

KRALJEVINA JUGOSLAVIJA

UPRAVA ZA ZAŠTITU

Klasa 12 (5)



INDUSTRISKE SVOJINE

Izdan 1. Juna 1931.

PATENTNI SPIS BR. 8046

Ing. Wertheim Hugo, hemičar, Wien, Austrija i Dr. Pollak Walter, hemičar, Olmütz, Č. S. R.

Postupak za istovremeno spravljanje butylalkohola i acetona pomoću vrenja.

Prijava od 18. februara 1930.

Važi od 1. septembra 1930.

Traženo pravo prvenstva od 23. februara 1929. (Austrija).

Predmet pronalaska jeste spravljanje butyl-alkohola i acetona previranjem hidrala pomoću bakterija iz vrste Bac. Amylobacter A. M. i Bredemanu. (Zentralblatt f. Bakteriologie 1909 (II, odeljak) 23, 385), koje se pomoću gajenja navikavaju na sve veće količine kiseline.

Pošlo je Fernbach utvrdio (nemački patent br. 323553) da pri previranju ugljenih hidrala ili materija, koje sadrže ugljene hidrate pomoću izazivača vrenja „tipa Bac. butylicus Pilz“ sa izolovanjem vazduha postaju kao glavni produkati butyl-alkohol i aceton pored malih količina drugih alkohola, ovaj postupak se u Sjedinjenim Državama severne Amerike brzo razvio do velikog industrijskog značaja. Kao ishodni proizvodi mogu poslužiti kao sirovine sa sadržinom šećera. Butylalkohol i aceton bivaju obrazovani od svih do sada upotrebљenih izazivača vrenja u stalnom odnosu 2:1. Dobit u „rastvornim sredstvima“ varira između 21—25% računalo na suv kukuruz. Pored toga postaju kao gasoviti proizvodi vrenja ugljene kiselina i vodonik.

Razvijanje ove vrste vrenja do današnjeg stanja tehnike unapređeno je poglavito saznanjem, da se za pravilno postizanje snažnog vrenja mora poći od kultura, koje ne sadrže nikakve vegetativne oblike, nego isključivo spore. Prema tome se za

inokulaciju upotrebljuju kulture, koje su kratko vreme bile zagrejane na oko 95°. Dalje se dokazalo, da kiselina, koje postaju pri previranju ne smeju biti neutralizovane kredom. Šta više za pravilan tok vrenja potrebno je, da se kiselost u početku stalno povećava, dok ne dosigne maksimum, da bi zatim do završetka vrenja stalno opadala. Kriva vrenja postalo je važno sredstvo za nadgledanje reda: ako kiselost vrlo lagano zaostaje ili pak ništa ne zaostaje, to je sigurno znak, da su kljukovi inficirani ali da je sam izazivač vrenja oslabljen. Sadržina ugljenhidrata od kljukova mora se nalaziti značno ispod koncentrisanosti, koje su kod alkoholnog vrenja dozvoljene, najviša granica data je sa 8% skroba. Izazivači aceton-butyl-alkoholnog vrenja su dakle prema svojim sopstvenim produktima izmene materija osetljiviji nego li kvasac. Ali i pored manje koncentrisanosti znatan je viskozitet kljukova, koji se spravljuju izlaganjem ishodnih proizvoda pri preradi kukuruznog brašna, usled čega je predlagano, da se ovo kuvanje pod pritiskom izvodi dodavajući one ograničene količine hlorovodonične kiseline, koje su upravo dovoljne da difostate, koji se sadrže u brašnu, prevedu u monofstate. Najzad već Fernbach je preporučio, da se sirovinama sa sadržinom ugljenih hidrata, koje su smešane u kljuk, doda pre-

ma potrebi razblažen ili delimično degradirani kvasac kao hranljiva materija.

Pored ovih predloga, koji su više ili manje važni za tehničko razvijanje postupka, nalaze se naročito u patentnim spisima dodaci o raznim organizmima, kojima se pripisuju specifične osobenosti za ovaj proces. Tako po Weizmann-u (austrijski patent br. 95449) treba da se u opšte upotrebe bakterije, koje su izdržljive u topotli i koje se između ostalog nalaze u zemljit i na poljskim plodovima, koje pretvaraju želatin u tečno stanje i, bez saupotrebe kvasca ili tome, sl., veći deo kukuruznog skroba ili skroba iz drugih cerealija pod aerobnim ili anaerobnim uslovima neposredno prevaraaju u mešavinu butyl-alkohola i acetona. Drugi su verovali da su našli naročite vrste mikro organizama za ovaj cilj, koji opisuju i imenuju. Ali su znatni istraživači tvrdili i delimično dokazivali, da su ovi organizmi različiti samo po imenu i da skroz pripadaju vrsti *Bacillus Amylobacter A. M.* i Bredemann, budući da nastale morfološke i fiziologiske raznovrsnosti bivaju prouzrokovane samo pomoću dejstva raznih hranjivih medija i postupka gajenja. Stvarno, istraživačima je dugodišnjim pokušajima pošlo za rukom, da na osobine *Bac. amilobacter A. M.* i Bredemann tako utiču naročitim postupkom gajenja, da se osposobljavaju, da pod podesnim okolnostima potpuno prevre skrob ili drugi ugljeni hidrati, i to sa poznatim rezultatom, da pored gasovitih produkata vrenja (ugljena kiselina i vodonik) bude obrazovana mešavina normalnog butyl-alkohola i acetona u odnosu 2:1 pored malih količina drugih alkohola.

Predmet pronalaska sačinjava najpre ovaj naročiti postupak gajenja, koji prolazi od činjenice, da su svi izazivači aceton-butyl-alkoholnog vrenja — ovo ime dobijali su uvek — veoma osetljivi prema kiselini, budući da u kiselim hranljivim medijima degenerišu, postaju asporogeni i nazad propadaju. Cilj pronalaska jeste da se osetljivost izazivača vrenja ove vrste prema kiselinama smeni postepenim navikavanjem. Pronadjeni postupak za izvođenje ove misli pronalaska sastoji se u glavnom u tome, da se *Bacillus A. M.* i Bredemann, na hranljivom tlu sa raštućom početnom kiselosću, bez neutralisanja kiseline koja se pri vrenju obrazuje, dofre gaji, dok ne postane u dovoljnoj meri otporan prema kiselini, ali pri tome između svaka dva uzaštopna gajenja na takvom hranljivom tlu (koje će u sledećem biti označeno kao navikavajuće previranje) biva umetnuto previranje u neutralnom ili alkoholnom mediju sa neutralisanjem kiselina, koje se pri

previranju obrazuju (u opisu ovo previranje biće nazvano neutralno previranje i kulturne, pre prekalemjivanja na sledeće navikavajuće vrenje sa većom početnom kiselosću, bivaju svaki put na poznat način kratko vreme zagrejane da bi se uništili svi vegetativni oblici lako, da u navikavajućim vrenjima samo spore budu dalje gajene).

Prema izabranom obliku izvođenja pronalaska biva pomoću amortizovanja hranjivo medija navikavajućeg vrenja sprečeno, da koncentrisanost vodoničnih jonova, i pored priraštaja kiseline za vreme vrenja pređe izvesne granice, pri čemu stepen amortizovanja π hranjivih medija u uzaštopnim navikavajućim vrenjima biva povećan odgovarajućoj početnoj kiselosti. Za amortizovanje su naročito podesni poznati sistemi: mešavine slabih kiselina sa njihovim alkalnim solim (vidi Michaslis, Die Wasserstoffionenkonzentration str. 37 ft i str. 89 ff.).

Stepen amortizovanja π biva matematički izražen kao diferencijalni količnik od Ph po dodatoj kiselini (ili dužini) i to strogo uzeto kao delimični diferencijalni količnik pri određenom Ph. Brojni iznos amortizovanja biva kao što je poznato određen merenjem promene Ph vrednosti pri dodatku određene male količine kiseline ili alkalija u datu količinu previrućeg medija. Dodaci bi teorijski morali biti beskonačno mali. Praktično je pak donja granica postavljena pomoću tečnosti metode određivanja Ph. Da bi se dobili uporedivi rezultati merenja, mora pridodata količina kiseline (lužine) biti konstantna kod svih pokušaja. Dole navedenim π -vrednostima leži u osnovi sledeća poznata metoda određivanja. Izuzimaju se po tri probe istovremeno iz medija vrenja, i to svaka po 1 cm^3 . U jednoj od ovih probi biva Ph mereno po jednoj od poznatih metoda. Drugoj probi biva dodato $0,5 \text{ cm}^3$ n/100 H_2SO_4 , trećoj $0,5 \text{ cm}^3$ n/100 NaOH , posle čega Ph-vrednost biva merena i u ovim obema probama po istoj metodi. Promene Ph-vrednosti indirektno su proporcionalne amortizovanju. Iznosi ovih promena trebali bi teorijski da imaju istu vrednost sa raznim znakom. Praktično se između promene Ph-vrednosti, koje bivaju izazvane ekvivalentnim količinama kiseline i lužine, pokazuju često značna odstupanja. Kod praktičnog određivanja biva kao uzeto aritmetička sredina promena Ph-vrednosti po kiseloj i alkalnoj strani. Za određivanje Ph bila je upotrebljena poznata metoda indikatornog folija od Dr. Peter Wulff (nemački patent br. 405091).

Stepen amortizovanja hranjivih medija od jedno za drugim sledujućih navikavajućih vrenja biva pomoću primene ove metode određivanja, tako regulisan, da on polako rasti u početku niza gajenja. Pri tome se pokazalo kao veoma korisno, da se za amortizovanje hranljivog medija upotrebljuju mešavine materije iste vrste, koje dobro amortizuju, onako kako se za ovim u glavnim vrenjima dodaju na ishodnoj materiji, koja sadrži ugljene hidrate, kao hranjive materije koje sadrže azota (na pr. klice od slada, ubijeni ili degenerisani kvasci, karbamid, ammonium fosfat ili tome sl.). Ovim se posliže, da mikroorganizam sa navikavanjem na rastuće količine biva naviknu i na rastuće količine takvih dodataka hranjive materije koje sadrže azota. Za stvaranje kiselosti hranljivog medija kod ovih navikavajućih vrenja upotrebljuju se, najbolje, organske kiseline, prvenstveno mlečna kiselina. Dolazi se do najpovoljnijih rezultata, ako se početna kiselost previrajućeg medija u uzastopnim navikavajućim medijima od π od skoro 4 pusti da se poveća od 0,1 do 1,6. (Stepeni kisalosti deju ovde, i u sledećem, broj cm³ neutralisanog natrium hidrata, koji su potrebni pri upotrebi bromthymol-playetnila kao indikatora za neutralizovanje 100cm³ medija). Sa povećavanjem kiselosti i stepena amortizovanja može se dalje i koncentrisanost hranljivog medija u ugljenim hidratima pustiti da stalno rasti ed. navikavajućeg vrenja ka navikavajućem vrenju. Počinje se sa hranjivim medijima, koji sadrže 1% ugljenog hidrata (računat kao skrob) i svršava se sa sadržinom ugljenih hidrata od 6–8%.

Hranjivo tle promenljivog sastava, koje biva upotrebljeno za navikavajuća vrenja, može kao ishodnu materiju, koja sadrži ugljene hidrate, sadržati na pr. krompir, kukuruzno ili pirinčano brašno. Amortizujuće mešavine sa sadržinom azotu sadrže na pr. klice od slada ili autolizirani kvasac, karbamid ili ammoniumfosfat ili ammonium sulfat u raznim kombinacijama. Hranjivi medijum za neutralna vrenja ostaje istog sastava i sastoji se na pr. iz: po težini 100 delova krompirne kaše, 100 delova vode, 10 delova klica od slada ili krvi i 2 dela krede (CaCO₃). Oba hranjiva tla bivaju punjena u epruvete i tri puta frakcionirano sterilizovana. Bacillus biva ili iz tla ili iz poljskih plodova prema metodama, koje je dao Bredemann, uhvaćen i čislo gajen (a. a. o. S. 390 ff), ili spore bivaju izuzete iz raznih rasa Bac. amylobacter A.M. i Bredemanu od već postojećih kultura. Ovi organizmi bivaju najpre 24 časa dalje gajeni na neutralnom hranjivom tlu, zatim oko 5 minuta se zagrevaju na skoro 90° i prekalemaju

se u hranjivi medij prvog navikavajućeg vrenja. Po 48 časovnom vrenju ispituju se kulture na poznat način po svojim bakteriološkim, morfološkim i fiziološkim osobinama. Najpodesniji mikroorganizmi bivaju posle ovog predati drugom vrenju na neutralnom hranjivom tlu i po uništenju vegetativnih oblika prenešeni na odgovarajući pripremljeno hranjivo tle drugog navikavajućeg vrenja. Sva vrenja bivaju vođena potpuno anaerobno 37–30°C. Ovaj postupak naizmeničnih navikavajućih i neutralnih vrenja biva dolle nastavljen, dok jedno ispitujuće vrenje ne pokaže, da je kljuk, koji sadrži organizme, u stanju da prevre 6–8% skrob, — koji je pomoću dodatka kiseline zakišljen do titracione kiselosti od 1,4–1,6 i koji pri početnom stepenu amortizovanja od najmanje 4 ima Ph od 5–4,7, — do polpunog iščezavanja ugljenih hidrata, čime se hoće da kaže, da u mediumu previranja na kraju previranja praktično ne sme biti ni šećera ni skroba. Pošto kulture jako obrazuju gas, za izvođenje ovog ispitujućeg vrenja služe mali recipijenti koji su, kao što je ovo uobičajeno za gajenje anaerobnih mikroorganizama, snabdeveni sa podesnim zatvaračima za previranje, koji propuštaju gasove). Ka ovom cilju dolazi se tek po veoma dugom nizu navikavajućih vrenja no ipak bez vezivanja za izbor rasa Bas. amylobacter A.M. i Bredemann, koje bi se odmah od početka razlikovale morfološki.

U svakom slučaju upotreboom ove metode uspelo se, da se u nizovima od više od stotine navikavajućih vrenja odgaje dve rase ove vrste, koje su veoma pogodne za sprovođenje acetol butyl-alkoholnog vrenja i koje će biti obeležene kao Bacillus amylobacter W i kao Bacillus amylobacter S. Obe ove rase razlikuju se morfološki u svojim vegetacionim oblicima samo time jedna od druge, što bacillus amylobacter W obrazuje duže štapiće, dok vegetacioni oblici druge rase imaju manje vitak oblik. U neutralnog stadiju pretežni su kod Bacillus amylobacter-a W. Plastridien-oblici, a kod druge rase su pak pretežni Clostridien-oblici. Oidien-oblici od oba organizma su veoma živahno pokretljivi. Obe rase ne čine želatin tečnim, i obligatno su anaerobne; one su stoga u oba pogleda u suprotnosti sa bakterijama, koje su preporučene od Weizmann (austrijski patent br. 95449)

Za sprovođenje vrenja u velikim razmerama bivaju samo kulture, koje zadrže spore, kako je to opšte uobičajeno, umnožavane u više dispozicija sa rastućom zapreminom, dok najzad ne bude obrazovana

potrebna količina za podsticanje glavnog kljuka.

I kljukovi za veliko vrenje pripremaju se na uobičajeni način. Najbolja koncentrisanost u skrobu ili šećeru iznosi 6—7%.

Odstupajući od poznatog ostavlja se ipak prema pronalasku da se glavno vrenje vrši u kljukovima, koji pre uvođenja vrenja bivaju zakišeljeni dodatkom ili fermentativnim obrazovanjem organskih kiselina, naročito mlečne kiseline. Takođe i u glavnem kljuku bivaju dalje korisno dodate dobro amortizujuće mešavine materije, koje istovremeno predstavljaju hranjive materije sa sadržinom azota, na pr. mešavine sa sadržinom belančevine biljnog porekla, dale je amonium jedinjenja, naročito amonijačne soli ili karbamid.

Pokazalo se kao korisno, da se početna kiselost glavnog kljuka (titraciona kiselost prema Bronlymol-plavetništu) uspostavi na najmanje 1,4—1,6%. p_h -vrednost treba pri stepenu amortizovanja od najmanje 4 da se nalaze između 1—4,6. U vezi s time doailo se za kontrolu rada pravilo, da se tok ra a nadgleda ne samo bakteriološkim ispitivanjem i određivanjem krive kiselosti, nego i pomoću periodičnih mereua stopena amortizovanja, pri čemu π -vrednost promene kiselosti biva podešena, t. j. sa kiselošću treba da se povećava i da sa maksimumom kiseline istovremeno dostigne najveću vrednost. Bude li ustanovljen nedovoljno visok stepen amortizovanja, to ovo treba da se izjednači dodavanjem visoko amortizujućih dodataka, na pr. soli od mlečne kiseline, od vinske kiseline, od limunove kiseline ili od oksalne kiseline, u toku glavnog vrenja. Na ovaj način biva iskorisćeno smanjivanje oselljivosti izazivača vrenja prema kiselinama pomoću gore opisanog navikavajućeg vranja, da bi se čistota glavnog vrenja uspostavila u stepenu, koji nije do sada postignut i, u vezi sa time, da se postigne pravilno postizanje najveće dobiti. Pod ovim radnim uslovima poslužu se po visini tačke glavnog vrenja maksimumi kiseline od 8—9%. Dakle od organizma naviknutih na kiselinu bivaju i u toku vrenja obrazovane daleko veće količine kiseline no što je to do sada bilo opaženo kod acetona-bulyl-alkoholnog vrenja.

Primer izvođenja: 100 litara kljuka treba da sadrže oko 35—37 kg krompira ili 9—10 kg kukuruznog brašna. Druge materije, koje sadrže skroba bivaju odgovarajući njihovoj sadržini skroba prerađene u kljukove iste koncentrisanosti (6—7% čistog skroba). Krompiri se unose celi, kukuruz ili tome sl. u vidu brašna sa posebnom količinom vode u autoklavu, koji su

snabdeveni sa mešavinama i drže se pod parom pri pritisku od 2—3 atmosfere oko 1—2 časa. Dodaci hranjive materije (uništeni ili autolizirani kvasti ili klice slaba u vezi sa karbamidom ili amonijum-fosfatom ili amonijum-sulfatom ili sa sličnim materijama, koje sadrže azot u raznim kombinacijama) bivaju dodati kljuku još u autoklavama. Podesni sestavi jesu na pr. na 100 litara kljuka, 125 gr uništenih ili degenerisanih kvasaca, 125 gr klica od slada i 40 gr amonijum sulfata. Kljuk biva neposredno ispušten u sudove za vrenje, koji su pre toga brižljivo sterilizovani i koji su snabdeveni sa mešalicama, koji su potpuno zatvoreni i snabdeveni sa podešnim dodatkom za hvatanje obrazovanih gasova. Po podešenosti odgovarajuće početne kiselosti, čemu se dodaje na svakih 100 litara kljuka 80—90⁰ cm³ 80%-ne mlečne kiseline, biva kljuk ohlađen na temperaturi vrenja od 37—38°C na pr. pomoću ugrađenih hladnika; ali se kljuk radi toga može propušlati da prođe kroz predugradene aparate za izmenu toploće.

Ako je glavni kljuk spremjan za podsticanje, mora biti gotov i dodatak bakterija podesne zapremine, koji služi za podsticanje. Za njegove pripravljanje prekalemjuje se Bacterijum amylo-bacter W ili S, po krafkom zagrevanju na približno 90%, na 100 cm³ hranjivog tla, koje je približno na isti način pripremljeno kao glavni kljuk i ostavlja se pri 37—38°C razviću pod anaerobnim uslovima. Posle skoro 48 časova počinje rašćenje i razvijanje odiđa. Pošto se osvedočilo o besprekornoj kakvoći kulture, vrši se prekalemjivanje na približno 2 litra sterilnog kljuka iste kakvoće i posle 24 časa pa približno 20 litara kljuka iste vrste. Posle daljih 24 časa dolaze ovi 20 litara u pripremljen kljuk od 200 do 300 litara, koji posle daljih 24 časa bivaju prevedeni u glavni kljuk, koji je u međuvremenu pripravljen za podslicanje.

Za vreme vrenja glavnog kljuka bivaju najmanje četiri puta dnevno pored bakteriološke kontrole i titracione kiselosti, određivani p_h i stepen amortizovanja, što prema okolnostima vodi ka dodatku daljih amortizujućih materija. Posle skoro 30—32 časovnog vrenja, za vreme kojeg previrući kljuk mora s vremenom na vreme da bude oprezno promešan, biva dostignut vrhunac vrenja a time i maksimum kiselosti (do 8—9%). Ova visoka sadržina kiselosti biva bez slabljenja snošena od strane organizma naviknutih na kiselinu u vezi sa visokim stepenom amortizovanja kljuka. Posle skoro 48 časova vrenje je završeno, t. j. u kljuku se praktično ne može naći ni skroba ni šećera.

Po završetku vrenja obrazovani glavni proizvodi (butyl-alkohol i acetona) bivaju dobiveni poznatim postupkom pomoću frakcioniranog destilisanja. Male količine drugih alkohola ne omogućuju zasebno dobijanje na ekonoman način.

Za vreme vrenja razvijeni gasovi, vodnik i ugljena kiselina, mogu, kao što se to i inače dešava, biti iskorisćeni, isto tako zaostaci koji sadrže materije od vrednosti za hranu.

Već je predlagano da se izazivači acetona butylalkovolnog vrenja pomoću navikavanja na izvesne materije, koje postoje u kljuku kod takozvanog lenjog vrenja doveđu u stanje, pomoću kojeg treba da buda izbegnuto smetanje rada, koje nastupa epidemiski. Ove materije pri bržljivom filtriranju kljukova kroz filter za bakterije zaostaje u kljuku; i iz drugih razloga odlučuje se za ultramikroskopsku kakvoću izazivača lenjog vrenja. Ovde je dakle u pitanju prema tome, kako se smatra navikavanje organizama na nevidljivi virus ili bakteriozder. Isto tako je već poznato, da se kulture podvrgavaju jednom ili više selektivnih procesa, pri čemu ove bivaju gajene u hranjivom rastvoru, kome se dodaju male količine produkata, koji treba da se dobiju vrenjem.

U ovom slučaju tiče se toga, da se izazivači vrenja učine olprtim prema acetolu odn. butyl-alkoholu. Sa ova predloga prijavljeni postupak ima zajedniču samu bakteriološku metodu za navikavanje mikroorganizama na određene materije pomoću ponavljanog gajenja u prisustvu ovih materija.

Patentni zahtevi:

1. Postupak za istovremeno spravljanje butyl-alkohola i acetona pomoću vrenja, naznačen time, što se kao izazivači vrenja upotrebljuju nosioci vrste Bac. Amylobacter A. M. i Bredemann, koji su pomoću gajenja naviknuli na rastuće količine kiselina.

2. Postupak po zahtevu 1 naznačen time, što se rase *Bacillus Amylobacter* A. M. i Bredemann gaje u nizu (u više) previranja (navikivajućih previranja) na hranjivom tlu sa raslućom početnom kiselosću bez neutralisanja kiselina, koje se obrazuju pri vrenju, pri čemu između svaka dva uzastopna navikavajuća vrenja biva umetnuto jedno vrenje u neutralnom ili alkalnom mediju (nazvano neutralno vrenje) sa neutralisanjem kiselina, koje se obrazuju kod vrenja i kulture pre prekalemljivanja na sledeće navikavajuće vrenje sa višom kiselosću bivaju na poznat način svaki put

kratko zagrejane, da bi se uništili svi vegetativni oblici.

3. Oblik izvođenja postupka po zahtevu 2 naznačen time, što se ograničava povećanje koncentrisanosti vodoničnih jonova za vreme vrenja pomoću amortizovanja hranjivih medija od navikavajućih vrenja i to prvenstveno upotrebljujući poznate amortizujuće mešavine: slabe kiseline + alkalna so ovih kiselina, pri čemu stepen amortizovanja π hranjivih medija u uzastopnim navikavajućim vrenjima biva povećan sa rastućom početnom kiselosću.

4. Oblik izvođenja postupka po zahtevu 2—3 naznačen time, što za amortizovanje hranjivih medija od navikavajućih vrenja bivaju upotrebljene dobro amortizujuće mešavine materije iste vrste, kao što se u glavnim vrenjima dodaju kao hranjive materije sa sadržinom azota ishodnoj materiji, koja sadrži ugljene hidrate.

5. Oblik izvođenja postupka po zahtevu 2—4 naznačen time, što se početno kiselost previrućeg medija dopušta u uzastopnim navikavajućim vrenjima pri vrednosti π 4, povećavanje od 0,1 do 1,6.

6. Oblik izvođenja postupka po zahtevu 2—5 naznačen time, što se i oncentrisanost hranjivog medija u ugljenim hidratima pušta da stalno rastu od navikavajućeg vrenja do navikavajućeg vrenja, pri čemu biva početo sa koncentrisanošću od 1% ugljene hidrata (računajući kao skrob) i biva završeno sa koncentrisanošću od 6—8%.

7. Postupak po zahtevu 1—6 naznačen time, što kljukovi glavnog vrenja bivaju zakiseljeni dodatkom ili fermetativnim ovazovanjem organskih kiselina, naročito mlečne kiseline.

8. Oblik izvođenja postupka po zahtevu 1—7 naznačen time što kljuku bivaju dodate dobro amortizujuće mešavine materije, koje istovremeno služe kao azotna hrana, zatim ammonium jedinjenja ili (i) karbamid.

9. Oblik izvođenja postupka po zahtevu 7 i 8 naznačen time, što početna kiselost glavnog kljuka (titraciona kiselost prema bromthymol-plavelnilu) biva podešena na najmanje 1,4—1,6.

10. Oblik izvođenja postupke po zahtevu 7—9 naznačen time, što Ph-vrednost u glavnom kljuka pri stepenu amortizovanja od najmanje 4 biva podešena između 5—4,6.

11. Oblik izvođenja postupka po zahtevu 7—10 naznačen time, što tok vrenja biva nadgledan pomoću periodični merenja stepena amortizovanja i π — vrednost biva podešena prema pnomeni kiselosti, t.j. povećava se sa njom i korisno dosiže najveću vrednost za dostizanje maksimuma kiselosti.

12. Oblik izvođenja postupka po zahtevu 7—11 naznačenime, što pri ustanovljenju nedovoljno visokih stepena amortizovanja u toku glavnog vrenja bivaju glavnom kljuku

pridodati visoko amortizujući dodatci na pr. soli mlečne kiseline, vinske kiseline, limu- nove kiseline ili oksalne kiseline.