

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 15000 t/Jahr geschätzt werden.

Das Penicillin-Verfahren gehört trotz langjähriger Erfahrung zu den schwierigsten und empfindlichsten. *Flemming* 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 Vorräten 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 m^3 betriebssicher eingesetzt werden. Die Antibiotika-Fermentation muß unter Ausschluß von Fremdinfectionen 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 Phenylessigsäure 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 Stoffwechselendprodukte 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 | 2805 000 | 33 |
| Restsubstanzen in Kulturlösung | 1923 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 Rührwerk antrieb), 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 fol-gende Faktoren aus: Veränderung des Penicillium-Stammes oder der Rohstoffqualität, Infektionen durch Fremdkeime, Bedienungsfehler und technische Störungen. Die Qualität der Rohstoffe ist für die Fermentationsausbeuten ausschlagge-bend. Die größtenteils eingesetzten Naturprodukte werden daher analytisch und biologisch getestet.

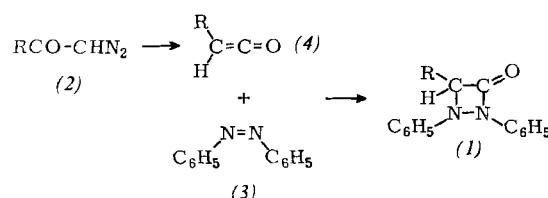
[129. Dechema-Kolloquium, am 21. Oktober 1966
in Frankfurt/M.]

[VB 57]

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

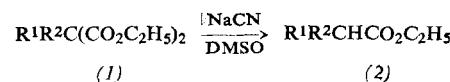
RUNDSCHAU

1,2-Diazetidinone (1) synthetisierten *W. Fischer* und *E. Fahr* durch Bestrahlung von Diazoketonen (2) in CH_2Cl_2 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(äthoxy-carbonyl)-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 Cyclobutancarbonsäure-äthylester (75% Ausbeute); 1,1-Cyclopentandicarbonsäure-diäthylester \rightarrow Cyclopentancarbonsäure-äthylester (75%); $\text{CH}_3\text{---CH}_2\text{---CH}(\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5)_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ (80%). / Tetrahedron Letters 1967, 215 / -Ma. [Rd 638]