

URZĄD PATENTOWY

C12d 3/02

RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ
OPIS PATENTOWY

Nr 18603.

Kl. 12 o, 5/06.

Hugo Wertheim
(Wiedeń, Austria)
i Walter Pollak
(Ołumuniec, Czechosłowacja).**Sposób jednoczesnego wytwarzania alkoholu butylowego i acetonu zapomocą fermentacji.**

Zgłoszono 18 lutego 1930 r.

Udzielono 13 czerwca 1933 r.

Pierwszeństwo: 23 lutego 1929 r. dla zastrz. 1—3, 6—8 (Austria).

Wynalazek dotyczy wytwarzania alkoholu butylowego i acetonu zapomocą fermentacji węglowodanów pod działaniem bakterji typu *Bac. Amylobacter A. M. et Bredemann* (Zentralblatt f. Bakteriologie 1909 (II. Abt) 23,385).

Po stwierdzeniu przez Fernbacha (patent niemiecki Nr 323533), że przy fermentacji węglowodanów lub materiałów, zawierających węglowodany, pod działaniem czynnika fermentacyjnego typu *Bac. butylicus Fitz* bez dostępu powietrza, jako produkt główny tworzy się alkohol butylowy i aceton obok niewielkiej ilości innych alkoholi, proces ten rozwinął się w stanach

Zjednoczonych Ameryki Północnej bardzo szybko na skalę przemysłową. Jako materiały wyjściowe mogą tu służyć zarówno surowce, zawierające skrobię, jak i zawierające cukier surowce naturalne, przyczem czynniki fermentacyjne, powodujące fermentację bakteryjną acetonobutyłową, z łatwością rozkładają skrobię na jednocukry. Alkohol butylowy i aceton przy wszystkich dotychczas używanych czynnikach fermentacyjnych tworzą się w stosunku stałym 2 : 1. Wydajność alkoholu butylowego i acetonu waha się między 21 a 25% ; prócz tego jako gazowe produkty fermentacji tworzą się dwutlenek węgla i wodór.

Rozwój tego rodzaju fermentacji aż do jej obecnego stanu przemysłowego został przyspieszony głównie dzięki spostrzeżeniu, że dla osiągnięcia jednakowej siły fermentacji należy stosować hodowle wyjściowe, nie zawierające form wegetatywnych, lecz wyłącznie zarodniki (spory). A zatem do wysiewu stosuje się hodowle ogrzewane przez czas krótki do 95°C. Dalej okazało się, że kwasów, tworzących się podczas fermentacji, nie należy zobojętniać kredą. Ponadto okazało się, że dla prawidłowego przebiegu fermentacji konieczny jest stały wzrost kwasowości początkowej aż do osiągnięcia pewnego maximum, a następnie stały spadek tej kwasowości, aż do końca fermentacji. Krzywa fermentacji stała się więc ważnym środkiem do kontrolowania procesu; jeśli kwasowość słabnie bardzo powoli lub nie słabnie zupełnie, jest to niezawodnym znakiem, że zaciery są zakażone, albo czynnik fermentacyjny sam osłabiony. Zawartość węglowodanów w zacierach powinna być znacznie mniejsza od zawartości dopuszczalnej przy fermentacji alkoholowej; górną granicę stanowi tu 8% zawartości skrobi. Czynniki powodujące fermentację, produkującą aceton i alkohol butylowy, są więc wrażliwsze na działanie produktów ich własnej przemiany materji, niż drożdże. Pomimo niewielkiego stężenia lepkość zacierów, otrzymanych przez parowanie produktów wyjściowych pod ciśnieniem, zwłaszcza przy przeróbce mąki kukurydzanej, jest znaczna i z tego powodu zaleca się w czasie gotowania pod ciśnieniem dodawać pewną ilość kwasu solnego, ściśle wystarczającą do przeprowadzenia zawartych w mące dwufosforanów w jednofosforany; wreszcie już Fernbach zalecał dodawanie do zatartych, zawierających węglowodany surowców, w razie potrzeby, pewnej ilości rozpuszczonych lub częściowo rozłożonych drożdży, jako pożywki.

Obok tych wskazówek istnieją, zwłaszcza w patentach, dane dotyczące rozma-

tych organizmów, specjalnie nadających się do wymienionego procesu, tak więc np. według Weizmana (patent austriacki Nr 95449) należy stosować bakterje odporne na gorąco, występujące między innymi w glebie i na jarzynach, przeprowadzające w stan ciekły żelatynę i przekształcające bez współdziałania drożdży lub tym podobnych większą część skrobi kukurydzanej lub innej zbożowej, w warunkach tlenowych lub beztlenowych, bezpośrednio na mieszaninę alkoholu butylowego i acetonu. Inni sądzili, że wykryli w tym celu specjalne gatunki drobnoustrojów, które opisują i nazywają. Jednakże wybitni badacze stwierdzili, że drobnoustroje te różnią się tylko nazwami i wszystkie należą do *Species Bacillus amylobacter A. M. et Brede-*mann, a występujące między nimi różnice morfologiczne i fizjologiczne spowodowane są różnorodnością pożywek i sposobów hodowania. Istotnie udało się w długoletnich doświadczeniach tak zmienić własności *Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann* zapomocą specjalnej metody hodowania, że bakterja ta w odpowiednich warunkach zdolna jest do całkowitego przefermentowania skrobi lub innych węglowodanów ze znanym skutkiem, a mianowicie, że obok gazowych produktów fermentacji (dwutlenku węgla i wodoru) tworzy się mieszanina normalnego alkoholu butylowego i acetonu w stosunku 2 do 1 obok niewielkich ilości innych alkoholi.

Przedmiotem niniejszego wynalazku jest przede wszystkim ten specjalny sposób hodowli, opierający się na fakcie, że wszystkie czynniki fermentacji acetonobutyłowej pod wszelkimi nazwami są nadzwyczaj wrażliwe na działanie kwasu, degenerują się w kwaśnych środowiskach pożywkowych, stają się asporogenowe i wreszcie zamierają. Celem wynalazku jest obniżenie wrażliwości tego rodzaju czynników fermentacyjnych na wolny kwas zapomocą stopniowego przyzwyczajania. Sposób, pro-

wadzący do tego celu, polega na tem, że *Bacillus A. M. et Bredemann* hoduje się na pożywkach o wzrastającej kwasowości początkowej, bez zobojętniania kwasu tworzącego się podczas fermentacji dopóty, aż bakteria stanie się w odpowiednim stopniu wytrzymała na działanie kwasu, przytem jednakże między każde dwa kolejne procesy hodowania na takiej pożywce (co w dalszym ciągu nazywane będzie „fermentacją przyzwyczajania” włącza się fermentację w obojętnym lub alkalicznym środowisku, podczas której zobojętnia się kwasy, tworzące się podczas tej fermentacji) zwanej w dalszym ciągu „fermentacją sporulacyjną”) i hodowlę przed przeniesieniem do następnej „fermentacji przyzwyczajania”, o wyższej kwasowości początkowej każdorazowo ogrzewa się w zwykły sposób przez czas krótki, aby zabić wszystkie formy wegetatywne, tak iż w fermentacjach przyzwyczajania hoduje się tylko zarodniki.

Zgodnie z korzystniejszą odmianą wykonania wynalazku, moderując pożywkę fermentacji przyzwyczajania, zapobiega się przekroczeniu pewnej granicy stężenia jonów wodorowych pomimo wzrostu zawartości kwasu podczas fermentacji, przyczem stopień moderacji π pożywek w kolejnych fermentacjach przyzwyczajania wzrasta odpowiednio do wzrastającej kwasowości początkowej. Do moderacji nadają się znane układy: mieszaniny słabych kwasów z ich solami alkaliów (porównaj Michaelis, *Die Wasserstoffionen konzentration* str. 37 i nast. oraz 89 i nast.).

Stopień moderacji π wyraża się matematycznie zapomocą równania $\pi = \frac{dA}{dP_h}$

Ilościową wartość moderacji oznacza się, jak wiadomo, mierząc zmianę wartości stężenia P_h po dodaniu pewnej określonej małej ilości kwasu lub alkaliów do danej ilości środowiska fermentacyjnego. Dodatki powinny być teoretycznie nieskończenie małe, w praktyce zaś dolną granicę stano-

wi tu dokładność metody określania P_h . Aby otrzymać wyniki pomiarów, dające się porównywać, dodawana ilość kwasu albo ługu powinna być we wszystkich próbach stała. Podstawą określania niżej podawanych wartości π jest metoda następująca: pobiera się jednocześnie trzy próbki środowiska fermentacyjnego, każdą po 1 cm³; w jednej z tych próbek mierzy się P_h zwykłą metodą; do drugiej dodaje się 0,5 cm³ n/100 H_2SO_4 , a do trzeciej 0,5 cm³ n/100 $NaOH$, poczem w obu tych próbach mierzy się wartość P_h tą samą metodą. Zmiany wartości P_h są odwrotnie proporcjonalne do moderacji π . Wysokość tych zmian teoretycznie powinna mieć tę samą wartość przy różnych oznaczeniach. Praktycznie jednak pomiędzy zmianami wartości P_h , spowodowanymi przez równoważne ilości kwasu i ługu, występują często znaczne różnice. Przy praktycznym oznaczaniu przyjmuje się średnią arytmetyczną odwrotności zmian wartości P_h ku stronie kwaśnej i alkalicznej jako wartości π . Do oznaczania wartości P_h stosowano znaną metodę indykatorów foliowych Dr. Peter Wulff (patent niemiecki Nr 405091 *Indikatorfolienmethode*).

Stopień moderacji środowisk pożywkowych w kolejnych fermentacjach przyzwyczajania reguluje się przy użyciu tej metody oznaczania w taki sposób, że wzrasta on powoli od wartości w przybliżeniu 4 na początku szeregu hodowanego, aż do 10 na końcu. Okazało się przytem bardzo korzystnem stosowanie do moderacji środowisk fermentacyjnych dobrze buforujących mieszanin materiałów tego samego typu, które następnie dodaje się w fermentacjach głównych do zawierającego cukier materiału wyjściowego, jako pożywek, zawierających azot (np. kielków słodowych, zabitych i rozłożonych drożdży, mocznika, fosforanu amonowego lub tym podobnych). Dzięki temu drobnoustroje, przyzwyczajając się do wzrastających ilości kwasu, przyzwy-

czają się jednocześnie do wzrastających ilości takich dodatków pożywkowych zawierających azot.

Do zakwaszenia środowisk pożywkowych w fermentacjach przyzwyczajania najlepiej stosować kwasy organiczne, najlepiej mleczny. Dobre wyniki osiąga się, jeśli początkowa kwasowość środowiska fermentacyjnego w kolejnych fermentacjach przyzwyczajania wzrasta od 0,1 (przy wartości $\pi = 4$) do 1,6 (przy wartości $\pi = 10$). Stopnie kwasowości dają tutaj i w dalszym ciągu opisu liczbę cm^3 normalnego ługu sodowego, potrzebnych przy użyciu błękitu bromotymolowego jako wskaźnika do zobojętnienia 100 cm^3 środowiska. Ze wzrostem kwasowości i stopnia moderacji można pozwolić również na stały wzrost stężenia węglowodanów w pożywce od jednej fermentacji przyzwyczajania do następnej. Rozpoczyna się korzystnie z pożywkami zawierającymi 1% węglowodanu (liczonego jako skrobi) i kończy się z zawartością węglowodanów równą 6 do 8%.

Pożywka o zmiennym składzie, stosowana do fermentacji przyzwyczajania, może zawierać, jako materiały wyjściowe węglowodanowe, np. ziemniaki, mąkę kukurydzaną albo ryżową. Zawierające azot mieszaniny buforujące zawierają dodatki organiczne, jak kielki słodowe lub autolizowane drożdże, i dodatki nieorganiczne, jak mocznik, fosforan amonu albo siarczan amonu w rozmaitych kombinacjach. Środowisko pożywkowe dla fermentacji zarodnikowych ma stale ten sam skład i składa się, np., ze 100 części wagowych papki kartoflanej, 100 części wagowych wody, 10 części wagowych kielków słodowych lub krwi i 2 części wagowych kredy (CaCO_3). Obie pożywki wlewa się do probówek i trzykrotnie sterylizuje się je frakcjami. Bakterje z gruntu albo z jarzyn chwyta się sposobem podanym przez Bredemanna i prowadzi się hodowlę czystą (wym. źr. str. 390 i nast.), albo też pobiera się zarodniki różnego pocho-

dzenia bacillus amylobacter A. M. et Bredemann z gotowych już hodowli. Drobnoustroje te hoduje się najprzód dalej przez 24 godziny na pożywcę sporulacyjnej, następnie około 5 minut ogrzewa się do 90°C i zaszczenia się do pożywki pierwszej fermentacji przyzwyczajania. Po 48 godzinnej fermentacji bada się hodowlę w zwykły sposób pod względem ich właściwości bakteriologicznych, morfologicznych i fizjologicznych. Najodpowiedniejsze drobnoustroje poddaje się drugiej fermentacji na pożywce sporulacyjnej i po zabiciu form wegetatywnych przenosi się na odpowiednio przygotowaną pożywkę drugiej fermentacji przyzwyczajania. Wszystkie fermentacje prowadzi się zupełnie beztlenowo w temperaturze 37° do 38°C . Ten proces kolejnych fermentacji przyzwyczajania i sporulacyjnych prowadzi się dopóty, aż fermentacja próbna wykaże, że drobnoustroje zdolne są do całkowitego przefermentowania zacieru, zawierającego 6 do 8% skrobi i zakwaszonego przez dodatek kwasu aż do stopnia kwasowości 1,4 do 1,6, zaś początkowy stopień moderacji wynosi co najmniej 4, przy P_k równem 5 do 4,7, przyczem na końcu fermentacji w środowisku jej praktycznie nie powinno być ani cukru, ani skrobi, dającej się wykryć. (Ponieważ hodowle wytwarzają dużo gazów, więc do wykonania tej fermentacji próbnej, jak się to zwykle dzieje podczas hodowania bakterji beztlenowych, stosuje się odpowiednie zamknięcie przepuszczalne dla gazu). Do zamierzonego celu dochodzi się dopiero po bardzo długim szeregu fermentacji przyzwyczajania, nie krępując się jednakże wyborem jakiejś określonej odmiany bacillus amylobacter A. M. et Bredemann.

Stosując tę metodę, udało się w przeszło 100 fermentacjach przyzwyczajania wyhodować dwie odmiany tych bakterji, specjalnie odpowiednie do fermentacji acetonobutylowej, oznaczane nazwami: bacillus amylobacter W. i bacillus amylobacter

S. Obie te odmiany różnią się morfologicznie swymi postaciami wegetatywnymi tylko tem, że *Bacillus amylobacter* W. tworzy dłuższe pręciki, natomiast formy wegetatywne drugiej odmiany mają postać nie tak smukłą. W stadjum zarodników (spor) w *Bacillus amylobacter* W. przeważają formy plectridiów, zaś w drugiej odmianie formy clostridiów. Oidia obu organizmów są bardzo ruchliwe. Obie odmiany nie przeprowadzają żelatyny w stan ciekły i są obowiązkowo beztlenowe, a więc pod tym względem różnią się zupełnie od bakteryj, zalecanych przez Weizmana (patent austriacki Nr. 95449).

Do wykonania fermentacji na dużą skalę rozmnaża się, jak zwykle, hodowle zawierające tylko spory w kilku kolejnych nastawieniach o wzrastającej objętości, aż do otrzymania wreszcie ilości zaczynu, potrzebnej do nastawienia zacieru głównego.

Również i zacierzy do wielkiej fermentacji przygotowuje się w zwykły sposób. Optymalne stężenie skrobi lub cukru wynosi 6 do 7%.

W odróżnieniu od znanych metod, zgodnie z wynalazkiem prowadzi się fermentację główną w zacierach, które przed rozpoczęciem fermentacji zakwaszono przez dodanie kwasów organicznych, zwłaszcza mlekowego. Korzystnem okazało się nastawianie kwasowości początkowej zacieru głównego (kwasowość mianowana błękitem bromotymolowym) na co najmniej 1,4 do 1,6. Wartość P_h przy stopniu moderacji co najmniej 4 powinna leżeć między 5 a 4,6. W związku z tem do regulowania procesu z reguły okazało się koniecznem nie tylko kontrolowanie fermentacji zapomocą bakteriologicznego badania i określania krzywej kwasowości, lecz również zapomocą periodycznych pomiarów stopnia moderacji, przyczem wartość π dostosowuje się do zmiany kwasowości, t. j. powinna wzrastać wraz z nią i osiągać maximum z chwilą osiągnięcia maximum przez kwa-

sowość. W razie stwierdzenia niedostatecznie wysokiego stopnia moderacji, należy brak ten wyrównać przez dodanie silnie buforujących ciał, np. kwasu mlekowego, winnego, cytrynowego lub soli kwasu szczawowego, w ciągu fermentacji głównej. W ten sposób wyzyskuje się zapomocą wyżej opisanych fermentacyj przyzwyczajania obniżenie wrażliwości czynników fermentacyjnych na działanie kwasów, aby zapewnić czystość fermentacji głównej w nieosiąganym dotychczas stopniu, a w związku z tem równomierne otrzymywanie najwyższych wydajności.

W tych warunkach pracy w najwyższych punktach fermentacji głównej osiąga się maximum dla kwasowości od 8 do 9°. A zatem drobnoustroje, przyzwyczajone do kwasu, wytwarzają w ciągu fermentacji większe ilości kwasu, niż to dotychczas stwierdzono podczas fermentacji acetonobutylowej.

Przykład. 100 litrów zacieru powinno zawierać około 35 — 37 kg ziemniaków lub 9 — 10 kg mąki kukurydzanej. Inne materiały zawierające skrobię przerabia się na zacierzy o tem samym stężeniu (6 — 7% czystej skrobi), odpowiednio do zawartości w nich skrobi. Ziemniaki nierozdrobione, a kukurydzę lub tym podobne w postaci mąki wprowadza się z odpowiednią ilością wody do autoklawów, zaopatrzonych w mieszaninę, i zaparza się pod ciśnieniem dwóch do trzech atmosfer w ciągu 1 do 2 godzin. Dodatki pożywkowe (drożdże zabite lub zautolizowane, albo kielki słodowe, albo mocznik lub fosforan amonowy, albo siarczan amonowy, albo wreszcie rozmaite kombinacje tych i podobnych materiałów, zawierających azot) dodaje się do zacieru korzystnie już w autoklawie. Odpowiednim składem ilościowym jest tutaj następujący: np., na 100 litrów zacieru przypada 125 g zabitych lub rozłożonych drożdży, 125 g kielków słodowych i 40 g siarczanu amonowego. Można również pra-

cować, stosując wyłącznie azot nieorganiczny; wtedy na 100 litrów zacieru dodaje się 100 g fosforanu amonowego i 100 g siarczanu amonowego. Zacier zamyka się bezpośrednio w uprzednio starannie wyjałowionych i zaopatrzonych w mieszkadła naczyń fermentacyjnych, które są zupełnie zamknięte i zaopatrzone w nasadę fermentacyjną dla odprowadzania wydzielających się gazów. Po nastawieniu odpowiedniej kwasowości początkowej, do czego na każde 100 litrów zacieru potrzeba 80 do 90 cm³ 80% kwasu mlecznego, oziębia się zacier, np. zapomocą wbudowanej chłodnicy, do temperatury fermentacyjnej 37° — 38°; można jednakże do tego celu dojść zapomocą dobudowanych aparatów, wymieniających ciepło.

Gdy zacier główny gotowy jest do nastawienia, musi być również gotowy zaczyn bakteryjny o odpowiedniej objętości. Aby go otrzymać zaszczepia się bakterium amylobacter W. albo S. po krótkim ogrzewaniu do 90° w 100 cm³ pożywki, przygotowanej w taki sam sposób, jak zacier główny, i pozostawia się do rozwoju w temperaturze 37° — 38° w warunkach beztlenowych. Po 48 godzinach rozpoczyna się wzrost i rozwój oidiów. Po przekonaniu się o odpowiednich właściwościach hodowli zaszczepia się ją na 2 litrach wyjałowionego zacieru o takim samym składzie i właściwościach, a po 24 godzinach na 20 litrach takiego samego zacieru. Po dalszych 24 godzinach te 20 litrów wprowadza się do zacieru, przygotowanego w ilości 200 do 300 litrów, który po dalszych 24 godz przeprowadza się do zacieru głównego, przygotowanego tymczasem do nastawienia.

Podczas fermentacji zacieru głównego co najmniej 4 razy dziennie, oprócz kontroli bakterjologicznej i mianowania kwasowości, oznacza się P_h i stopień moderacji co w pewnych okolicznościach prowadzi do dodawania dalszych ilości materiałów buforowych. Przy przeprowadzaniu sposo-

bu w skali przemysłowej i przy użyciu jako materiału wyjściowego kukurydzy kwasowość 6° osiąga się przeciętnie po upływie 10 — 12 godzin. Jednakże drobnoustroje, przyzwyczajone do kwasu oraz zabezpieczone wysokim stopniem moderacji zacieru, znoszą również doskonale bez osłabienia kwasowość 8 — 9°. Po upływie około 17 — 22 godzin fermentacja jest ukończona, czyli że w zacierze w praktyce niewykrywalna jest skrobia ani cukier.

Po ukończeniu fermentacji wytworzone główne produkty (alkohol butylowy i aceton) oddestylowuje się w sposób zwykły zapomocą destylacji frakcjonowanej. Niewielkich ilości innych alkoholi nie opłaca się wydzielać.

Gazy uchodzące podczas fermentacji (wodór i dwutlenek węgla) można, jak się to dzieje i obecnie, zużytkować; również można zużytkować pozostałości, zawierające cenne produkty pokarmowe.

Proponowano obecnie czynniki fermentacyjne acetonobutyłowej fermentacji uodporniać zapomocą przyzwyczajania do pewnych materiałów, obecnych w zacierze podczas tak zwanej „fermentacji leniwej”. Materiały te nawet przy starannem sączeniu zacieru przez sączone bakterijny pozostają w zacierze, a oprócz tego i z innych powodów przyjęto, że czynniki fermentacji „leniwej” należą do ultramikroskopowych. Również i tutaj idzie o przyzwyczajanie drobnoustrojów do niedostrzegalnego jadu czyli bakterjofagów, dlatego też znane jest poddawanie hodowli bakteryjnych jednemu lub kilku procesom selekcyjnym, przy czem bakterje te hoduje się na pożywce, do której dodaje się niewielkie ilości produktów, jakie otrzymuje się podczas takiej fermentacji. W danym zaś przypadku idzie o to, żeby czynniki fermentacyjne uodpornić na działanie acetonu, względnie alkoholu butylowego. Z metodami temi wynalazek niniejszy ma wspólną tylko powszechnie znaną bakterjologiczną metodę przy-

zwyyczajania drobnoustrojów do pewnych określonych materiałów zapomocą wielokrotnej hodowli w obecności tych materiałów.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób jednoczesnego wytwarzania alkoholu butylowego i acetonu zapomocą fermentacji, przy użyciu jako czynników fermentacyjnych Species Bac. Amylobacter A. M. et Bredemann, znamieny tem, że stosuje się odmiany, przyzwyczajone do coraz to wzrastającego stężenia jonów wodorowych zapomocą hodowania.

2. Sposób według zastrz. 1, znamieny tem, że odmiany Bacillus Amylobacter A. M. et Bredemann hoduje się na pożywkach o stale wzrastającej kwasowości początkowej, bez zobojętniania kwasu tworzącego się podczas fermentacji, w szeregu fermentacji (fermentacji przyzwyczajania), przyczem pomiędzy każde dwie kolejne fermentacje przyzwyczajania włącza się fermentację w obojętnym lub alkalicznym środowisku, zobojętniając kwasy tworzące się podczas tej fermentacji (fermentacja sporulacyjna), po której hodowle przed przeszczepieniem na następną fermentację przyzwyczajania, o wyższej kwasowości, ogrzewa się każdorazowo w znany sposób przez czas krótki do temp. 95°C, aby zabić wszystkie formy wegetatywne.

3. Sposób według zastrz. 2, znamieny tem, że wzrost stężenia jonów wodorowych podczas fermentacji ogranicza się przez moderację środowisk pożywkowych fermentacji przyzwyczajania, stosując najkorzystniej znane mieszaniny buforujące, słaby kwas oraz sól alkaliczną tego kwasu, przyczem stopień moderacji π środowisk pożywkowych w kolejnych fermentacjach przyzwyczajania, o wzrastających kwasowościach początkowych, podnosi się.

4. Sposób według zastrz. 3, znamieny tem, że stopień moderacji, równy 4 na po-

czątku szeregu hodowli, doprowadza się pod jego koniec do 10.

5. Sposób według zastrz. 2 ÷ 4, znamieny tem, że początkowa kwasowość środowiska fermentacji wzrasta w kolejnych fermentacjach przyzwyczajania od 0,1 (przy wartości $\pi = 4$) do 1,6 (przy wartości $\pi = 10$), przyczem kwasowość jest wyrażona w cm^3 n NaOH na 100 cm^3 zacieru przy użyciu jako wskaźnika błękitu bromotymolowego.

6. Sposób według zastrz. 2 ÷ 5, znamieny tem, że stopniowo powiększa się stężenie węglowodanów w środowisku pożywkowym kolejnych fermentacji przyzwyczajania, przyczem zaczyna się od 1% stężenia węglowodanu (liczonego jako skrobia), a kończy stężeniem 6 do 8%.

7. Sposób według zastrz. 1 do 6, znamieny tem, że zacier przed rozpoczęciem fermentacji głównej zakwasza się przez dodatek kwasów organicznych, a zwłaszcza kwasu mlecznego, przyczem kwasowość początkową zacieru głównego (mianowaną błękitem bromotymolowym) nastawia się conajmniej na 1,4 do 1,6 cm^3 n NaOH na 100 cm^3 zacieru, zaś wartość P_h , przy stopniu moderacji conajmniej 4, w granicach 5 do 4,6.

8. Sposób według zastrz. 6, znamieny tem, że stopień moderacji dostosowuje się do zmiany kwasowości tak, by wzrastał wraz z kwasowością i osiągnął wartość najwyższą przy maximum kwasowości, dodając, w razie stwierdzenia nie dość wysokiego stopnia moderacji w ciągu fermentacji głównej, do zacieru głównego wysoko-buforujące dodatki, np. sole kwasu mlecznego, winowego, cytrynowego lub szczawio-

Hugo Wertheim.

Walter Pollak.

Zastępca: M. Skrzypkowski,
rzecznik patentowy.