

Zur Verfahrenstechnik der Antibiotika-Fermentation

Von R. Kreutzfeldt^[*]

Die industrielle Fermentation hat insbesondere durch die Antibiotika-Produktion erheblich an Bedeutung gewonnen. In den letzten 25 Jahren wurden etwa 1000 Antibiotika gefunden, etwa 50 – darunter vor allem die Penicilline, Tetracycline und Streptomycine – haben wirtschaftliche Bedeutung erlangt. Die USA stellten 1964 etwa 3000 t Antibiotika (ca. 50 % der Weltproduktion) im Wert von ca. 400 Millionen \$ her. Die Weltproduktion an Penicillinen kann auf etwa 1500 t/Jahr geschätzt werden.

Das Penicillin-Verfahren gehört trotz langjähriger Erfahrung zu den schwierigsten und empfindlichsten. *Fleming* erreichte bei seinen ersten Fermentationen Ausbeuten von 2–10 E/ml; heute sind 10000 E/ml als normal zu betrachten. Die Fermentationen aller Antibiotika verlaufen in technisch ähnlicher Weise. Die Technik der Penicillin-Fermentation sei hier näher betrachtet.

Der Penicillin-Bildner wird als Dauerkultur in wasserfreiem Zustand bei etwa -5°C aufbewahrt, um jeden Stoffwechsel auszuschalten. Aus der Dauerkultur werden im Laboratoriumsmaßstab Vermehrungskulturen angelegt, die in Vorfermentern weitergezüchtet werden. Die Impfmenge für den Hauptfermenter wird zwischen 2 und 20 % der zu erntenden Menge gewählt; größere Impfmengen verkürzen die Fermentationszeit.

Die Fermenter sind mit einem Belüftungssystem, einem Rührwerk sowie einem Kühlsystem, das die Temperatur auf $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ konstant zu halten gestattet, ausgerüstet. Zwischen Sauerstoffversorgung und Penicillinbildung besteht ein enger Zusammenhang. Heute können Fermenter von 400 m³ betriebssicher eingesetzt werden. Die Antibiotika-Fermentation muß unter Ausschluß von Fremdinfektionen durchgeführt werden. Für Großproduktionen kommt dazu nur die Sterilisation durch Dampf in Betracht (mindestens 120°C über mindestens 20 min).

Fermentationsbedingungen: 7 Tage bei $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$; 0,3 m³ Luft pro 1 m³ Nährlösung und pro min. Für die Erzeugung von 100 kg (Ausb. 4,3 %) Penicillin-Na werden benötigt:

[*] Dr. R. Kreutzfeldt
Farbwerke Hoechst A.G.
Pharma-Fabrik/Antibiotika-Betriebe
6230 Frankfurt/(M)-Höchst, Postfach 70

1200 kg Kohlenhydrate, 60 kg tierische und pflanzliche Fette, 770 kg Cornsteep^[**], 220 kg anorganische Substanzen (als Puffer, Schwefel- und Phosphorquelle) und 100 kg Phenyllessigsäure zur Bildung von Penicillin G.

Die Stoffbilanz der Penicillin-Fermentation für diesen Rohstoffeinsatz von 2350 kg lautet: 100 kg Penicillin-Na (4 Gew.-%), 825 kg Pilzmycel (35 %), 660 kg Restsubstanzen in der Kulturlösung (28 %), 765 kg CO₂ (33 %).

Energiestoffwechsel der Penicillin-Fermentation (Verbrennungswärmen der Rohstoffe und der Stoffwechselprodukte werden einander gegenübergestellt; mechanische Energie, die z.B. durch Rühren der Kulturlösung als Wärme zugeführt wird, bleibt unberücksichtigt):

Energiemenge gespeichert in:	kcal	%
Penicillin-Na	586 000	7
Pilzmycel	2 805 000	33
Restsubstanzen in Kulturlösung	1 923 000	23
abgegebener Verbrennungswärme	3 147 000	37
insgesamt umgesetzte Energiemenge d. Rohstoffe	8 461 000	100

Weiterhin sind pro 100 kg Penicillin aufzuwenden: 3000 kWh elektrischer Energie (hauptsächlich zum Rührwerkantrieb), 4 t Dampf (Sterilisation und Siegelung), 50000 Nm³ Brutluft, 900 m³ Kühlwasser (Kühlung der sterilisierten Lösung, Abführung der durch Rührung und biochemische Verbrennung erzeugten Wärme). Die Betriebskosten der Penicillin-Fermentation (ohne Amortisation) gliedern sich folgendermaßen: für Rohstoffe 50 %, für Energien 20 %, für Reparaturen 10 %, Personalkosten 15 %, sonstige Kosten 5 %.

Diese komplizierten biologischen Verfahren sind sehr stör anfällig und bedürfen eingehender Überwachung und genauer analytischer Kontrolle. Auch bei gut eingefahrenen Fermentationsprozessen muß mit Ausbeuteschwankungen von $\pm 15\%$ gerechnet werden. Im allgemeinen wirken sich folgende Faktoren aus: Veränderung des Penicillium-Stammes oder der Rohstoffqualität, Infektionen durch Fremdkeime, Bedienungsfehler und technische Störungen. Die Qualität der Rohstoffe ist für die Fermentationsausbeuten ausschlaggebend. Die größtenteils eingesetzten Naturprodukte werden daher analytisch und biologisch getestet.

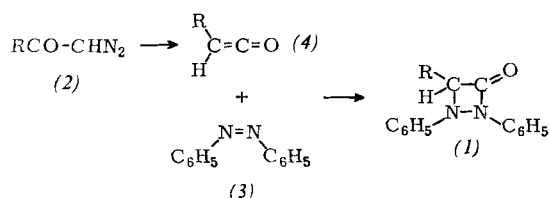
[129. Dechema-Kolloquium, am 21. Oktober 1966 in Frankfurt/M.]

[VB 57]

[**] Unter Cornsteep versteht man ein Nebenprodukt der Maisstärkeherstellung mit einem hohen Gehalt an Aminosäuren und Nährsalzen.

RUNDSCHAU

1,2-Diazetidinone (1) synthetisierten *W. Fischer* und *E. Fahr* durch Bestrahlung von Diazoketonen (2) in CH₂Cl₂ in Gegenwart von Azobenzol (3) mit einem Hg-Hochdruckbrenner. Die primär gebildeten Aldoketene (4) addieren sich hierbei an Azobenzol. (1) sind schwach gelbe oder farblose Substanzen, die aus Äthanol umkristallisiert werden können.



Beispiele: R = *m*-NO₂C₆H₄, Fp = 125°C , Ausbeute 43 %; *p*-ClC₆H₄, Fp = 131°C , 42 %; α -Naphthyl, Fp = 147°C , 30 %; *m*-CH₃O-C₆H₄, Fp = 142°C , 57 %. / Tetrahedron Letters 1966, 5245 / -Ma. [Rd 613]

Eine neue Methode zur Umwandlung geminaler Bis(äthoxycarbonyl)-Verbindungen (1) in Äthylester (2) geben *A. P. Krapcho*, *G. A. Glynn* und *B. J. Grenon* an. Bei ca. vierstündigem Erhitzen von (1) mit mindestens einem Äquivalent NaCN in Dimethylsulfoxid auf ca. 160°C werden die Ester (2) mit guter Ausbeute erhalten. Diese einfache Methode ist dem klassischen Verfahren der Decarboxylierung überlegen.



Beispiele: 1,1-Cyclobutandicarbonsäure-diäthylester \rightarrow Cyclobutandicarbonsäure-äthylester (75 % Ausbeute); 1,1-Cyclopentandicarbonsäure-diäthylester \rightarrow Cyclopentandicarbonsäure-äthylester (75 %); CH₃-CH₂-CH(CO₂C₂H₅)₂ \rightarrow CH₃-CH₂-CH₂-CO₂C₂H₅ (80 %). / Tetrahedron Letters 1967, 215 / -Ma. [Rd 638]