



(12) **Ausschließungspatent**

(11) **DD 296 966 A5**

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1  
Patentgesetz der DDR  
vom 27. 10. 1983  
in Übereinstimmung mit den entsprechenden  
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 12 S 5/00

**DEUTSCHES PATENTAMT**

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

---

(21) DD C 12 S / 343 180 1 (22) 31.07.90 (44) 19.12.91

---

(71) siehe (73)  
(72) McCarthy, Kevin J.; Burkhardt, Charles W.; Stehlin, Mark P., US  
(73) Petrolite Corporation, 369 Marshall Avenue, St. Louis, Missouri 63119, US  
(74) Vossius, Tauchner, Heunemann, Patentanwälte, Siebertstraße 4, W - 8000 München 80, DE

---

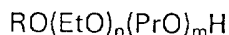
(54) **Verfahren zur Verhinderung oder Reduzierung von Schaumbildung in Fermentationsbrühen durch Verwendung von eth- und propoxylierten Alkoholen**

---

(55) eth- und propoxylierte Alkohole; Fermentationsbrühe; Schaumbildung; Verhinderung; Reduzierung  
(57) Es wird ein Verfahren zur Verhinderung oder Reduzierung von Schaumbildung in einer Fermentationsbrühe beschrieben, wobei man eine wirksame Menge einer Verbindung der allgemeinen Formel  $RO(EtO)_n(PrO)_mH$ , in der R einen  $C_4-C_{30}$ -Kohlenwasserstoffrest, EtO eine Ethoxygruppe, PrO eine Propoxygruppe bedeutet, n einen Wert von 10 bis 40 und m einen Wert von 20 bis 80 hat, zur Brühe gibt.

**Patentansprüche:**

1. Verfahren zur Verhinderung oder Reduzierung von Schaumbildung in einer Fermentationsbrühe, **dadurch gekennzeichnet**, daß man zur Brühe eine wirksame Menge einer Verbindung der allgemeinen Formel



gibt, in der R einen C<sub>4</sub>-C<sub>30</sub>-Kohlenwasserstoffrest, EtO eine Ethoxygruppe, PrO eine Propoxygruppe bedeutet, n einen Wert von 10 bis 40 und m einen Wert von 20 bis 80 hat.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß R einen unsubstituierten n-Alkylrest bedeutet.
3. Verfahren nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß R 8 bis 18 Kohlenstoffatome aufweist.
4. Verfahren nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß R 12 bis 16 Kohlenstoffatome aufweist.
5. Verfahren nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß n einen Wert von 10 bis 30 hat.
6. Verfahren nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß n einen Wert von 15 bis 25 hat.
7. Verfahren nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß m einen Wert von 30 bis 50 hat.
8. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß m einen Wert von 35 bis 45 hat.
9. Verfahren nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß n einen Wert von 10 bis 30 und m einen Wert von 30 bis 50 hat.
10. Verfahren nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß n einen Wert von 15 bis 25 und m einen Wert von 35 bis 45 hat.
11. Verfahren nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Fermentationsbrühe zur Herstellung eines Arzneistoffes dient.

**Anwendungsgebiet der Erfindung**

Die Anwendung der vorliegenden Erfindung erfolgt auf dem Gebiet der Fermentation, z. B. zur Gewinnung von Arzneistoffen.

**Charakteristik der bekannten technischen Lösungen**

Schaumbildung ist in vielen Systemen ein unerwünschter Nebeneffekt. Obwohl einige Theorien zur Schaumbildung entwickelt wurden, ist wenig darüber bekannt, warum einige Verbindungen die Schaumbildung unterdrücken, während andere das nicht tun. Besonders frustierend für die Fachleute auf diesem Gebiet ist die Tatsache, daß jedes Problem der Schaumkontrolle einzigartig ist, so daß immer wieder eine andere Verbindung für die wirksame Schaumkontrolle erforderlich ist. Einige Stoffe sind nur bei der Verhinderung der Schaumbildung wirksam (Antischaummittel), während andere nur zur Reduzierung von schon gebildetem Schaum verwendbar sind (Entschäumer). Es hat sich herausgestellt, daß es nicht möglich ist vorauszusagen, welche Verbindung in einem bestimmten System wirksam sein wird. Daher ist die Schaumkontrolle im wesentlichen ein empirisches Verfahren.

Gemäß Marshall Ott in „Foam Control, A Misunderstood Concept; Household & Personal Products Industry, Februar 1978, stehen zur Zeit etwa 300000 chemische Verbindungen zur Verfügung, von denen Tausende als Entschäumer in bestimmten Systemen wirksam sind. Daher sei es schwierig, exakt festzulegen, welcher Entschäumer wo und warum wirksam ist, so daß dieses Problem am besten den Fachleuten überlassen bleibe. Eine weitere Schwierigkeit liege darin, daß eine Vielzahl von Variablen beachtet werden müsse, wenn man Entschäumer zur Verfügung stellt, die mit den Produktionssystemen verträglich sind.

In „Encyclopedia of Polymer Science and Technology“, Bd. 2 (1964), S. 164 (Antifoaming Agents) wird festgestellt, daß aufgrund der Vielzahl von Materialien, die entschäumt werden müssen, und den extremen Arbeitsbedingungen, kein einzelnes Material universell als chemisches Antischaummittel angewendet werden könne. Einige Systeme seien hauptsächlich wäßrig, während andere als organische Gemische mit nur einem geringen Anteil Feuchtigkeit vorlägen. In anderen Systemen spiele die Abwesenheit oder Gegenwart von Feststoffen eine Rolle. Die Arbeitsbedingungen variierten von Hochdruckdampfzerzeugung bis zur Vakuumdestillation; Düsentreibstoffe könnten beim Flugzeugstart schäumen und niedrig siedende Substanzen könnten beim Abpumpen gasförmiger Erdölrohstoffe aus einer Erdölquelle Schaumbildung verursachen. Was das Ganze noch besonders erschwere, sei die Tatsache, daß ein Mittel das für ein System ein Antischaummittel ist in einem anderen System ein schaumbildendes Mittel sein kann.

Gemäß der „Encyclopedia of Chemical Technology“, Bd. 7 (1979), Seite 433 (Defoamers) werden in einer Papierfabrik ohne weiteres sechs oder mehr Entschäumer in der routinemäßigen Herstellung von beschichtetem Papier eingesetzt. Das gelte ebenso für andere Anwendungen von Entschäumern. Beispielsweise setze ein Farbhersteller verschiedene Entschäumer für die einzelnen Phasen der Farbherstellung ein, wie beim Pigment-Zermahlen, Absetzen, Einfüllen in Behälter und beim Abwasser. Auch die Herstellung von Textilien, von Zucker aus Zuckerrüben und von Düngemitteln erfordere verschiedene Entschäumer für die unterschiedlichen Stufen der Herstellung.

Gemäß „Mechanisms of Foam Stabilization and Antifoaming Action“ von S. Ross, Rensselaer Polytechnic Institute, Chemical Engineering Progress, Bd. 63, Nr. 9, Seite 46, bestehe eine der Erfolgsaussichten in diesem schwierigen Verfahren darin, den Empirismus zu verringern, der gegenwärtig kennzeichnend für die Suche nach einem optimalen Antischaummittel sei. R. D. Kulkarni et al. stellen in ihrem Artikel „Mechanism of Antifoaming Action“ in J. of Colloid and Interface Science, Bd. 59, Nr. 3, Mai 1977, fest, daß das Verhalten eines Antischaummittels oder Entschäumers stark von der Art des Schaumsystems abhängt. Es sei jedoch wenig über die spezifischen Parameter bekannt, die die Antischaum-Wirksamkeit beeinflussen.

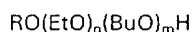
In „The Foams of Fermentation Broths“ von Laszlo Szarka, Biotechnology & Bioengineering, Bd. XI (1969), Seite 701, wird als ein wichtiges Problem üblicher aerober Fermentationsverfahren die Schaumbildung der Medien und ihre Unterdrückung genannt. Für die Fermentation von Antibiotika sei es besonders wichtig, die richtige Methode für die Unterdrückung der Schaumbildung zu wählen und ein geeignetes Antischaummittel auszusuchen.

Die Schaumbildung in Fermentationsbrühen ist besonders problematisch, da das Material so ausgewählt werden muß, daß es Sterilisationsverfahren aushält, für die bei der Fermentation eingesetzten Organismen nicht toxisch ist, nicht den Extrakt des gewünschten Fermentationsprodukts ungünstig beeinflußt und auch ein wirksames Mittel zur Kontrolle der Schaumbildung darstellt. Besonders in der pharmazeutischen Industrie besteht ein großes Bedürfnis nach wirksamen Mitteln zur Kontrolle der Schaumbildung.

Vom technischen Standpunkt aus gibt es eine große Zahl von Fällen, wo Silikone als Mittel zur Kontrolle der Schaumbildung wegen ihrer hervorragenden Eigenschaften bevorzugt sind. Da jedoch Silikone oft 3- bis 10mal teurer sind als andere Verbindungen zur Kontrolle der Schaumbildung, werden Nicht-Silikone aus ökonomischen Gründen bevorzugt, auch wenn ihre Wirksamkeit geringer ist. Es wäre daher wünschenswert, hochwirksame und vom ökonomischen Gesichtspunkt her geeignete Mittel zur Kontrolle der Schaumbildung zur Verwendung in Fermentationsbrühen zur Verfügung zu stellen.

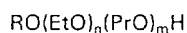
Die Unterdrückung der Schaumbildung in Fermentationsbrühen ist bekannt. Beispiele von üblicherweise verwendeten Verbindungen sind Silikonemulsionen, Silikadispersionen, reine Silikonöle, Polypropylenglykol und verschiedene Blockcopolymeren aus Propylenoxid und Ethylenoxid.

US 3,862,243 (Bellos – Petrolite) offenbart Verbindungen der allgemeinen Formel



in der R einen Kohlenwasserstoffrest, EtO eine Ethoxygruppe, BuO eine Butoxygruppe bedeutet, n einen Wert von 3 bis 30 und m einen Wert von 2 bis 20 aufweist. Gemäß der Lehre des Patents sind diese Verbindungen wertvoll für die Kontrolle der Schaumbildung in vielen verschiedenen Systemarten. Sie kontrollieren die Schaumbildung, die bei Gasbehandlungssystemen auftritt, in welchen ein Gemisch aus Glykolen und Alkanolaminen zur Dehydratisierung und Reinigung von Erdgas verwendet wird, in aktiviertem Schlamm-Verfahren in Abwässeranlagen, insbesondere auf Belüftungsbasis und anderswo; in Protein-Klebelösungen, wie Casein- und Sojabohnen-Klebelösungen, wie sie in der Sperrholzindustrie verwendet werden; in Latex-Klebelösungen, Druckfarben, wäßrigen Emulsionsfarben, etc.

Ähnlich der Lehre des obigen Patents stehen auch handelsübliche Produkte zur Verfügung, die die allgemeine Formel



aufweisen, in der PrO eine Propoxygruppe bedeutet. Diese Verbindungen werden als Antischaummittel für Reinigungssysteme verkauft, wie Geschirrspülmittel, Zusätze für Spülwasser und Verbindungen für Metallspray-Reinigungsmittel; Reinigungsmittel auf Laugenbasis und Walzöl-Formulierungen.

Es sind zahlreiche weitere polyalkoxylierte Verbindungen bekannt und viele dieser Verbindungen sind bekannt als Mittel zur Schaumkontrolle.

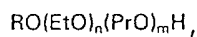
#### Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, Verbindungen zur Verfügung zu stellen, die die Schaumbildung in Fermentationsbrühen verhindern bzw. reduzieren.

#### Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren bereitzustellen, bei dem die Schaumbildung in einer Fermentationsbrühe verhindert oder reduziert wird.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren, bei dem durch Zugabe von Verbindungen der Formel



in der R einen C<sub>4</sub>-C<sub>30</sub>-Kohlenwasserstoffrest, EtO eine Ethoxygruppe, PrO eine Propoxygruppe bedeutet, n einen Wert von 10 bis 40 und m einen Wert von 20 bis 80 aufweist, die Schaumbildung in Fermentationsbrühen wirksam verhindert oder reduziert werden kann.

R ist als ein Kohlenwasserstoffrest definiert, der in bevorzugten Ausführungsformen nur Kohlenstoff und Wasserstoff enthält. In anderen Ausführungsformen kann R auch einige Substituenten aufweisen, vorausgesetzt, daß solche Substituenten den gewünschten Einfluß des Moleküls auf die Kontrolle der Schaumbildung nicht beeinträchtigen. Exakter formuliert sollte R daher ein substituierter Kohlenwasserstoffrest genannt werden. R ist wünschenswerterweise ein unsubstituierter Kohlenwasserstoffrest, wie Alkyl, Alkenyl, Aryl, Cycloalkyl, Alkaryl, insbesondere Alkyl, vorzugsweise geradkettig. R weist 4 bis 30, vorzugsweise 6 bis 22, insbesondere 8 bis 18, besonders bevorzugt 12 bis 16 und am meisten bevorzugt 14 Kohlenstoffatome auf.

EtO ist eine Ethoxygruppe, die vorzugsweise von Ethylenoxid stammt. Die EtO-Gruppe ist n-mal vorhanden, wobei n einen Wert von 10 bis 40, vorzugsweise 10 bis 30 und besonders bevorzugt 15 bis 25 hat.

PrO ist eine Propoxygruppe, die vorzugsweise von Propylenoxid stammt. Die PrO-Gruppe ist m-mal vorhanden, wobei m einen Wert von 20 bis 80, vorzugsweise 25 bis 60, besonders bevorzugt 30 bis 50 und am meisten bevorzugt 35 bis 45 hat.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Verbindungen werden nach üblichen Verfahren hergestellt, die dem Fachmann bekannt sind. Beispielsweise wird der Alkohol, der R entspricht, mit einer katalytischen Menge eines Alkalimetallhydroxids versetzt, das Gemisch erwärmt und dann mit Ethylenoxid zur Umsetzung gebracht, anschließend wird mit Propylenoxid umgesetzt. Die Verbindungen werden in einer Fermentationsbrühe eingesetzt. Unter „Fermentationsbrühe“ wird eine wäßrige Dispersion von einzelnen Zellen und Nährstoffen für diese Zellen verstanden, aus der ein Stoffwechselprodukt oder eine Zellkultur gewonnen wird, oder eine wäßrige Dispersion der Nährstoffe alleine, bevor die Zellen zugesetzt werden. Obwohl die Zellen von vielzelligen Organismen stammen können (insbesondere solche von „unsterblichen“ Zelllinien, oder solche, die Viruskulturen zugesetzt werden), stammen die Zellen vorzugsweise von Bakterien oder Pilzen. Aus der Brühe wird das gewünschte Stoffwechselprodukt oder die Zellkultur gewonnen, vorzugsweise ein Stoffwechselprodukt, insbesondere ein Arzneistoff. Mit „Arzneistoff“ ist eine Substanz (kein Nahrungsmittel) gemeint, das einem Säuger zur Diagnose, Heilung, Vorbeugung oder Behandlung einer Krankheit verabreicht werden kann. Beispiele für Arzneistoffe sind Antibiotika, Hormone, Steroide und Mittel, die die Immunantwort beeinflussen können. Bevorzugte Arzneistoffe sind Antibiotika.

Außer Wasser und gegebenenfalls der Zelllinie enthält die Fermentationsbrühe Nährstoffe für die Zellen. Im allgemeinen umfassen die Nährstoffe eine Kohlenstoffquelle, Stickstoffquelle, Spurenelemente (Salze) und organismusspezifische Zusätze. Kohlenstoffquellen umfassen Monosaccharide, Disaccharide, Polysaccharide, Alkohole, Carbonsäuren, Fette und Kohlenwasserstoffe. Stickstoffquellen umfassen oft auch Kohlenstoff, Beispiele sind Ammoniak, Harnstoff, Bohnenmehl, Getreidemehl, Körnermehl, Fischmehl, Maisquellwasser und Hefeextrakte. Spurenelemente können extra zugefügt werden (üblicherweise in Form von Salzen), werden aber oft auch durch Verwendung von Quellwasser oder normalem Leitungswasser zugefügt. Einige Organismen erfordern auch den Zusatz spezifischer Verbindungen, die sie nicht selbst synthetisieren können. Beispiele dafür sind Aminosäuren, Purine oder Pyrimidine. Die Nährstoffe in Fermentationsbrühen sind dem Fachmann bekannt. Die oxyalkylierten Verbindungen, die erfindungsgemäß eingesetzt werden, werden den Fermentationsbrühen zugesetzt, um die Schaumbildung zu verhindern (Antischaummittel) oder um schon gebildeten Schaum zu reduzieren (Entschäumer). Zur Verwendung als Antischaummittel werden Verbindungen einfach mit der Brühe vermischt und zur Verwendung als Entschäumer werden die Verbindungen einfach in den Schaum eingetropfelt oder eingesprüht. Die Verwendung von Verdünnungsmitteln ist nicht notwendig und ist auch nicht wünschenswert, da sie möglicherweise den Fermentationsprozeß oder die Wirksamkeit der Entschäumer/Antischaummittel beeinflussen.

Damit sie als Antischaummittel wirken, werden die polyalkoxylierten Verbindungen in einer wirksamen Menge zugesetzt, d. h. in einer Menge, die ausreicht, um die Bildung von Schaum in der Brühe zu hemmen. Obwohl die genaue Menge von der Zusammensetzung der Brühe und der Wahl der polyalkoxylierten Verbindung abhängt, wird im allgemeinen die polyalkoxylierte Verbindung in einer Menge von 5 bis 5000, vorzugsweise 25 bis 3000, insbesondere 25 bis 2000 und besonders bevorzugt 50 bis 1000 ppm auf Gewichtsbasis zugesetzt.

Zur Verwendung als Entschäumer werden die polyalkoxylierten Verbindungen in einer wirksamen Menge zugesetzt, d. h. in einer Menge, die ausreicht, um das Volumen des auf der Brühe vorhandenen Schaums zu reduzieren. Da die genaue Menge nicht nur von der Zusammensetzung der Brühe und der Wahl der polyalkoxylierten Verbindung, sondern auch von dem Volumen des schon vorhandenen Schaums und der Gegenwart anderer Antischaummittel abhängt, ist es schwierig, enge Bereiche für die Menge der verwendeten polyalkoxylierten Verbindung anzugeben. Im allgemeinen wird jedoch die polyalkoxylierte Verbindung in einer Menge von 5 bis 5000, vorzugsweise 25 bis 3000, insbesondere 25 bis 2000 und besonders bevorzugt 50 bis 1000 ppm auf Gewichtsbasis zugesetzt.

Die Erfindung ist in den folgenden Beispielen weiter erläutert. In den Beispielen sind alle Teile und Prozentangaben pro Gewicht angegeben, soweit nicht anders erläutert. Alle Fußnoten befinden sich am Ende der Beispiele.

## Ausführungsbeispiele

### Beispiel 1

Eine gesetzlich geschützte aber im Handel erhältliche Fermentationsbrühe (Verwendung in der Antibiotika-Produktion) wurde von dritter Seite zur Bewertung zur Verfügung gestellt. Die Brühe war sterilisiert worden, wurde jedoch möglicherweise während der Probeentnahme verunreinigt. Die Brühe wurde nicht mit Absicht beimpft.

Die Wirkung als Antischaummittel wurde gemäß folgender Verfahren bewertet:

1. Alle Apparate wurden gründlich gereinigt, um jede Spur von Chemikalien von früheren Experimenten zu entfernen.
2. 100 ml der Brühe wurden bei Raumtemperatur in einen 500-ml-Meßzylinder gegeben.
3. Eine Luftpumpe wurde mit einem Gasmesser verbunden, welcher mit einer Pyrex® „12 c“-Gasdispersionsröhre (ASTM 40-60, maximaler Porendurchmesser 25-50 µm) verbunden war, und der Luftstrom auf 2000 ml/Minute eingestellt. Die Dispersionsröhre wurde am Boden des Meßzylinders in die Brühe gelegt.
4. Die Höhe des Schaums wurde nach 0,5, 1, 3 und 5 Minuten gemessen. Da der Meßzylinder nur 500 ml faßt, konnten Schaummessungen über 400 ml nicht durchgeführt werden.
5. Das Verfahren wurde dann unter Zusatz (vorsichtiges Mischen) verschiedener Verbindungen wiederholt, gefolgt vom Reinigungsschritt gemäß Schritt 1. Die Ergebnisse sind in Tabelle I gezeigt. In den Tabellen bedeutet z. B. die Bezeichnung „14-30E-50P“ einen C<sub>14</sub> n-Alkohol (14), der mit 30 Molen Ethylenoxid (30E) und dann mit 50 Molen Propylenoxid (50P) umgesetzt wurde.

Tabelle I

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)			
				0,5 min	1 min	3 min	5 min
1*	–		0	140	160	200	215
2*	PPG-2000 <sup>1</sup>		200	15	20	65	135
3*	PPG-2000 <sup>1</sup>		200	15	25	75	125
4*	PPG-2000 <sup>1</sup>		300	15	15	35	85
5*	PPG-2000 <sup>1</sup>		500	15	10	15	30
6*	PPG-2000 <sup>1</sup>		500	5	5	15	35
7	14-25E-50P		30	0	0	25	60
8	14-25E-50P		50	0	0	5	5
9	14-25E-50P		100	0	0	0	5
10	14-25E-50P		200	0	0	0	0

\* Kein Beispiel der Erfindung.

### Beispiel 2

Die Brühe von Beispiel 1 wurde einen Tag bei 35°C stehengelassen und dann wieder untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle II gezeigt.

Tabelle II

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)			
				0,5 min	1 min	3 min	5 min
1*	–		0	215	225	225	230
2*	PPG-2000 <sup>1</sup>		200	35	40	115	190
3*	PPG-2000 <sup>1</sup>		500	5	15	50	115
4*	PPG-2000 <sup>1</sup>		800	0	5	35	75
5	14-25E-50P		50	0	0	15	50
6	14-25E-50P		100	0	0	5	15
7	14-25E-50P		200	0	0	0	0
8	14-25E-50P		1000	0	5	15	15
9	14-25E-50P		3000	35	40	115	140

\* Kein Beispiel der Erfindung.

### Beispiel 3

26 Liter der Brühe von Beispiel 2 wurden mit 200ppm des 14-25E-50P-Produkts behandelt, 5 Minuten bei 120°C sterilisiert und dann abgekühlt. Schaum, der vor der Zugabe der Verbindung vorhanden war, verschwand und es bildete sich kein neuer Schaum.

### Beispiel 4

Ein ähnlicher Schaum wie in Beispiel 1, bei dem aber größere Schäumungsprobleme auftraten, wurde wie in Beispiel 1 untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle III gezeigt.

Tabelle III

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)			
				0,5 min	1 min	3 min	5 min
1*	–		0	290	315	355	–
2*	PPG-2000 <sup>1</sup>		1000	40	60	290	340
3*	PPG-2000 <sup>1</sup>		2000	15	30	85	285
4*	PPG-2000 <sup>1</sup>		3000	10	15	130	275
5*	PPG-2000 <sup>1</sup>		4000	5	20	90	240
6	14-25E-50P		300	65	100	130	105
7	14-25E-50P		500	5	15	25	35
8	14-25E-50P		700	10	15	20	20

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 5**

In ähnlicher Weise wie in Beispiel 2 wurde die Brühe von Beispiel 3 einen Tag bei 27°C stehengelassen und dann wieder untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle IV gezeigt.

**Tabelle IV**

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)			
				0,5 min	1 min	3 min	5 min
1*	—		0	+365	—	—	—
2*	PPG-2000 <sup>1</sup>		250	115	165	265	—
3*	PPG-2000 <sup>1</sup>		500	70	165	265	—
4*	PPG-2000 <sup>1</sup>		1 000	30	55	265	305
5	14-25E-50P		500	5	5	0	0

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 6**

Eine gesetzlich geschützte, im Handel erhältliche Fermentationsbrühe mit 7% ungelösten Feststoffen (Verwendung für die Antibiotika-Produktion) wurde in ähnlicher Weise wie in Beispiel 1 beschrieben behandelt, mit der Ausnahme, daß die Fermentationsbrühe auf 30°C erhitzt wurde und der Luftstrom 5,5 SCFH (2 600 ml/min) betrug. Die Ergebnisse sind in Tabelle V gezeigt.

**Tabelle V**

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)				
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	5 min
1*	—		0	> 400	—	—	—	—
2	14-25E-50P		50	45	35	30	30	30
3	14-25E-50P		50	10	10	10	15	30
4	14-25E-50P	2	100	35	30	35	45	75
5	14-30E-50P		50	50	15	40	50	125
6	14-27E-45P		50	35	10	10	15	25
7	14-27E-45P	3	75	55	35	35	60	175
8	14-27E-55P		75	60	25	25	30	55
9	14-36E-72P	3	75	> 400	—	—	—	—
10*	14-52E-58P	3	75	> 400	—	—	—	—
11*	14-36E-OP	3	75	> 400	—	—	—	—
12	14-30E-55P	3	75	60	25	10	20	25
13	14-30E-65P	3	75	60	30	35	30	25

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 7**

Die Brühe von Beispiel 6 wurde einen Tag bei 30°C stehengelassen und wieder untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle VI enthalten.

**Tabelle VI**

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)				
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	5 min
1*	—		0	> 400	—	—	—	—
2	14-25E-50P		50	15	15	25	45	95
3	14-25E-50P		100	15	10	15	25	55
4	14-25E-50P		200	15	10	10	10	10
5*	PPG-2000		100	40	35	40	45	50
6*	PPG-2000		200	35	10	10	10	10
7*	PPG-2000		200	30	25	20	25	40
8*	PPG-2000		300	35	25	30	30	30
9*	PPG-2000		400	10	10	10	10	10
10*	DF-60P <sup>4</sup>		100	10	35	85	120	170

Fortsetzung Tabelle VI

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)				
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	5 min
11*	DF-60P <sup>4</sup>		200	40	35	15	20	30
12*	DF-60P <sup>4</sup>		400	0	0	10	35	60
13*	PA-188 <sup>5</sup>		200	200	185	205	210	235
14*	T-701 <sup>6</sup> (BASF)		200	20	60	160	185	210
15*	T-1501 <sup>7</sup> (BASF)		200	225	225	235	235	235

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 8**

Gemäß dem Verfahren von Beispiel 6 wurde eine andere ähnliche Brühe mit 2% Feststoffen, niedriger Viskosität und einer größeren Teilchengröße bei 36°C bewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle VII gezeigt.

Tabelle VII

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)				
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	5 min
1*	—		0	135	165	185	220	245
2	14-25E-50P		50	10	10	15	20	25
3	14-30E-50P	3	50	15	20	25	35	70
4	14-30E-50P	3	75	15	25	25	25	45
5	14-30E-50P		50	30	35	40	40	50
6	14-27E-55P	3	75	15	15	20	25	25
7	14-36E-72P	3	75	130	160	185	215	235
8	14-52E-58P	3	75	125	140	185	205	240
9	14-35E-50P	3	75	30	30	30	35	35
10	14-27E-45P	3	75	10	10	10	10	30
11*	14-36E-OP	3	75	185	205	215	235	250
12*	PPG-2000		50	175	175	195	225	295
13*	DF-60P <sup>5</sup>		50	65	125	235	245	260

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 9**

Die Brühe von Beispiel 8 wurde einen Tag bei 36°C stehengelassen und wieder untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle VIII enthalten.

Tabelle VIII

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)				
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	5 min
1*	—		0	> 400	—	—	—	—
2	14-25E-50P		50	10	10	135	160	305
3	14-25E-50P		100	20	20	20	20	35
4	14-25E-50P		1000	10	10	10	10	10
5*	PPG-2000 <sup>1</sup>		100	95	175	245	> 400	—
6*	PPG-2000 <sup>1</sup>		500	50	95	105	135	175
7*	PPG-2000 <sup>1</sup>		1000	50	70	85	85	95
8*	PPG-2000 <sup>1</sup>		1500	45	55	85	90	115
9*	PPG-2000 <sup>1</sup>		2000	45	60	65	90	125
10*	DF-60P <sup>4</sup>		100	70	205	335	> 400	—
11*	DF-60P <sup>4</sup>		500	20	30	75	160	245
12*	DF-60P <sup>4</sup>		1000	10	15	25	105	195
13*	DF-60P <sup>4</sup>		1500	10	20	25	40	85
14*	DF-60P <sup>4</sup>		2000	10	10	10	10	10
15*	PA-188 <sup>5</sup>		100	85	105	110	115	145
16*	L-61 (BASF) <sup>8</sup>		100	85	185	> 400	—	—

Fortsetzung Tabelle VIII

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)				
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	5 min
17*	T-701 (BASF) <sup>6</sup>		100	50	165	200	245	300
18	14-27E-55P		100	10	10	10	25	40
19*	Mineralöl und Silikonfluid		100	> 400	–	–	–	–
20	Kerosin und Silikonfluid		100	> 400	–	–	–	–
21*	Silikonemulsion		100	130	145	150	160	190
22*	TRANS 245 <sup>9</sup>		100	125	160	295	335	> 400
23*	Kurita 322 <sup>10</sup>		100	235	225	235	235	285
24*	PX-97 <sup>11</sup>		100	165	160	145	145	70
25*	PA-01 <sup>11</sup>		100	55	75	130	160	230
26*	SDF-110L <sup>12</sup>		50	> 400	–	–	–	–

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 10**

In ähnlicher Weise wie in Beispiel 6 wurde eine im Handel erhältliche, gesetzlich geschützte Brühe, die filamentöse Bakterien enthielt (Verwendung zur Herstellung eines Antibiotikums), die sich nahe dem Ende des Fermentationszyklus befanden, untersucht. Die Brühe enthielt bereits 200ppm SAG 471 (ein Silikon von Union Carbide) und 1400ppm UCON LB 625 (ein Polyglykol von Union Carbide). Trotz der Gegenwart dieser beiden handelsüblichen Antischaummittel ergab der Blindwert eine Produktion von 280 ml Schaum nach 5 Minuten. Die Testergebnisse sind in Tabelle IX gezeigt.

Tabelle IX

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)				
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	5 min
1*	–		0	190	225	255	295	280
2	14-25E-50P		50	95	105	125	140	145
3	14-25E-50P		100	115	115	140	160	210
4	14-25E-50P		200	0	10	30	35	75
5	14-25E-50P		300	0	10	50	75	110
6	14-25E-50P		500	5	10	50	70	95
7*	UCON LB 625		500	130	130	105	80	60
8	14-27E-50P	3	200	20	30	35	45	60
9	14-27E-50P	3	500	10	15	20	25	30
10	14-25E-55P	3	500	10	10	10	15	20
11	14-36E-72P	3	500	150	155	155	100	95
12	14-30E-65P	3	500	15	20	25	25	25
13	14-30E-65P	3	200	30	30	30	25	30

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 11**

Eine Brühe, ähnlich der in Beispiel 10, die sich aber näher zum Beginn des Fermentationszyklus befand und kein UCON LB 625 enthielt, wurde untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle X gezeigt.

Tabelle X

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)				
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	5 min
1*	–		0	155	205	225	225	205
2	14-25E-50P		200	0	0	0	0	0

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 12**

Eine Säuger-Zellkultur für die Produktion von Tissue-Plasminogen-Aktivator enthaltende Brühe wurde untersucht. Es war bekannt, daß diese Brühe einen hohen Proteingehalt aber keine Öle enthielt. Die Ergebnisse sind in Tabelle XI gezeigt.

**Tabelle XI**

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)				
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	5 min
1*	—		0	> 400	—	—	—	—
2	14-25E-50P		200	0	0	5	10	20
3	14-25E-50P		100	10	15	10	10	10
4	14-25E-50P		50	10	5	5	0	5
5	14-25E-50P		25	10	10	5	5	0
6	14-25E-50P		10	185	175	160	145	135
7	14-30E-65P		200	15	35	25	10	15
8	14-30E-65P		1000	185	85	125	185	215

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 13**

Die Brühe von Beispiel 12 wurde begast, so daß 400 ml Schaum entstanden. 25 ppm 14-25 E-50P wurden auf den Schaum getropft, wodurch er in weniger als 3 Sekunden vollständig verschwand.

**Beispiel 14**

Mehrere weitere Brühen, ähnlich denen, die in den Beispielen 1 bis 3 verwendet wurden, wurden untersucht, wobei ähnliche Ergebnisse erhalten wurden.

**Vergleichsbeispiel 1**

Mehrere bei der Herstellung von Schweineinsulin verwendete Flüssigkeiten wurden untersucht. Diese Flüssigkeiten waren keine Fermentationsbrühen. Die Verbindungen, die erfindungsgemäß eingesetzt wurden, zeigten nur geringe Wirkung, während verschiedene Silikonprodukte eine gute Wirkung ergaben.

**Beispiel 15**

Eine handelsübliche Fermentationsbrühe, die zur Antibiotika-Produktion verwendet wird, wurde nach Erwärmen auf 30°C untersucht. Die Brühe war weder sterilisiert noch beimpft. Die Ergebnisse sind in Tabelle XII gezeigt.

**Tabelle XII**

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)					
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min
1*	—		0	> 400	—	—	—	—	—
2	14-10E-40P		100	35	20	25	35	35	45
3	14-10E-50P		100	35	25	25	30	35	35
4	14-10E-60P		100	110	60	25	25	30	35
5	14-15E-40P		100	30	35	40	45	30	55
6	14-15E-50P		100	25	20	30	35	35	35
7	14-15E-60P		100	25	20	25	30	35	40
8	14-17.5E-40P		100	15	25	35	35	35	45
9	14-17.5E-50P		100	25	30	35	40	40	40
10	14-17.5E-60P		100	15	20	25	30	30	35
11	14-20E-20P		100	50	60	130	225	> 400	—
12	14-20E-30P		100	20	20	20	20	15	15
13	14-20E-40P		100	20	15	15	15	15	15
14	14-20E-50P		100	5	10	10	10	10	10
15	14-20E-50P		100	10	15	15	15	15	15
16	14-20E-60P		100	10	10	15	20	20	15
17	14-25E-40P		100	35	35	35	50	60	65
18	14-25E-50P		100	45	35	35	35	35	35
19	14-25E-50P		100	20	25	35	40	45	50
20	14-25E-60P		100	35	30	35	40	45	45
21	14-30E-40P		100	60	60	55	60	65	75
22	14-30E-50P		100	> 400	—	—	—	—	—
23	14-30E-60P		100	> 400	240	250	260	280	280

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 16**

Eine Brühe ähnlich der von Beispiel 15 wurde bei 36°C untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle XIII gezeigt.

Tabelle XIII

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)					
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min
1*	—		0	> 400	—	—	—	—	—
2	14-10E-40P		100	25	30	40	45	60	60
3	14-10E-50P		100	20	20	35	45	50	60
4	14-10E-60P		100	20	25	30	45	55	60
5	14-15E-40P		100	20	30	45	70	115	260
6	14-15E-50P		100	15	20	30	45	55	60
7	14-15E-60P		100	20	20	25	45	60	85
8	14-17.5E-40P		100	10	20	40	60	160	210
9	14-17.5E-50P		100	25	30	50	60	110	245
10	14-17.5E-60P		100	10	10	20	35	40	50
11	14-20E-20P		100	35	85	> 400	—	—	—
12	14-20E-30P		100	25	30	30	35	60	85
13	14-20E-40P		100	25	35	45	55	50	45
14	14-20E-50P		100	25	25	30	35	35	40
16	14-20E-60P		100	25	25	25	30	35	35
17	14-25E-40P		100	40	50	70	235	360	400
18	14-25E-50P		100	45	45	45	45	55	140
20	14-25E-60P		100	25	35	40	35	40	45
21	14-30E-40P		100	100	110	115	115	125	180
22	14-30E-50P		100	160	160	120	125	185	235
23	14-30E-60P		100	35	35	50	65	110	210
24	14-30E-60P		100	70	85	75	70	45	50

\* Kein Beispiel der Erfindung.

**Beispiel 17**

Eine weitere Brühe, ähnlich der von Beispiel 15 wurde bei 36°C untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle XIV gezeigt.

Tabelle XIV

Lauf	Entschäumer	Verdünnungsmittel	Entschäumer Dosis (ppm)	Schaum-Höhe bei X min (ml)					
				0,5 min	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min
1*	—		0	>400	—	—	—	—	—
2	14-20E-40P		100	15	20	25	25	25	25
3	14-20E-50P		100	20	15	20	20	20	20
4	14-20E-60P		100	25	25	20	15	20	20
5	14-20E-60P		30	25	25	35	55	70	95
6	14-10E-40P		100	35	35	45	50	60	80

\* Kein Beispiel der Erfindung.

1. Polypropylglykol mit einem Molekulargewicht von 2000.
2. 50% Wirkstoff und 50% Methanol.
3. 66% Festprodukt, 20% Methanol, 14% Wasser.
4. Ein Polyalkylenglykol umgesetzt mit Propylenoxid und Ethylenoxid, verkauft von Mazer Chemical.
5. Hydrophobisiertes Silika in Paraffinöl, verkauft von U. S. Movidyn.
6. Polyethoxyliertes polypropoxyliertes Ethylendiamin (Molekulargewicht 3600), verkauft von BASF.
7. Polyethoxyliertes polypropoxyliertes Ethylendiamin (Molekulargewicht 7900), verkauft von BASF.
8. Propoxyliertes ethoxyliertes Dipropylenglykol (Molekulargewicht 2000), verkauft von BASF.
9. Unbekannte Zusammensetzung, verkauft von Trans-Chemco, Inc.
10. Ester der Ölsäure und Polyoxyalkylenglykol (Molekulargewicht 2000 bis 3000), verkauft von Kurita Water Co.
11. Unbekannte Zusammensetzung, verkauft von U. S. Movidyn Co.
12. Acetylen-diolverbindung, hergestellt von Air Products.