige entre aceite o cera de parafina, ácido esteárico, alcohol polivinílico, polivinil pirrolidona y glicerol.

25.- Procedimiento según la reivindicación 23 ó 24, caracterizado porque la cantidad de agente lubricante usado es de 2 a 7 % aproximadamente.

15 26.- Procedimiento según la reivindicación 25, caracterizado porque la cantidad de agente lubricante es de 3 a 5 % aproximadamente.

20 27.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la división de la mezcla se efectúa por medio de una bomba y aparato formador de fibras.

25 28.- Procedimiento según la reivindicación 27, caracterizado porque el aparato formador de fibras comprende un plato de boquilla con un solo agujero o con múltiples agujeros, teniendo orificios con secciones transversales de 0,5 a 3 mm aproximadamente.

29.- Procedimiento según la reivindicación 28, caracterizado porque los orificios tienen secciones transversales de 0,7 a 1,5 mm aproximadamente.

30 30.- Procedimiento según cualquiera de las reivindi-

caciones anteriores, caracterizado porque las partículas se revisten con 0,5 a 5 % aproximadamente de un agente repeledor de agua.

5 31.- Procedimiento según la reivindicación 30, caracterizado porque el agente repeledor de agua se elige entre aceite de parafina, aceite de linaza, cera de nafta, grasa de cacao, cera de candelilla, cera de carnauba, cera de parafina, cera de abejas, cera de ceresina y lanolina y mezclas de las anteriores.

10 32.- Procedimiento según la reivindicación 30 ó 31, caracterizado porque las partículas se revisten adicionalmente con un agente antiapelmazante.

15 33.- Procedimiento según la reivindicación 32, caracterizado porque el agente antiapelmazante se elige entre almidón de maíz y otros almidones, sílice absorbente y polvo de talco.

34.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la división de la mezcla en partículas se efectúa a una temperatura de 40 a 70°C aproximadamente.

20 35.- Procedimiento para preparar partículas conteniendo enzimas, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 27 hojas escritas a máquina por una sola cara.

25

Madrid, 6 SET. 1978

GIST BROCADES N.V.

J. M. GONZÁLEZ Y PONS
por el Encargado J. GONZÁLEZ

