

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 126**

51 Int. Cl.:
C12N 11/00 (2006.01)
C08G 77/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **09167772 .4**
96 Fecha de presentación: **13.08.2009**
97 Número de publicación de la solicitud: **2163617**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.03.2010**

54 Título: **Preparados de enzimas**

30 Prioridad:
02.09.2008 DE 102008041754

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.06.2012

73 Titular/es:
**EVONIK GOLDSCHMIDT GMBH
GOLDSCHMIDTSTRASSE 100
45127 ESSEN, DE**

72 Inventor/es:
**Thum, Oliver;
Ansorge-Schumacher, Marion;
Wiemann, Lars;
Ferenz, Michael y
Naumann, Matthias**

74 Agente/Representante:
Lehmann Novo, Isabel

ES 2 383 126 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Preparados de enzimas.

5 La invención se refiere a nuevos preparados de enzimas para uso como biocatalizadores.

Los microorganismos y enzimas aisladas encuentran un uso extendido como catalizador en la industria química o en la producción de alimentos. Una perspectiva la proporciona, por ejemplo: A. Liese, K. Seelbach, C. Wandrey, Industrial Biotransformations, Wiley-VCH: 2006, Weinheim, Alemania.

10 Con el fin de garantizar un empleo económico de biocatalizadores de este tipo deben cumplirse algunas condiciones: el biocatalizador debe ser activo durante tiempo suficiente bajo las condiciones de reacción, debería poder ser separado fácilmente después de finalizada la reacción y debería poder ser utilizado de nuevo con la mayor frecuencia posible. De manera ideal, deberían cumplirse estas condiciones para una gama lo más amplia posible de condiciones de reacción (p. ej. intervalo de temperaturas, tipo de los disolventes utilizados, presiones, etc.), con el fin de proporcionar un catalizador lo más universal posible.

20 Con el fin de cumplir estas condiciones, habitualmente es necesario inmovilizar las enzimas o microorganismos con contenido en enzimas utilizados.

A menudo, las enzimas o los microorganismos con contenido en enzimas se inmovilizan de forma no covalente sobre soportes, empleándose a menudo como soportes resinas intercambiadoras de iones o partículas de polímeros que disponen de granulometrías adecuadas. Ejemplos de ellos son los productos comerciales Novozym 435, Lipozym RM IM o Lipozym TL IM de la razón social Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca, o Amano PS, de la razón social Amano, Japón. En el caso de estos ejemplos se trata de lipasas inmovilizadas que encuentran un amplio uso, dado que productos inmovilizados de este tipo muestran también actividades técnicamente aprovechables en sistemas no acuosos, es decir, aquellos que no contienen disolventes o sólo contienen disolventes orgánicos tal como se describe, p. ej., en J. Chem. Soc., Chem. Comm. 1989, 934-935.

30 La solicitud de patente DE 10 2007 031689.7 describe los diversos inconvenientes de las tecnologías de inmovilización disponibles hoy en día, ante todo en relación con la actividad y estabilidad.

35 Al mismo tiempo, esta solicitud enseña una nueva clase de preparados de enzimas, así como un procedimiento para su producción que supera una gran parte de estos inconvenientes. En esencia, se describe que preparados de enzimas estables y muy activos pueden obtenerse adsorbiendo primeramente enzimas o microorganismos con contenido en enzimas sobre un soporte adecuado y, a continuación, proveyendo a este producto inmovilizado de un polímero de silicona el cual es accesible a través de una reacción de hidrosililación.

40 En los ejemplos de realización de esta solicitud, como componentes para la hidrosililación se describen, junto a SiH-siloxanos de diferentes topologías, siloxanos provistos, sin embargo, sólo de radicales orgánicos insaturados en posición terminal.

45 Para el ajuste preciso de las propiedades de los preparados de enzimas así obtenidos sería, no obstante, deseable poder utilizar, junto a cadenas de siloxano, también otros componentes. Es conocido por el experto en la materia que compuestos de silicona tienen propiedades particulares, por ejemplo la miscibilidad limitada con otras clases de sustancias tales como, por ejemplo, muchos derivados oleoquímicos o agua.

50 Por lo tanto, existe además una necesidad de métodos para la inmovilización de las enzimas que superen los inconvenientes del estado conocido de la técnica, con el fin de poner en práctica procedimientos biocatalíticos, hasta ahora no realizables.

55 Por lo tanto, misión de la presente invención era la habilitación de preparados de enzimas que no presenten una o varias de las desventajas de los preparados del estado conocido de la técnica. En particular, deberían proporcionarse preparados de enzimas que presentaran una estabilidad y actividad equiparables a las de los preparados de enzimas revestidos con polímeros de silicona puros, pero que al mismo tiempo presentaran también otros elementos estructurales.

Otras misiones no mencionadas explícitamente resultan del contexto de la siguiente descripción, de los ejemplos así como de las reivindicaciones.

60 Sorprendentemente, se encontró que este problema se puede resolver mediante preparados de enzimas que se

5 obtienen mediante inmovilización de enzimas o de microorganismos con contenido en enzimas sobre un soporte inerte y subsiguiente provisión de un revestimiento de poliéter-siloxano obtenido mediante hidrosililación de polisiloxanos Si-H-funcionales, empleándose en calidad de componentes olefínicos poliéteres portadores de al menos un grupo insaturado en posición terminal y, dado el caso, adicionalmente siloxanos que portan radicales orgánicos insaturados en posición terminal, con la condición de que esté contenido al menos un componente olefínico que presente al menos dos grupos insaturados en posición terminal.

10 Por lo tanto, objeto de la presente invención son preparados de enzimas que se pueden obtener porque productos inmovilizados de enzimas que presentan enzimas o microorganismos con contenido en enzimas inmovilizados sobre un soporte inerte, son provistos de un revestimiento de poliéter-siloxano obtenido por hidrosililación de polisiloxanos Si-H-funcionales con el empleo de poliéteres portadores de al menos un grupo insaturado en posición terminal, así como su uso como biocatalizador industrial.

15 Además, es objeto de la presente invención un procedimiento para la producción de los preparados de enzimas de acuerdo con la invención, el cual se caracteriza porque productos inmovilizados de enzimas, que presentan enzimas o microorganismos con contenido en enzimas inmovilizados sobre un soporte inerte, son provistos de un revestimiento de poliétersiloxano obtenido mediante hidrosililación de polisiloxanos Si-H-funcionales con empleo de poliéteres portadores de al menos un grupo insaturado en posición terminal.

20 Los preparados de enzimas de acuerdo con la invención tienen la ventaja de que presentan una elevada estabilidad frente a fuerzas mecánicas y frente a la desorción. A pesar de estas propiedades mejoradas, los preparados de enzimas de acuerdo con la invención presentan actividades específicas en diferentes mezclas de reacción acuosas (p. ej. en la hidrólisis de tributirina) y no acuosas (p. ej. en la síntesis exenta de disolventes de laurato de propilo), que son lo suficientemente elevadas como para posibilitar un empleo a escala técnica.

25 En lo que sigue se describen a modo de ejemplo los preparados de enzimas de acuerdo con la invención así como un procedimiento para su preparación, sin que la invención deba limitarse a estas formas de realización a modo de ejemplo. Si en lo que sigue se indican intervalos, fórmulas generales o clases de compuestos, éstos no sólo han de comprender los correspondientes intervalos o grupos de compuestos que se mencionan explícitamente, sino también todos los intervalos parciales y grupos parciales de compuestos que pueden obtenerse extrayendo valores (intervalo) o compuestos individuales. Si en el marco de la presente descripción se citan documentos, entonces su contenido ha de pertenecer por completo al contenido de divulgación de la presente invención. Si en el marco de la presente invención se describen compuestos tales como, p. ej., polisiloxanos organo-modificados que pueden presentar múltiples unidades diferentes, éstos pueden presentarse en estos compuestos distribuidos estadísticamente (oligómero estadístico) u ordenados (oligómero de bloques). Datos sobre el número de unidades en compuestos de este tipo han de entenderse como valor medio, sacada la media de todos los correspondientes compuestos.

35 Los preparados de enzimas de acuerdo con la invención se distinguen porque se pueden obtener proveyendo a productos inmovilizados de enzimas, que presentan enzimas o microorganismos con contenido en enzimas inmovilizados sobre un soporte inerte, de un revestimiento de poliéter-siloxano que se obtiene mediante hidrosililación de polisiloxanos Si-H-funcionales, empleándose en calidad de componentes olefínicos poliéteres portadores de al menos un grupo insaturado en posición terminal y, dado el caso, adicionalmente siloxanos que portan radicales orgánicos insaturados en posición terminal, con la condición de que esté contenido al menos un componente olefínico que presente al menos dos grupos insaturados en posición terminal.

40 Para la preparación de los productos inmovilizados de enzimas pueden emplearse células enteras, células en reposo, enzimas purificadas o extractos celulares que contienen las enzimas correspondientes o mezclas de los mismos. Preferiblemente, se emplean enzimas hidrolíticas, p. ej. lipasas, esterases o proteasas, tales como, por ejemplo, lipasas de *Candida rugosa*, *Candida antarctica*, *Pseudomonas sp.*, *Thermomyces lanuginosus*, páncreas de cerdo, *Mucor miehei*, *Alcaligenes sp.*, colesterol esterasa de *Candida rugosa*, esterasa del hígado de cerdo, de manera particularmente preferida, lipasas. Conforme a ello, los productos inmovilizados de enzimas presentan preferiblemente enzimas de la clase de las hidrolasas, preferiblemente lipasas.

45 En calidad de soportes inertes pueden utilizarse soportes orgánicos o inorgánicos inertes. Preferiblemente, en calidad de soportes inertes se utilizan o bien están presentes en el producto inmovilizado de enzimas aquellos soportes particulares que presentan una granulometría en la que al menos el 90% de las partículas presenta un tamaño de partículas de 10 a 5000 µm, preferiblemente de 50 µm a 2000 µm. En calidad de soportes orgánicos pueden emplearse, en particular, aquellos que presenten poliacrilato, polimetacrilato, polivinilrestireno, copolímeros de estireno-divinilbenceno, polipropileno, polietileno, poli(tereftalato de etileno), PTFE y/u otros polímeros o bien se compongan de estos. Como material de soporte pueden emplearse, en función de la enzima a inmovilizar, en particular resinas de intercambio de iones de carácter ácido o básico, por ejemplo Duolite A568, Duolite XAD 761,

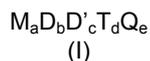
5 Duolite XAD 1180, Duolite XAD 7HP, Amberlite IR 120, Amberlite IR 400, Amberlite CG 50, Amberlyst 15 (todos ellos productos de la razón social Rohm und Haas) o Lewatit CNP 105 y Lewatit VP OC 1600 (productos de la razón social Lanxess, Leverkusen, Alemania). En calidad de soportes inorgánicos pueden emplearse soportes oxidicos y/o cerámicos conocidos por el estado de la técnica. En particular, en calidad de soportes inorgánicos pueden emplearse, por ejemplo, celite, zeolitas, sílice (ácido silícico), vidrio de poros controlados (CPG – siglas en inglés) u otros soportes tal como se describen, por ejemplo, en L. Cao, "Carrier-bound Immobilized Enzymes: Principles, Application and Design", Wiley-VCH: 2005, Weinheim, Alemania. De manera particularmente preferida, los soportes inertes presentes en el producto inmovilizado de enzimas o bien los soportes inertes utilizados para la preparación de los productos inmovilizados de enzimas se componen de ácido silícico, polivinilestireno, polimetacrilato o poliacrilato.

10 La inmovilización sobre las partículas puede tener lugar de acuerdo con la invención de forma covalente o no covalente, preferiblemente de forma no covalente. Para la inmovilización no covalente, el soporte puede incubarse o bien impregnarse, p. ej., con una disolución acuosa de enzimas que puede contener eventualmente otros componentes tales como, p. ej., sales inorgánicas o detergentes. Esta incubación/impregnación puede llevarse a cabo, p. ej., a temperaturas entre 0°C y 50°C, preferiblemente entre 0°C y 40°C. Preferiblemente, la incubación/impregnación tiene lugar a lo largo de un espacio de tiempo de unos pocos minutos hasta algunas horas. El avance de la incubación puede tener lugar mediante determinación de la concentración de la enzima en la disolución con los procedimientos habituales para la determinación de proteínas. Después de alcanzar el grado de inmovilización deseado, el soporte puede lavarse preferiblemente con agua y, si se desea, puede secarse. Un producto inmovilizado en enzimas, así obtenido, se puede proveer a continuación, de acuerdo con la invención, de un revestimiento de poliéter-silicona.

25 Sin embargo, de acuerdo con la invención también se pueden emplear productos inmovilizados de enzimas que se pueden adquirir en el comercio, por ejemplo Novozym 435, Lipozym RM IM o Lipozym TL IM de la razón social Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca, o Amano PS, de la razón social Amano, Japón.

30 El revestimiento de poliéter-siloxano se obtiene, de acuerdo con la invención, mediante hidrosililación. Para ello, preferiblemente polisiloxanos Si-H-funcionales se hacen reaccionar, en presencia de catalizadores, preferiblemente de catalizadores de metales de transición, con poliéteres que portan al menos un grupo insaturado en posición terminal.

35 En calidad de polisiloxanos Si-H-funcionales se emplean preferiblemente Si-H-polisiloxanos de la fórmula general (I),



en donde son

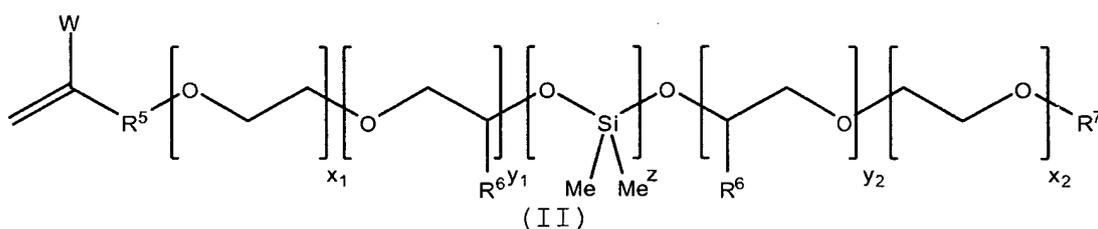
- 40 M = $[R^1_2 R^{2a} SiO_{1/2}]$
D = $[R^1_2 SiO_{2/2}]$
D' = $[R^1 R^{2b} SiO_{2/2}]$
T = $[R^1 SiO_{3/2}]$
Q = $[SiO_{4/2}]$
45 N¹ = a + b + c + d + e = 3 a 850, preferiblemente 6 a 160,
a = 2 a 10, preferiblemente 2 a 4, en particular 2,
b = 1 a 800, preferiblemente 2 a 150,
c = 0 a 400, preferiblemente 2 a 75,
d = 0 a 10, preferiblemente 0,
e = 0 a 10, preferiblemente 0,
50 R¹, independientemente uno de otro, iguales o diferentes, se eligen del grupo que comprende: grupos alquilo con 1 a 30 átomos de C saturados o insaturados, eventualmente ramificados, radicales alquilo con 7 a 30 átomos de C, radicales arilo con 6 a 30 átomos de C, preferiblemente grupos alquilo con 1 a 4 átomos de C o fenilo, en particular metilo,
55 R^{2a}, independientemente uno de otro, hidrógeno o R¹ y
R^{2b}, independientemente uno de otro, hidrógeno o R¹.

Preferiblemente, en calidad de polisiloxano Si-H-funcional se emplea un Si-H-polisiloxano de la fórmula general (I),

- 60 en donde son
N¹ = a + b + c + d + e = 6 a 160,
a = 2,

- b = 2 a 150,
 c = 2 a 75,
 d = 0 y
 e = 0.

- 5 Es habitual para el experto en la materia el que los compuestos se presenten o bien puedan presentarse en forma de una mezcla con una distribución esencialmente regulada por leyes estadísticas. Por lo tanto, los valores para los índices a, b, c, d y e representan habitualmente valores medios.
- 10 De acuerdo con la invención, en calidad de poliéteres portadores de al menos un grupo insaturado en posición terminal se emplean aquellos de la fórmula general (II):



- en donde son
- 15 $N^2 = x_1 + x_2 + y_1 + y_2 = 1$ a 500, preferiblemente 2 a 200, en particular 3 a 100,
 $x_1 = 0$ a 200, preferiblemente 1 a 200, en particular 3 a 100,
 $x_2 = 0$ a 100, preferiblemente 1 a 100, en particular 3 a 100,
 $y_1 = 0$ a 200, preferiblemente 1 a 200, en particular 3 a 100,
 20 $y_2 = 0$ a 100, preferiblemente 1 a 200, en particular 3 a 100,
 $z = 0$ a 500, preferiblemente 0 a 100,
 $W =$ hidrógeno o metilo, preferiblemente hidrógeno,
 R^5 un radical alquileo con 1 a 30 átomos de C eventualmente ramificado, eventualmente sustituido, que porta eventualmente dobles enlaces,
 25 R^6 , independientemente uno de otro, un radical elegido del grupo que comprende metilo, etilo o fenilo, preferiblemente metilo y
 R^7 un radical alquilo o un radical carboxilo con 1 a 30 átomos de C eventualmente ramificado, eventualmente sustituido, que contiene eventualmente dobles enlaces,
 con la condición de que cuando $z = 0$, $x_2 = y_2 = 0$.

- 30 Es habitual para el experto en la materia el que los compuestos se presenten o bien puedan presentarse en forma de una mezcla con una distribución regulada esencialmente mediante leyes estadísticas. Los valores de los índices x_1 , x_2 , y_1 e y_2 representan, por lo tanto, habitualmente valores medios.
- 35 Se prefiere emplear un poliéter de la fórmula general (II), consistiendo el poliéter exclusivamente en componentes de etilenglicol, es decir, $y_1 = y_2 = 0$; de igual manera, se emplea preferiblemente un poliéter de la fórmula general (II), en donde el poliéter está exento de componentes etilenglicol, es decir, $x_1 = x_2 = 0$.

- 40 Se prefiere, además, emplear un poliéter de la fórmula general (II), en donde $x_1 + x_2$ e $y_1 + y_2$ sean en cada caso mayores que 1, de manera particularmente preferida sean en cada caso mayores que 3.

Puede ser ventajoso emplear poliéteres de la fórmula general (II), en los que $z = 0$.

- 45 En una forma de realización preferida del empleo de poliéteres en calidad de participantes en la reacción olefínicos se emplea un poliéter de la fórmula general (II) con $z = 0$, en donde

- R^5 es un radical alquileo con 1 a 30 átomos de C, preferiblemente con 1 a 9 átomos de C, de manera particularmente preferida con 1 a 4 átomos de C, en particular metileno y
 R^7 es un radical alquilo con 3 a 30 átomos de C, preferiblemente con 3 a 11 átomos de C, de manera particularmente preferida con 3 a 6 átomos de C, eventualmente ramificado, insaturado en posición terminal, en particular alilo o metalilo,
- 50

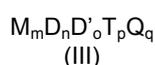
Sin embargo, también puede ser ventajoso que se empleen poliéteres de la fórmula general (II), en los que $z > 0$.

En una forma de realización preferida del empleo de poliéteres en calidad de participantes en la reacción olefínicos, se emplea un poliéter de la fórmula general (II), en donde $z = 1$ a 500, preferiblemente es 3 a 200, en particular es 6 a 100. En esta forma de realización se prefiere emplear un poliéter de la fórmula general (II), en donde son

- 5 $N^2 = x_1 + x_2 + y_1 + y_2 = 2$ a 500, preferiblemente 4 a 200, en particular 6 a 100,
 R^5 un radical alquileo con 1 a 30 átomos de C, preferiblemente con 1 a 9 átomos de C, de manera particularmente preferida con 1 a 4 átomos de C, en particular metileno y
 R^7 un radical alquilo con 3 a 30 átomos de C, preferiblemente con 3 a 11 átomos de C, de manera particularmente preferida con 3 a 6 átomos de C, eventualmente ramificado, insaturado en posición terminal, en particular alilo o metalilo.

De acuerdo con la invención, también se pueden emplear mezclas de los poliéteres que portan al menos un grupo insaturado en posición terminal, en calidad de participantes en la reacción olefínicos.

- 15 Preferiblemente, en calidad de polisiloxanos que portan radicales orgánicos insaturados en posición terminal se emplean polisiloxanos de la fórmula general (III):



- 20 en donde son
- M = $[R^3_2 R^4 SiO_{1/2}]$
D = $[R^3_2 SiO_{2/2}]$
D' = $[R^3 R^4 SiO_{2/2}]$
25 T = $[R^3 SiO_{3/2}]$
Q = $[SiO_{4/2}]$
 $N^2 = m + n + o + p + q = 3$ a 1000, preferiblemente 10 a 600,
m = 2 a 10, preferiblemente 2 a 4, en particular 2,
n = 1 a 800, preferiblemente 2 a 600,
30 o = 0 a 20, preferiblemente 0 a 10, de preferencia 0,
p = 0 a 10, preferiblemente 0,
q = 0 a 10, preferiblemente 0,
 R^3 , independientemente uno de otro, son iguales o diferentes y se eligen del grupo que comprende: grupos alquilo con 1 a 30 átomos de C saturados o insaturados, eventualmente ramificados, radicales alarilo con 7 a 30 átomos de C, radicales arilo con 6 a 30 átomos de C, preferiblemente grupos alquilo con 1 a 4 átomos de C o fenilo, en particular metilo,
35 R^4 , independientemente uno de otro, un radical alquilo insaturado en posición terminal, preferiblemente vinilo, o un radical alcoxi, preferiblemente con 3 a 20 átomos de C, o R^3 .

- 40 En calidad de polisiloxanos en posición terminal que portan radicales orgánicos insaturados en posición terminal se emplean preferiblemente polisiloxanos de la fórmula general (III), en donde son

- $N^2 = m + n + o + p + q = 10$ a 600,
45 m = 2,
n = 2 a 600,
o = 0,
p = 0,
q = 0, y
50 R^4 , independientemente uno de otro, un radical alquilo insaturado en posición terminal, preferiblemente vinilo.

Es habitual para el experto en la materia el que los compuestos de la fórmula (III) se presenten o bien puedan presentarse en forma de una mezcla con una distribución esencialmente regulada por leyes estadísticas. Por lo tanto, los valores para los índices m, n, o, p y q representan habitualmente valores medios.

- 55 Cuando el radical R^7 del poliéter empleado no presenta doble enlace terminal alguno, compuestos de las fórmulas generales (II) y (III) se emplean en la relación molar de 0,001:1 a 1:0,001, preferiblemente de 0,05:1 a 5:1, en particular de 0,05:1 a 1:1.

- 60 Cuando el radical R^7 presenta un doble enlace terminal, pueden emplearse, de acuerdo con la invención, adicionalmente siloxanos que portan radicales orgánicos insaturados en posición terminal. En este caso, se emplean compuestos de las fórmulas generales (II) y (III) en la relación molar de 0,001:1 a 1:0, preferiblemente de 0,05:1 a

20:1, en particular de 0,10:1 a 10:1.

En el caso de emplear poliéteres como participantes en la reacción olefínicos junto con otro componente olefínico de la fórmula general (III) se emplea preferiblemente un poliéter de la fórmula general (II) con $z = 0$, en donde

R^5 es un radical alquileo con 1 a 30 átomos de C, preferiblemente con 1 a 9 átomos de C, de manera particularmente preferida con 1 a 4 átomos de C, en particular metileno y
 R^7 es un radical alquilo con 1 a 30 átomos de C, preferiblemente con 1 a 9 átomos de C, de manera particularmente preferida con 1 a 4 átomos de C, en particular metilo.

La hidrosililación puede llevarse a cabo según métodos establecidos en presencia de un catalizador. En este caso, pueden utilizarse, por ejemplo, catalizadores que habitualmente se emplean para hidrosililaciones tales como, por ejemplo, complejos de platino, rodio, osmio, rutenio, paladio, iridio o compuestos similares, o bien los correspondientes elementos puros o sus derivados inmovilizados sobre sílice, óxido de aluminio o carbón activo, o materiales de soporte similares. Preferiblemente, la hidrosililación se lleva a cabo en presencia de catalizadores de Pt tales como cis-platino o catalizador de Karstedt [tris(diviniltetrametildisiloxano)bis-platino].

Preferiblemente, la cantidad empleada de catalizador asciende a 10^{-7} hasta 10^{-1} mol por cada mol de olefina o bien por cada mol de doble enlace carbono-carbono en posición terminal, preferiblemente a 1 hasta 100 ppm. La hidrosililación se lleva a cabo preferiblemente a temperaturas de 0 y 200°C, preferiblemente de 20 a 120°C.

La hidrosililación puede llevarse a cabo en presencia o en ausencia de disolventes. En general, no son necesarios disolventes para llevar a cabo la reacción. Sin embargo, la reacción puede llevarse a cabo en disolventes adecuados tales como, por ejemplo, hidrocarburos alifáticos o aromáticos, oligosiloxanos cíclicos, alcoholes o ésteres. Disolventes adecuados son, en particular, ciclohexano o tolueno.

De acuerdo con la invención, referido a la masa del soporte empleado, se emplean preferiblemente 1 a 500% en masa, preferiblemente 10 a 300% en masa, de manera particularmente preferida 20 a 200% en masa de componentes de siloxano y de poliéter. Los componentes de siloxano y poliéter se constituyen, en particular, de la suma de los compuestos de las fórmulas (I), (II) y (III) o bien de sus productos de reacción.

La hidrosililación puede llevarse a cabo utilizando las relaciones más diversas de los compuestos de las fórmulas (I) a compuestos de las fórmulas (II), o bien a mezclas de compuestos de las fórmulas (II) y (III). Preferiblemente, la hidrosililación tiene lugar a una relación molar, referida a los grupos reactivos, de 1:10 hasta 10 a 1, preferiblemente de 1:5 hasta 5:1, de manera particularmente preferida de 1:1,5 a 1,5:1 y, de manera muy particularmente preferida, de 1:1,3 a 1,3:1. Mediante la elección de los compuestos de las fórmulas generales (I), (II) y, eventualmente, (III) empleados y de la variación de sus relaciones de mezcla se pueden adaptar a medida las propiedades del revestimiento de poliéter-silicona en relación con la permeabilidad para sustratos y a otras propiedades de la reacción. Mediante la elección de la relación ponderal de componentes de silicona a productos inmovilizados de enzimas se pueden variar los espesores de capa del revestimiento de poliéter-silicona y adaptar a los requisitos correspondientes.

El revestimiento de poliéter-siloxano de acuerdo con la invención, producido mediante hidrosililación, puede obtenerse llevando a cabo la hidrosililación en presencia de los productos inmovilizados de enzimas. Sin embargo, también es posible proveer a los productos inmovilizados de enzimas con posterioridad de poliéter-siloxanos obtenidos mediante hidrosililación. Esto puede tener lugar, p. ej., de modo que los productos inmovilizados de enzimas se tratan con una disolución de los siloxanos y de los poliéteres, p. ej. una disolución de los siloxanos y poliéteres en un disolvente orgánico, en particular ciclohexano o tolueno. A continuación, puede retirarse el disolvente, p. ej., mediante evaporación. La concentración de siloxanos y poliéteres en una disolución de este tipo asciende preferiblemente a 10 hasta 100% en masa, preferiblemente a 30 hasta 100% en masa. Sin embargo, preferiblemente, el revestimiento de poliéter-siloxano de acuerdo con la invención puede obtenerse debido a que la hidrosililación se lleva a cabo en presencia de los productos inmovilizados de enzimas.

Los preparados de enzimas de acuerdo con la invención se preparan preferiblemente mediante el procedimiento de acuerdo con la invención que se describe a continuación. Este procedimiento para la producción de preparados de enzimas se distingue porque productos inmovilizados de enzimas, que presentan enzimas o microorganismos con contenido en enzimas inmovilizados sobre un soporte inerte, se proveen de un revestimiento de poliéter-siloxano obtenido mediante hidrosililación de polisiloxanos Si-H-funcionales, en los que como componentes olefínicos se emplean poliéteres que portan al menos un grupo insaturado en posición terminal y, dado el caso, adicionalmente siloxanos que portan radicales orgánicos insaturados en posición terminal, con la condición de que esté contenido al menos un componente olefínico que presente al menos dos grupos insaturados en posición terminal.

5 Preferiblemente, el procedimiento de acuerdo con la invención se lleva a cabo de modo que los productos inmovilizados de enzimas se provean de un revestimiento de poliéter-siloxano, de modo que los productos inmovilizados de enzimas sean puestos en contacto, bajo condiciones de hidrosililación, con una mezcla de reacción que presenta polisiloxanos Si-H-funcionales, poliéteres que portan al menos un grupo insaturado en posición terminal y, eventualmente, polisiloxanos con contenido en dobles enlaces carbono-carbono en posición terminal, así como un catalizador que cataliza la hidrosililación.

10 Preferiblemente, en el procedimiento de acuerdo con la invención se emplean los componentes mencionados arriba como preferidos para los preparados de enzimas de acuerdo con la invención (polisiloxanos Si-H-funcionales, poliéteres portadores de al menos un grupo insaturado en posición terminal y polisiloxanos con contenido en dobles enlaces carbono-carbono en posición terminal).

15 En particular, el procedimiento se puede llevar a cabo de manera que se lleve a cabo una reacción de hidrosililación en presencia de productos inmovilizados de enzimas que presentan enzimas o microorganismos con contenido en enzimas sobre un soporte inerte. Mediante el poliéter-siloxano que resulta en la hidrosililación, el producto inmovilizado de enzimas se puede proveer de un revestimiento de poliéter-siloxano.

20 La hidrosililación puede llevarse a cabo de una manera conocida por el experto en la materia. Preferiblemente, la hidrosililación se lleva a cabo utilizando los parámetros/sustancias de partida/catalizadores arriba mencionados.

25 En una forma de realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, una cantidad determinada de producto inmovilizado de enzimas se combina con una mezcla (mezcla de reacción) de los reactivos de silicona (compuestos de las fórmulas (I), (II) y, eventualmente, (III) más catalizador), por ejemplo mediante adición de una mezcla que contiene compuestos de las fórmulas generales (I), (II) y, eventualmente, (III), así como catalizador de Karstedt. Así, p. ej., se puede añadir a 1 g de un producto de inmovilizado de enzimas una mezcla de compuestos de las fórmulas (I), (II) y (III) en una relación de mezcla molar de 1:0,6:0,6, así como catalizador de Karstedt, por ejemplo 50 ppm, referido a la cantidad presente de componentes de silicona. Con el fin de la optimización de las propiedades de revestimiento, puede ser ventajoso disolver los componentes de silicona, incluido el catalizador, antes de la adición en un disolvente, por ejemplo ciclohexano, tolueno u otros disolventes orgánicos y luego añadir la disolución al producto inmovilizado de enzimas. Por ejemplo, si se emplea tolueno como disolvente, se ha manifestado ventajoso dispersar intensamente, después de la adición de la disolución a los productos inmovilizados de enzimas, esta mezcla durante aprox. 30 a 45 min, p. ej., mediante un agitador Vortex (Ika, etapa 9) hasta que se haya separado por evaporación una parte principal del tolueno. A continuación, los preparados de enzimas obtenidos se secan o bien se endurecen en el armario de secado a 50°C, por ejemplo durante 12 horas. Mediante modificación de las relaciones de mezcla de los compuestos de las fórmulas generales (I), (II) y, eventualmente, (III) se pueden variar sin problemas las propiedades del revestimiento de poliéter-silicona y adaptar a los requisitos correspondientes.

40 Otra forma de realización del procedimiento de acuerdo con la invención se diferencia de la forma de realización antes mencionada debido a que los productos inmovilizados de enzimas a revestir se sumergen en la mezcla de reacción deseada, a continuación se retiran de la mezcla de reacción y se secan. La separación puede tener lugar, p. ej., utilizando un tamiz que retiene a las partículas de los productos inmovilizados de enzimas. El tiempo de inmersión asciende preferiblemente a 1 hasta 10 minutos. El secado puede tener lugar en un armario de secado habitual. Preferiblemente, el secado/endurecimiento tiene lugar a una temperatura de 20°C a 80°C, preferiblemente a 40°C hasta 60°C, de manera particularmente preferida a aprox. 50°C.

50 En otra forma de realización del procedimiento de acuerdo con la invención, que es particularmente adecuada para su realización a escala técnica, la hidrosililación se lleva a cabo utilizando una unidad de plato granulador (por ejemplo de la razón social Erweka o Eirich). En este caso, una cantidad definida de partículas de producto inmovilizado de enzimas se añade y agita en la denominada unidad de plato. A continuación, se añade la mezcla que contiene compuestos de las fórmulas (I), (II) y, eventualmente, (III), así como catalizador, así como, eventualmente, disolventes o bien, preferiblemente, la mezcla o bien los componentes se aplican en forma de una niebla de gotitas finas utilizando una tobera de dos sustancias (p. ej. de la razón social Schlick, u otra) bajo presión (por ejemplo, nitrógeno o aire sintético), con el fin de garantizar una distribución lo más homogénea posible sobre las partículas. Después de un tiempo de revestimiento prolongado las partículas se retiran tal como se ha descrito arriba y se secan o bien endurecen en el armario de secado durante algunas horas a una temperatura de 20°C a 80°C, preferiblemente de 40°C a 60°C, de manera particularmente preferida de 50°C y, a continuación, pueden almacenarse a la temperatura ambiente hasta su posterior uso.

60 En otra forma de realización, las partículas pueden generarse en un reactor de lecho fluido (por ejemplo de la razón social Glatt), aplicando partículas y la mezcla de reacción bajo intensa dispersión en correspondientes relaciones de

mezcla. De acuerdo con la invención, esto puede llevarse a cabo tanto en el denominado procedimiento de *top-down* (*parte superior-descendente*) como también el denominado procedimiento de *bottom-up* (*fondo – ascendente*) también conocidos como procedimiento Wurster).

- 5 Los preparados de enzimas de acuerdo con la invención pueden utilizarse, p. ej., como biocatalizadores, en particular como biocatalizadores industriales.

Los siguientes Ejemplos han de explicar con mayor detalle la presente invención, sin limitar el alcance de protección que resulta de la descripción y de las reivindicaciones.

10

Ejemplos:

Materiales y métodos:

- 15 Novozym 435 (NZ435) es un producto inmovilizado de enzimas comercial de la razón social Novozymes A/S, Bagsvaerd/Dinamarca, en concreto una lipasa B de *C. antarctica* inmovilizada sobre un polimetacrilato mediante adsorción.

20

Actividad hidrolítica (hidrólisis de tributirina en medio acuoso):

25

La actividad hidrolítica se determinó con el denominado método pH-Stat, en este caso el ácido liberado en la hidrólisis se titula frente a una base, de modo que el valor del pH de la disolución se mantiene constante. A partir de la función en el tiempo del consumo de base se puede cuantificar el ácido liberado y, con ello, la actividad enzimática. Realización a modo de ejemplo: 10 a 20 mg de partículas catalíticamente activas se añadieron a 25 mL de tampón Tris-HCl (1 mM, pH 7,5; contiene adicionalmente NaCl 0,1 mM y CaCl₂) y 500 µL de tributirina. La actividad hidrolítica se cuantificó en el auto-titulador (Tritroline alpha, razón social Schott) a través de la cantidad de la base añadida por titulación (NaOH 50 mM).

30

Actividad de síntesis en unidades PLU (actividad de síntesis de laurato de propilo en sistema exento de disolvente):

35

10 mg de partículas catalíticamente activas se añadieron a 5 mL de disolución de sustrato equimolar (ácido láurico y 1-propanol) y se incubaron con sacudimiento o agitación a 60°C. Se tomaron muestras (V_{muestra}: 50 µL) a lo largo de 25 min cada 5 min y se transfirieron a 950 µL de decano (patrón interno: dodecano 4 mM). La determinación de las PLUs tuvo lugar con ayuda de las tasas de formación de producto iniciales. La detección de laurato de propilo (tiempo de retención: 9.791 min) tuvo lugar por cromatografía de gases (Shimadzu 2010, columna BTX razón social SGE; longitud 25 m, D.I. 0,22 µm; película: 0,25 µM; tipo de detector: FID a 300°C; temperatura del inyector: 275°C y volumen de inyección 1 µL, relación de disociación 35,0; presión del gas de soporte (helio) 150 kPa; programa de temperaturas: temperatura inicial 60°C mantenida durante 1,5 min, aumento de la temperatura 20°C/min, temperatura final 250°C mantenida durante 2,5 min).

40

Ejemplo Comparativo 1:

Determinación de la estabilidad de desorción de productos inmovilizados de enzimas convencionales.

45

Con el fin de determinar la estabilidad de la desorción de las partículas bajo condiciones de reacción rudas, fracciones de 20,0 mg de NZ435 se sacudieron (en lo que sigue "incubaron") en 20 mL de disolución de MeCN/H₂O (1:1, v/v) a 45°C durante 30 min. Las partículas se recuperaron a través de un filtro de pliegues y se lavaron con 100 mL de H₂O y se secaron durante 12 h a 50°C, con el fin de determinar a continuación, según el esquema arriba descrito, la actividad hidrolítica y la actividad de síntesis en PLU y de compararlas con los resultados de NZ435 nativo a partir de la carga utilizada. Los resultados pueden indicarse también, para una representación más fácilmente comprensible, en porcentaje con respecto a la actividad de partida (en lo que sigue "tasa de recuperación"). Los resultados se pueden deducir de la Tabla 1.

50

Tabla 1:

Resultados de medición del Ejemplo Comparativo 1

Enzimas	Act. de síntesis antes de la incubación [PLU/g]	Act. de síntesis después de la incubación [PLU/g] (tasa de recuperación)	Actividad hidrolítica antes de la incubación [U/mg]	Actividad hidrolítica después de la incubación [U/mg] (tasa de recuperación)
NZ435 nativo	4400	147 (3,3%)	1,54	0,10 (6,5%)

5

Ejemplo 1:Producción de un preparado de enzimas estable

10 Preparación a modo de ejemplo:

15 1 g de partículas de NZ435 se mezclaron en una placa metálica con la mezcla de reacción, consistente en diferentes composiciones de compuestos de las fórmulas generales (I), (II) y (III) (composición, véase la Tabla 2, los componentes de las fórmulas generales (I) y (III) se prepararon según procedimientos habituales para el experto en la materia tal como se describe, por ejemplo, en el documento US 7.196.153 B2; los monoalilpoliéteres de la fórmula general (II) ($R^7 = \text{metilo}$) se prepararon según procedimientos habituales para el experto en la materia tal como se describe, por ejemplo, en los documentos EP 0427088 A2 o DE 2800710 A1, los dialilpoliéteres de la fórmula general (II) ($R^7 = \text{alilo}$) se adquirieron de la razón social Clariant, así como catalizador de Karstedt (Syloff 4000, producto de Dow Corning, EE.UU.). Los componentes de silicona, incluido el catalizador, se disolvieron en cada caso antes de la aplicación en 10 mL de tolueno y luego se añadieron a las partículas en la placa metálica. Después de la adición, se dispersó intensamente de forma directa mediante un agitador Vortex (Ika, etapa 9) durante 30 a 45 min hasta que se había separado por evaporación una gran parte del tolueno. A continuación, las partículas se secaron durante aproximadamente 12 h en el armario de secado a 50°C. Los resultados se representan en la Tabla 2. Las actividades de las partículas revestidas se refieren tanto a la unidad en peso de partícula revestida como también, para una mejor comparación, a la cantidad empleada de NZ435 nativo. Finalmente, estos últimos valores se representan adicionalmente en una relación porcentual con respecto a la actividad del NZ435 nativo (en lo que sigue "rendimiento de actividad").

25

Tabla 2: Composición de las diferentes partículas revestidas

Nº	Cantidad pesada de NZ435	Componente de la fórmula general (I); c = d = 0; R ¹ = R ^{2a} = metilo, R ^{2b} = H	Componente de la fórmula general (II); W = H; R ⁵ = -CH ₂ -; R ⁶ = metilo;	Componente de la fórmula general (III); b = c = d = 0; R ³ = metilo, R ⁴ = vinilo	Proporción de NZ435 [%]	Act. de hidrólisis [U/mg de producto inmov. (U/mg de NZ435; rendimiento de actividad)]	Act. de síntesis [PLU/g de producto inmov. (PLU/g de NZ435; rendimiento de actividad)]
NZ435 ¹	1 g	-	-	-	100	1,54	4400 (4400)
i	1 g	a = 43, b = 5, 490 mg	x ₁ = 25, x ₂ = y ₁ = y ₂ = z = 0, R ⁷ = alilo; 71,4 mg	a = 98 438,6 mg	50	0,50 (1,00; 65%)	1803 (3606; 82%)
ii	1 g	a = 43, b = 5, 735 mg	x ₁ = 25, x ₂ = y ₁ = y ₂ = z = 0, R ⁷ = alilo; 107,1 mg	a = 98 657,9 mg	40	0,48 (1,20; 78%)	1504 (3759; 85%)
iii	1 g	a = 43, b = 5, 514,1 mg	x ₁ = 25, x ₂ = y ₁ = y ₂ = z = 0, R ⁷ = alilo; 38,9 mg	a = 98 447 mg	50	0,47 (0,94; 55%)	1767 (3534; 80%)
iv	1 g	a = 43, b = 5, 771,3 mg	x ₁ = 25, x ₂ = y ₁ = y ₂ = z = 0, R ⁷ = alilo; 58,4 mg	a = 98 670,2 mg	40	0,39 (0,98; 64%)	1592 (3980; 90%)
v	2 g	a = 43, b = 5, 450 mg	x ₁ = 23, y ₁ = 5; x ₂ = y ₂ = z = 0, R ⁷ = metilo; 190 mg	a = 98 2360 mg	40	0,47 (1,20; 78%)	1540 (3850; 88%)
vi	2 g	a = 43, b = 5, 470 mg	x ₁ = 23, y ₁ = 5; x ₂ = y ₂ = z = 0, R ⁷ = metilo; 100 mg	a = 98 2430 mg	40	0,47 (1,20; 78%)	1875 (4687; 106%)
vii	2 g	a = 43, b = 5, 420 mg	x ₁ = x ₂ = 2, y ₁ = y ₂ = 8, z = 15, R ⁷ = alilo; 340 mg	a = 98 2240 mg	40	0,41 (1,03; 67%)	1771 (4428; 100%)
viii	2 g	a = 43, b = 5, 410 mg	x ₁ = x ₂ = 2, y ₁ = y ₂ = 8, z = 15, R ⁷ = alilo; 390 mg	a = 98 2200 mg	40	0,36 (0,90; 58%)	1710 (4275; 97%)

¹ Datos para NZ435 nativo tomados del Ejemplo Comparativo 1

Las partículas producidas según este procedimiento presentan, con respecto al producto inmovilizado no tratado, rendimientos de actividad en la hidrólisis de 55% hasta 78% (Ejemplo 1 i, 1,20 U/mg de NZ435 en comparación con 1,54 U/mg para NZ435 no tratado, tal como se describe en el Ejemplo Comparativo 1). En la síntesis pudieron alcanzarse rendimientos de actividad muy buenos de 80% hasta 106%.

5

Ejemplo 2:

Determinación de la estabilidad de desorción de preparados de enzimas estables

10 Análogamente al Ejemplo Comparativo 1, las partículas obtenidas del Ejemplo 1 se trataron con agua/acetonitrilo y, a continuación, se determinó la actividad de hidrólisis y la actividad de síntesis referidas a la proporción en peso de NZ435 en el preparado. El resultado de esta determinación se puede deducir de la Tabla 3, análogamente al Ejemplo Comparativo 1 también se determinó la tasa de recuperación

15

Tabla 3:
Resultados del Ejemplo 2

	Proporción de NZ435 [%]	Act. de hidrólisis antes de la incubación [U/mg de NZ435]	Act. de hidrólisis después de la incubación [U/mg de NZ435]; (tasa de recuperación)	Actividad de síntesis antes de la incubación [U/mg de NZ435]	Actividad de síntesis después de la incubación [U/mg de NZ435]; (tasa de recuperación)
NZ435 ¹	100	1,54	0,10; (6,5%)	3761	147; (3,9%)
i	50	1,00	0,38; (38%)	3606	340; (9,4%)
ii	40	1,20	0,81; (68%)	3759	2402; (64%)
iii	50	0,94	0,28; (30%)	3534	240; (6,8%)
iv	40	0,98	0,58; (59%)	3980	1500; (33%)
v	40	1,20	0,38; (32%)	3850	425; (11%)
vi	40	1,20	0,43; (36%)	4587	875; (19%)
vii	40	1,03	0,50; (51%)	4428	603; (14%)
viii	40	0,90	0,55; (61%)	4275	695; (16%)

¹ Datos para NZ435 nativo tomados del Ejemplo Comparativo 1

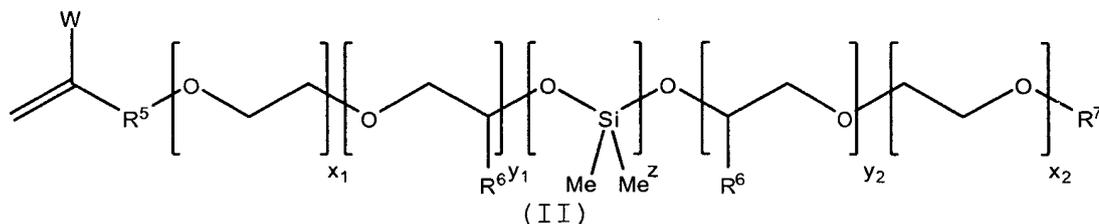
20

Mientras que el producto inmovilizado de enzimas nativo no tratado no muestra casi actividad de hidrólisis o de síntesis alguna después de la incubación, las partículas revestidas con poliéter-siloxano muestran actividades de hidrólisis de hasta 68% la actividad de partida y actividades de síntesis de hasta 64% la actividad de partida.

25

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Preparados de enzimas que se pueden obtener porque productos inmovilizados de enzimas, que presentan enzimas o microorganismos con contenido en enzimas inmovilizados sobre un soporte inerte, son provistos de un revestimiento de poliéter-siloxano obtenido mediante hidrosililación de polisiloxanos Si-H-funcionales, en los que en calidad de componentes olefínicos se emplean poliéteres portadores de al menos un grupo insaturado en posición terminal y, dado el caso, adicionalmente siloxanos que portan radicales orgánicos insaturados en posición terminal, con la condición de que esté contenido al menos un componente olefínico que presente al menos dos grupos insaturados en posición terminal.
- 10 2.- Preparados de enzimas según la reivindicación 1, caracterizados porque los productos inmovilizados de enzimas presentan enzimas de la clase de las hidrolasas, preferiblemente lipasas.
- 15 3.- Preparados de enzimas según una de las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizados porque los soportes inertes presentan una granulometría en la que el 90% de las partículas presenta un tamaño de partículas de 10 a 5000 µm.
- 20 4.- Preparados de enzimas según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizados porque los soportes inertes empleados se componen de ácido silícico, polivinilestireno, polimetacrilato o poliacrilato.
- 25 5.- Preparados de enzimas según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizados porque en calidad de polisiloxanos Si-H-funcionales se emplean Si-H-polisiloxanos de la fórmula general (I), $M_aD_bD'_cT_dQ_e$ (I), en donde son
- 30 M = $[R^1_2R^{2a}SiO_{1/2}]$
D = $[R^1_2SiO_{2/2}]$
D' = $[R^1R^{2b}SiO_{2/2}]$
T = $[R^1SiO_{3/2}]$
Q = $[SiO_{4/2}]$
N¹ = a + b + c + d + e = 3 a 850,
a = 2 a 10,
b = 1 a 800,
c = 0 a 400,
d = 0 a 10,
e = 0 a 10,
- 35 R¹, independientemente uno de otro, iguales o diferentes, se eligen del grupo que comprende: grupos alquilo con 1 a 30 átomos de C saturados o insaturados, eventualmente ramificados, radicales alcarilo con 7 a 30 átomos de C, radicales arilo con 6 a 30 átomos de C,
R^{2a}, independientemente uno de otro, hidrógeno o R¹ y
R^{2b}, independientemente uno de otro, hidrógeno o R¹.
- 40 6.- Preparados de enzimas según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizados porque en calidad de polisiloxanos Si-H-funcionales se emplean Si-H-polisiloxanos de la fórmula general (I), en donde son
- 45 N¹ = a + b + c + d + e = 6 a 160,
a = 2,
b = 2 a 150,
c = 2 a 75,
d = 0 y
e = 0.
- 50 7.- Preparados de enzimas según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizados porque en calidad de poliéteres portadores de al menos un grupo insaturado en posición terminal se emplean aquellos de la fórmula general (II):



en donde son

- $N^2 = x_1 + x_2 + y_1 + y_2 = 1 \text{ a } 500,$
 $x_1 = 0 \text{ a } 200,$
 $x_2 = 0 \text{ a } 100,$
 $y_1 = 0 \text{ a } 200,$
 $y_2 = 0 \text{ a } 100,$
 $z = 0 \text{ a } 500,$
 $W = \text{hidrógeno o metilo},$
 $R^5 = \text{un radical alquileo con 1 a 30 átomos de C eventualmente ramificado, eventualmente sustituido, que porta eventualmente dobles enlaces},$
 $R^6, \text{ independientemente uno de otro, un radical elegido del grupo que comprende metilo, etilo o fenilo, y}$
 $R^7 = \text{un radical alquilo o un radical carboxilo con 1 a 30 átomos de C eventualmente ramificado, eventualmente sustituido, que contiene eventualmente dobles enlaces, con la condición de que cuando } z = 0, x_2 = y_2 = 0.$

8.- Preparados de enzimas según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizados porque en calidad de polisiloxanos que contienen dobles enlaces carbono-carbono en posición terminal se emplean polisiloxanos de la fórmula general (III) $M_m D_n D'_o T_p Q_q$ (III), en donde son

- $M = [R^3_2 R^4 SiO_{1/2}]$
 $D = [R^3_2 SiO_{2/2}]$
 $D' = [R^3 R^4 SiO_{2/2}]$
 $T = [R^3 SiO_{3/2}]$
 $Q = [SiO_{4/2}]$
 $N^2 = m + n + o + p + q = 3 \text{ a } 1000,$
 $m = 2 \text{ a } 10,$
 $n = 1 \text{ a } 800,$
 $o = 0 \text{ a } 20,$
 $p = 0 \text{ a } 10,$
 $q = 0 \text{ a } 10,$
 $R^3, \text{ independientemente uno de otro, son iguales o diferentes y se eligen del grupo que comprende: grupos alquilo con 1 a 30 átomos de C saturados o insaturados, eventualmente ramificados, radicales alcarilo con 7 a 30 átomos de C, radicales arilo con 6 a 30 átomos de C, y}$
 $R^4, \text{ independientemente uno de otro, un radical alquilo insaturado en posición terminal, preferiblemente vinilo, o un radical alcoxi, o } R^3.$

9.- Preparados de enzimas según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizados porque en calidad de polisiloxanos que contienen dobles enlaces carbono-carbono en posición terminal se emplean polisiloxanos de la fórmula general (III), en donde son

- $N^2 = m + n + o + p + q = 10 \text{ a } 600,$
 $m = 2,$
 $n = 2 \text{ a } 600,$
 $o = 0,$
 $p = 0,$
 $q = 0, \text{ y}$
 $R^4, \text{ independientemente uno de otro, un radical alquilo insaturado en posición terminal.}$

- 5 10.- Procedimiento para la producción de preparados de enzimas, caracterizado porque productos inmovilizados de enzimas, que presentan enzimas o microorganismos con contenido en enzimas inmovilizados sobre un soporte inerte, son provistos de un revestimiento de poliéter-siloxano obtenido mediante hidrosililación de polisiloxanos Si-H-funcionales, en los que en calidad de componentes olefínicos se emplean poliéteres portadores de al menos un grupo insaturado en posición terminal y, dado el caso, adicionalmente siloxanos que portan radicales orgánicos insaturados en posición terminal, con la condición de que esté contenido al menos un componente olefínico que presente al menos dos grupos insaturados en posición terminal.
- 10 11.- Procedimiento según la reivindicación 10, caracterizado porque los productos inmovilizados de enzimas se proveen de un revestimiento de poliéter-silicona, de modo que los productos inmovilizados de enzimas son puestos en contacto, bajo condiciones de hidrosililación, con una mezcla de reacción que presenta polisiloxanos Si-H-funcionales, poliéteres que portan al menos un grupo insaturado en posición terminal, eventualmente polisiloxanos con contenido en dobles enlaces carbono-carbono en posición terminal, así como un catalizador que cataliza la hidrosililación.
- 15 12.- Uso de preparados de enzimas según una de las reivindicaciones 1 a 9, como biocatalizador industrial.
- 20