

## Inhaltsverzeichnis

Symbolverzeichnis .....	IX
Kurzfassung .....	XIV
Summary .....	XV
<b>1. Einleitung und Problemstellung</b>	
1.1 Einleitung .....	1
1.2 Problemstellung und Zielsetzung .....	3
<b>2. Theoretische Grundlagen und Literaturübersicht</b>	
<b>2.1 Über <math>\beta</math>-Lactamantibiotika, Antibiotikaresistenz und deren Inhibition</b>	
2.1.1 $\beta$ -Lactamantibiotika .....	4
2.1.2 Wirkungsmechanismus der $\beta$ -Lactamantibiotika .....	6
2.1.3 Resistenzmechanismen gegen $\beta$ -Lactamantibiotika .....	8
2.1.4 $\beta$ -Lactamaseninhibitoren .....	12
2.1.5 Inhibitionsmechanismus von Clavulansäure .....	13
<b>2.2 Clavulansäure</b>	
2.2.1 Eigenschaften .....	17
2.2.2 Bedeutung und Marktdaten .....	18
2.2.3 Der Stamm und die biosynthetischen Wege .....	19
2.2.4 Genetik und genetische Optimierung .....	24
2.2.5 Stoffwechsel und Regulation der Produktion .....	25
2.2.6 Herstellung von Clavulansäure .....	29
<b>2.3 Adsorption und Ionenaustausch</b>	
2.3.1 Das Phänomen .....	30
2.3.2 Die Materialien .....	36
2.3.3 Verfahrenstechnische Aspekte .....	40
2.3.4 Modellierung	
2.3.4.1 Thermodynamik .....	43
2.3.4.2 Kinetik .....	46
2.3.4.3 Massenbilanzierung .....	49

### 3. Materialien und Methoden

#### 3.1 Fermentation

3.1.1	Materialien	
3.1.1.1	Mikroorganismus .....	52
3.1.1.2	Nährboden und andere Chemikalien .....	52
3.1.2	Stammhaltung .....	52
3.1.3	Sporenreaktivierung .....	53
3.1.4	Kultivierungsmedien und -bedingungen .....	54
3.1.4.1	ISP1 und ISP2 Medien .....	54
3.1.4.2	Schüttelkolbenversuche .....	54
3.1.4.3	Vorkulturen .....	54
3.1.4.4	Kultivierung im Bioreaktor .....	55
3.1.5	Bioreaktor .....	56
3.1.6	Fest/Flüssig-Trennung .....	56

#### 3.2 Adsorption- und Ionenaustauschversuche

3.2.1	Materialien .....	57
3.2.2	Vorbereitung der stationären Phasen .....	57
3.2.3	Batch-Versuche	
3.2.3.1	Bestimmung der Adsorptionsisothermen .....	58
3.2.3.2	Bestimmung der Adsorptionskinetik .....	58
3.2.3.3	Desorptionsversuche .....	58
3.2.4	Versuche im Festbett .....	59
3.2.5	Modellierung und Simulation	
3.2.5.1	Berechnung der thermodynamischen Parameter .....	59
3.2.5.2	Berechnung der molekularen Diffusionskoeffizienten ...	60
3.2.5.3	Schätzung der minimalen Rührgeschwindigkeit .....	60
3.2.5.4	Berechnung der effektiven Diffusionskoeffizienten .....	62

#### 3.3 Andere Methoden

3.3.1	Bettdichte und Wassergehalt der Matrices .....	66
3.3.2	Partikelgrößenverteilung .....	66
3.3.3	Oberflächen- und Porengrößenverteilungsmessungen .....	66
3.3.4	Stabilitätstests .....	67
3.3.5	Herstellung von Clavulansäure-Standardproben .....	67

<b>3.4 Analytische Methoden</b>	
3.4.1 Bestimmung der Zelldichte .....	68
3.4.1.1 Optische Dichte .....	68
3.4.1.2 Biotrockenmasse .....	68
3.4.2 Bestimmung der Glycerinkonzentration .....	68
3.4.3 Bestimmung der Phosphatkonzentration .....	69
3.4.4 Clavulansäurebestimmung .....	70
3.4.4.1 Spektrophotometrische Methode .....	71
3.4.4.1 HPLC .....	72
3.4.5 Bestimmung der quaternären Ammoniumsalzkonzentration .....	72
3.4.5.1 Spektrophotometrische Methode .....	72
3.4.5.2 HPLC .....	73
<b>4. Ergebnisse und Diskussion</b>	
<b>4.1 Analyse des Herstellungsprozesses für Clavulansäure</b> .....	74
<b>4.2 Fermentation</b>	
4.2.1 Schüttelkolbenversuche .....	79
4.2.2 Kultivierung im Bioreaktor .....	83
<b>4.3 Aufreinigung</b>	
4.3.1 Stabilität von Clavulansäure .....	88
4.3.2 Einleitende Adsorptionstests - Auswahl der Sorptionssysteme	
4.3.2.1 Anwendung von ionischen Matrices .....	91
4.3.2.2 Anwendung von Aktivkohle und von hydrophoben Styrol-DVB-Sorptionsharzen .....	94
4.3.2.3 Anwendung von Ionenpaarsystemen .....	95
4.3.3 Physikalische Charakterisierung der stationären Phasen .....	101
4.3.3.1 Partikelgrößenverteilung .....	103
4.3.3.2 Porengrößenverteilung, spezifisches Volumen und spezifische Oberfläche .....	105
4.3.4 Sorption von Clavulansäure - thermodynamische Aspekte	
4.3.4.1 Isothermen für die Adsorptions- und Ionenaustauschsysteme .....	108
4.3.4.2 Ionenpaarsysteme - Gleichgewichtsverhältnisse zwischen Sorptiv und Ionenpaare bildenden Substanzen .....	110

4.3.4.3	Adsorptionsisothermen für die Ionenpaarsysteme das Doppel-Langmuir'sche Modell .....	120
4.3.4.4	Vergleich zwischen den untersuchten Systemen .....	123
4.3.5	Sorption von Clavulansäure - kinetische Aspekte	
4.3.5.1	Berechnung der molekularen Diffusions- koeffizienten .....	125
4.3.5.2	Auswahl der minimalen Rührgeschwindigkeit .....	126
4.3.5.3	Adsorptionskinetik - Berechnung der effektiven Diffusionskoeffizienten .....	128
	<i>Vergleich zwischen verschiedenen Modellen</i> .....	134
	<i>Einfluß der Anfangskonzentration</i> .....	136
	<i>Einfluß des Partikeldurchmessers</i> .....	138
	<i>Einfluß kompetitiver Mediumkomponenten</i> .....	140
	<i>Einfluß der Temperatur</i> .....	142
	<i>Über die Auswahl des charakteristischen Partikeldurchmessers für die kinetische Beschreibung der Adsorption</i> .....	143
4.3.6	Desorption von Clavulansäure .....	148
4.3.7	Adsorption im Festbett .....	150
4.3.7.1	Durchbruchskurven .....	152
4.3.7.2	Dynamisches Verhalten der Ionenpaarsysteme .....	154
4.3.7.3	Elution und Qualität des Produktes .....	157
4.3.7.4	Vergleich zwischen den Sorptionssystemen .....	157
4.3.7.5	Vorschlag eines auf Ionenpaarsorption beruhenden Aufreinigungsverfahrens .....	165
5.	<b>Zusammenfassung</b> .....	168
6.	<b>Anhang</b>	
6.1	Zusammensetzung der komplexen Stickstoffquellen .....	172
6.2	Kultivierungen im Bioreaktor .....	173
6.3	Stabilitätsversuche .....	178
6.4	Partikelgrößenverteilungen .....	180
6.5	Isothermen .....	181
6.6	Kinetische Versuche .....	186
6.7	Desorptionsversuche .....	193
6.8	Durchbruchskurven und Elutionsprofile .....	194
7.	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	208