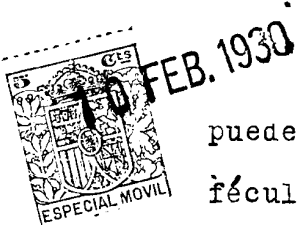


EB/. =

MEMORIA DESCRIPTIVA

para una patente de invención, por veinte años, por "Procedimiento para la obtención simultánea de alcohol butílico y de acetona por fermentación." a favor de los Señores Ing. Don Hugo WERTHEIM de nacionalidad austriaco y el Dr. Don Walter POLLAK, de nacionalidad checoeslovaco, residentes en Wien, XIX Ericagasse, n° 10 y Olmütz, C. S. R., (Austria) respectivamente. =

-
- 1 El objeto del invento es la obtención del alcohol butílico y acetona por fermentación de hidratos de carbono con auxilio de bacterias de la especie bac. amylobacter A. M. et Bredeman (Zentral Blatt f. Bakteriologie, 1909 (Sec. II) 23, 285), obtenidas por cultivo en cantidades crecientes de ácido.
 - 2 Después de haber comprobado Fernbach (patente alemana 223.533) que en la fermentación de hidratos de carbono o de sustancias que los contienen, mediante fermentos del "typus bac. butylicus Fitz" al abrigo del aire, se forman como productos principales alcohol butílico y acetona con pequeñas cantidades de otros alcoholes, este procedimiento se ha desarrollado rápidamente en los E. U. A., hasta
 - 3 obtener una gran importancia industrial. Como productos de partida



4 pueden servir materias primas naturales, lo mismo las que contienen fécula que azúcar, pues los productores de la fermentación bacteriana de la acetona y el alcohol butílico pueden destruir fácil y automáticamente la fécula en monosacáridos. El alcohol butílico y la acetona se forman por todos los fermentos hasta ahora usados, en la relación fija de 2 : 1. El rendimiento en " disolventes " oscila entre 21 - 25 %, calculado por el maíz seco. Juntamente se forman, como productos gasiformes de la fermentación, anhídrido carbónico e hidrógeno.

5 El desarrollo de esta clase de fermentación hasta el estado actual de la técnica, se ha favorecido especialmente por el conocimiento de que, para la obtención regular de fermentaciones energicas, se debe partir de cultivos, que no contengan formas vegetativas, sino exclusivamente esporas. Según esto, para la siembra se emplean cultivos que se hayan calentado brevemente a unos 95°. Se ha comprobado además que los ácidos originados en la fermentación no se deben neutralizar con creta. Para la marcha regular de la fermentación se requiere, antes bien, que la acidez aumente constantemente el principio hasta que alcance un máximo para descender luego también constantemente hasta el final de la fermentación. La curva de esta se ha comprobado ser un medio importante para vigilar el servicio; cuando la acidez retrocede muy lentamente o quizás nada en absoluto, entonces es esto una señal segura de que los caldos están infectados o de que el mismo fermento se ha debilitado. El contenido de los caldos en hidrato de carbono debe quedar considerablemente por bajo de las concentraciones que se permiten en la fermentación alcoholica, el límite máximo viene señalado por 8% de fécula. Los productos de la fermentación acetona-butiralcoholica son, por consiguiente, respecto a sus propios productos de metabolismo, considerablemente mas sensibles que los fermentos. Pero, a pesar de la menor concentración la viscosidad de los caldos preparados por vaporización o tratamiento por vapor de los productos de partida bajo presión, especialmente al trabajarse harina de maíz, es considerable especialmente



1930

- 3. -

10 por lo cual se ha propuesto realizar esta cocción a presión agregan -
do las cantidades limitadas de ácido clorhídrico que precisamente bas-
tan para transformar en monofosfatos los difosfatos contenidos en
la harina. Finalmente, ha recomendado también Fernbach, agregar a
las materias primas convertidas en caldo y que contienen el hidrato
de carbono, como alimento, fermentos atacados en caso necesario o
11 parcialmente destruidos.

Junto a estas propuestas más o menos importantes para el desarrollo
industrial del procedimiento, se encuentran también, especialmente
en las memorias de las patentes, indicaciones sobre diversos organis-
mos, a los que se atribuyen propiedades específicas para este pro -
ceso. Así, por ejemplo, según Weizman (patente austriaca 95.449) se
12 deben emplear en general bacterias resistentes al calor, existentes

entre otros sitios en el suelo y en los frutos del campo, las cua -
les liquidan la gelatina y sin emplear simultáneamente fermentos o
similares, transforman la mayor parte de la fécula del maíz o de
13 otros cereales en condiciones aerobias o anaerobias, directamente
en una mezcla de alcohol butílico y acetona. Otros han creído haber
descubierto para este objeto clases especiales de microorganismos
las cuales describen y denominan. Pero por investigaciones impor -
tantes se ha afirmado y en parte demostrado, que estos organismos

14 solo son diversos por el nombre y siempre pertenecen a la especie
bacillus amylobacter A. M. et Bredeman, pues las diversidades mor-
fológicas y fisiológicas quizás existentes solo se originan por la
acción de diversos alimentos y procedimientos de cultivo. De hecho
han conseguido los solicitantes de la presente patente por largos
15 años de ensayos actuar de tal manera, mediante un procedimiento es -
pecial de cultivo, sobre las propiedades del bac. amylobacter A. M.
et Bredeman, que lo han capacitado para, en condiciones adecuadas,
fermentar totalmente la fécula u otros hidratos de carbono y por
ejemplo, con el resultado conocido de que, juntamente con los pro -
16 ductos gasiformes de la fermentación (anhidrido carbónico e hidró -



eno) se forme una mezcla de alcohol butílico y acetona normal en la relación de 2 : 1, junto con pequeñas cantidades de otros alcoholes.

El objeto del invento lo constituye primeramente este método especial de cultivo o desarrollo, el cual parte del hecho de

17

que todos los productores de la fermentación acetona - butilalcohólica cualquiera que sea el nombre que siempre se les haya dado, son extraordinariamente sensibles a los ácidos, pues en alimentos ácidos degeneran, se tornan asporogenos y finalmente sucumben. El objeto del invento es reducir por habituación paulatina la sensibilidad

18

de los fermentos de esta clase al ácido libre. El procedimiento hallado para llevar a la práctica esta idea del invento consiste esencialmente en cultivar progresivamente sobre cuerpos de alimentación con acidez inicial creciente el bacillus A. M. et Bredeman sin

19

neutralizar el ácido que se forma en la fermentación, hasta tanto que se torne resistente en grado conveniente al ácido, pero entre cada dos cultivos subsiguientes en un alimento de esta clase (que en adelante designaremos por " fermentaciones de habituación "),

20

se intercala una fermentación en medio neutro o alcalino neutralizando los ácidos que se forman en la misma (llamadas a continuación fermentaciones de esporulación). y los cultivos se calientan antes de inocular la fermentación siguiente de habituación con mayor acidez inicial cada vez, en la forma usual durante breve tiempo para matar todas las formas vegetativas, de suerte que solo se sigan cultivando esporas en las fermentaciones de habituación.

21

Según una forma preferente de ejecución del invento se impide por retención o tamponaje del medio alimentador de las fermentaciones de habituación, el que la concentración de los iones hidrógeno, a pesar de aumentar el ácido, sobrepase durante la fermentación ciertos límites, aumentando el grado de tamponaje π de los medios de

22

alimentación en las subsiguientes fermentaciones de habituación, en conformidad con la acidez inicial creciente. Para el tamponaje se prestan especialmente los sistemas conocidos: mezclas de ácidos

debiles con sus sales alcalinas (v. Michaelis). La concentración de los iones hidrógeno " p. 37 ss y pag. 89 y ss.

23 / El grado de tamponaje π se expresa matemáticamente como el co -
24 / ciente diferencial de P_h , según el ácido agregado (o la lejía) ó
tomado estrictamente, como el cociente parcial diferencial con un
 P_h determinado. El grado numérico del tamponaje se determina como
sa sabe midiendo la variación del valor P_h , agregando una cantidad
24 / pequeña determinada de ácido o de alcalí a una cantidad dada del
medio fermentante. Los aditamentos deberían teóricamente ser infi -
nitamente pequeños, pero en la práctica el límite inferior viene
dado por la exactitud del método para determinar P_h . Para obtener
resultados comparables de medida, el ácido (lejía) adicionada debe
25 / ser de cantidad constante en todos los ensayos. Como base de los
valores π abajo indicados se supone el siguiente método conocido
de determinación. Se toman tres pruebas del medio fermentante al
mismo tiempo, por ejemplo cada una de 1 cm³. En una de estas prue -
26 / bas se mide el valor P_h , según el método usual. A la segunda prue -
ba se agregan 0,5 cm³ de n/100 H₂SO₄, a la tercera 0,5 cm³ de n/100
NaOH, después se mide el valor P_h , también en estas dos pruebas
por el mismo método. Las variaciones de los valores P_h , son indi -
27 / rectamente proporcionales al tamponaje. Los importas de estas va -
riaciones deberían tener teóricamente el mismo valor con diversos
signos. Practicamente entre las variaciones del valor p_h , provocadas
por cantidades equivalentes de ácido y lejía, se presentan con fre -
cuencia diferencias considerables. En la determinación práctica se
toma la media aritmética de las variaciones del valor P_h , según el
lado ácido y el alcalino, como π n. Para determinar el p_h , se ha em -
28 / pleado el método conocido de hojas de indicador del Dr. Peter Wulff
(patente alemana 405091).

El grado de tamponaje de los medios de alimentación de las subsi -
guientes fermentaciones de habituación se regula de tal suerte em -
pleando este método de determinación, que aumente lentamente desde
29 / unos 4, al principio de la serie de cultivos. Se ha comprobado ser



18 FEB. 1930

30

muy conveniente en esto el emplear también para la detención o tamponaje, del medio fermentante mezclas de materias activamente detentoras de igual clase como las que se agregan después en las fermentaciones principales a la substancia de partida que contiene hidratos de carbono, como alimentos nitrogenados (por ejemplo, germen de malta, fermentos muertos y con preferencia destruidos, urea, fosfato amónico o similares). Así se consigue que el microorganismo con la habituación a cantidades crecientes de ácido, se acostumbre simultáneamente también a cantidades crecientes de tales aditamentos alimenticios nitrogenados.

31

Para acidificar los alimentos de estas fermentaciones de habituación se emplean con preferencia ácidos orgánicos, preferentemente ácido láctico. Se llega a los mejores resultados cuando la acidez inicial del medio fermentante se hace crecer en las subsiguientes

32

fermentaciones de habituación con un π de 4 proximamente, de 0.1 á 1.6. (Los grados de acidez indican aquí y en adelante el número de los cm^3 de lejía de sosa cáustica normal, que son necesarios, sirviéndose de azul de bromotimol, como indicador, para neutralizar 100 cm^3 del medio). Con el crecimiento de la acidez y del grado de tamponaje, se puede hacer también crecer constantemente la concentración del alimento en hidratos de carbono desde una fermentación a otra fermentación de habituación.

33

Se comienza preferentemente con alimentos que contengan 1 % de hidrato de carbono (calculado como fécula) y se termina con un contenido en hidrato de carbono de 6-8 %.

34

El medio de cultivo, de composición variable, empleado para las fermentaciones de habituación, puede contener como substancia de partida con hidratos de carbono, por ejemplo, patatas, harina de maiz o de arroz. Las mezclas nitrogenadas de tamponaje, contienen por ejemplo, gérmenes de malta o fermentos autolizados, urea o fosfato o sulfato amónico en diversas combinaciones. El alimento o medio de cultivo para las fermentaciones de esporulación es de compo-

35



FEB. 1933

- sición constante y se compone, por ejemplo, de 100 partes en peso de papilla de patata, 100 partes en peso de agua, 10 partes en peso de gérmenes de malta o sangre y 2 partes en peso de creta (CaCO_3).
- 36 Ambos medios de cultivo se ponen en probetas y se esterilizan tres veces fraccionadamente. El bacilo se recoge o de la tierra ó de los frutos del campo, según los métodos indicados por Bredemann y se cultiva puro (a.a.O.p. 390 ss), o se toman esporas de diversas familias del bac. amylobacter A. M. et Bredemann de cultivos ya existentes. Estos organismos se siguen cultivando primero durante 24 horas en el medio de cultivo de esporulación, luego unos 5 minutos se calientan a unos 90° y se inoculan en el primer medio de cultivo de la primera fermentación de habituación. Después de una fermentación de 24 horas, se examinan los cultivos en la forma usual respecto a sus propiedades bacteriológicas, morfológicas y fisiológicas. Los microorganismos mejores se llevan después a una segunda fermentación en medio de cultivo de esporulación y después de matar las formas vegetativas se transportan a los medios de cultivo convenientemente preparados de la segunda fermentación de habituación.
- 37 Todas las fermentaciones se realizan por completo en forma anaerobia a $37 - 38^\circ \text{C}$. Este procedimiento de la fermentación alternativa de habituación y esporulación se continua hasta que una fermentación de prueba indica que los organismos de un caldo que contienen 6 - 8 % de fécula acidificada por adición de ácido hasta una acidez titulada de 1,4 - 1,6 y que con un grado inicial de tamponaje de por lo menos 4, posee un Ph. de 5-4,7, son capaces de fermentar hasta la completa desaparición de los hidratos de carbono, con lo cual debe decirse que en el medio fermentante no debe poderse
- 38 comprobar prácticamente al final de la fermentación ni azúcar ni fécula. (Como los cultivos producen mucho gas, para realizar esta fermentación de prueba se utilizan balones que, como es usual para el cultivo de microorganismos anaerobios, están provistos de cierrres adecuados, permeables al gas). A este fin se llega solo después de una larguísima serie de fermentaciones de habituación, pero
- 39
- 40
- 41
- 42



sin estar obligados a la selección de colonias morfológicamente de
antemano diversas del bac. amylobacter A. M. et Bredeemann.

Sirviéndose de este método se ha conseguido siempre el cultivar en
series de más de cien fermentaciones de habituación dos familias
43 de esta especie muy adecuadas para realizar la fermentación de la
acetona y alcohol butílico, las cuales deben designarse como bacil-
lus amylobacter W. y bacillus amylobacter S. Estos dos géneros se
diferencian morfológicamente entre sí en sus formas de vegetación
unicamente porque el bacillus amylobacter W. forma bacillus más
44 largos, mientras que las formas de vegetación del otro género po-
seen una conformación menos adelgazada. En la fase de esporulación
predominan en el bacillus amylobacter W. las formas plestridién-
cas y en el otro género las formas clostridiénicas. Las formas oi-
diénicas de ambos organismos tienen una movilidad muy viva. Ambas
45 familias ó géneros no liquidan la gelatina y son necesariamente
anaerobias; por esto, bajo estos dos aspectos se hallan en contra-
posición a las bacterias recomendadas por Weizmann (Patente aus-
triaca n° 95,449).

Para realizar la fermentación en gran escala se emplean unicamen-
46 te cultivos que contienen esporas, como se hace de ordinario, au-
mentándolo en varias adiciones de volumen creciente, hasta que se
tiene la cantidad necesaria para preparar el caldo principal.

Los caldos para la fermentación grande se preparan también en la
forma usual. La concentración optima en fécula o azúcar es de 6 -
47 7 %.

Separándose de lo conocido, se puede, sin embargo, realizar según
el invento la fermentación principal en caldos que antes de iniciar-
se la fermentación se han acidificado por adición o formación fer-
mentativa de ácidos orgánicos, especialmente de ácido láctico. Tam-
48 bién al caldo principal se agregan además ventajosamente mezclas
de sustancias de buena acción detentora, que al mismo tiempo sean
alimentos nitrogenados, por ejemplo, mezclas albuminódeas de ori-



FEB. 1930

gén vegetal, y además combinaciones de amonio, especialmente de sales de amoniaco o urea.

49 Se ha comprobado ser conveniente ajustar la acidez inicial del caldo principal (acidez titulada por el azul de bromotimol) por lo menos a 1,4 - 1,6 °. El valor p_H debe hallarse con un grado de tamponaje de por lo menos 4, entre 5 - 4,6. En unión con esto, se obtiene para el control del servicio la regla para vigilar la fermentación

50 no solo mediante examen bacteriológico y determinación de la curva, de acidez, sino también mediante medidas periódicas del grado de tamponaje, adaptandose el valor π a la variación de la acidez, esto es, debiendo aumentar con estos y alcanzar preferentemente con el máximo de acidez su valor máximo. Si se comprueba un grado de

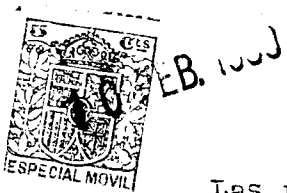
51 tamponaje insuficientemente elevado, entonces este puede compensarse agregando aditamentos de fuerte acción detentora en el curso de la fermentación principal, por ejemplo, sales de los ácidos láctico, vínico, cítrico u oxálico. De esta forma la reducción de la sensibilidad de los fermentos respecto a los ácidos por la fermentación de habituación arriba descrita, se aprovecha para asegurar

52 la pureza de la fermentación principal en un grado hasta ahora no conseguido y en combinación con ello para obtener con ello regularmente los rendimientos más elevados. Con estas condiciones de trabajo se consigue en el punto más elevado de la fermentación principal el máximo de acidez de 8 - 9°. Según esto, por los organismos

53 habituados al ácido se forman en el curso de la fermentación cantidades de ácido bastante mayores que las que se han observado hasta ahora en la fermentación de la acetona y alcohol butílico.

Ejemplo de ejecución. -

54 100 litros del caldo deben contener aproximadamente 35 - 37 kg. de patatas o 9 - 10 kg. de harina de maíz. Otros materiales que contienen fécula, se trabajan en conformidad con su contenido en esta en caldos de igual concentración (6 á 7 % de fécula pura).



55 Las patatas se ponen sin triturar y el maiz o similar en forma de harina con la cantidad adecuada de agua en autoclaves, provistos de agitadores y se tratan por vapor a una presión de 2 - 3 atmosferas durante 1 - 2 horas. Los aditamentos de alimento (fermentos muertos o autolizados o gérmenes de malta, en unión con urea o fosfato o sulfato amonicos o con otras substancias analogas nitrogenadas en combinaciones diversas) se incorporan al caldo con preferencia ya en el autoclave. Son composiciones adecuadas, por ejemplo por 100 litros de caldo, 125 g. de fermentos muertos o destruidos, 125 g. de germen de malta y 40 g. de sulfato amonico. El caldo se expulsa por insuflación directamente a recipientes de fermentación previamente esterilizados con esmero, provistos de agitadores, completamente cerrados y tambien provistos con una construcción adecuada para recoger los gases desprendidos. Despues de ajustar la conveniente acidez inicial, para lo que se agregan preferentemente 80 - 90 cm³ de un acido lactico al 80 % por cada 100

56

57

58

litros de caldo, se enfria este a la temperatura de fermentación de 37 - 38 ° C, mediante, por ejemplo, un refrigerante inserto; pero para este objeto también puede hacerse pasar por aparatos intercalados de intercambio termico.

59

60

61

Cuando el caldo principal se ha preparado para actuar, se debe tambien tener preparada de antemano la adicion de bacterias, de volumen adecuado. Para su preparacion se inocula bacterium amylobacter W. o S. despues de calentado brevemente a unos 90°, en 100 cm³ de medio de cultivo preparado aproximadamente en igual forma que el caldo principal y se le deja desarrollarse a 37 - 38 ° C, en condiciones anaerobias. Después de unas 48 horas comienza el crecimiento y el desarrollo de los oidios. Después de haberse cerciorado de la naturaleza perfecta del cultivo, se efectua la inoculación a unos dos litros de caldo esteril de igual naturaleza y despues de unas 24 horas, a unos 20 litros de caldo de igual clase. Después de otras 24 horas se llevan estos 20 litros a un caldo previamente preparado de 200 a 300 litros, el cual después de otras 24



FEB. 1969

horas se introduce en el caldo principal, preparado entretanto para su actuación.

61 Durante la fermentación del caldo principal se determinan por lo menos 4 veces por día, además del control bacteriológico y de la acidez de titulación, el valor p_h y el grado de tamponaje, lo cual en ciertas circunstancias conduce a agregar otra sustancia de tamponaje. Después de unas 30 - 32 horas de fermentación, durante las cuales el caldo fermentante se debe agitar con precaución hacia arriba y abajo, se alcanza el punto máximo de la fermentación y consiguientemente también el máximo de acidez (hasta 8 - 9°). Este contenido máximo de ácido, se soporta sin debilitación por los organismos habituados al ácido en unión con el grado elevado de tamponaje del caldo. Después de unas 48 horas se ha terminado la fermentación, esto es, no puede practicarse comprobarse en el caldo ni fécula ni azúcar.

64 Después de terminarse la fermentación se obtienen los productos principales formados (alcohol butílico y acetona) por el método usual, mediante destilación fraccionada. Las pequeñas cantidades de otros alcoholes, parece que no pueden obtenerse económicamente por una obtención separada.

65 Los gases, hidrógeno y anhídrido carbónico, que se desprenden durante la fermentación, pueden aprovecharse, como ya se ha hecho, igualmente que los residuos que contienen preciosas sustancias para piensos.

66 Ya se ha propuesto el llevar los generadores de la fermentación acetona - butilalcohólica, por habituación a ciertas sustancias existentes en la llamada fermentación perezosa en el caldo, a un estado por el que se ha de impedir la formación de esta perturbación epidémica del servicio. Estas sustancias no se retienen por los filtros de las bacterias al filtrar cuidadosamente el caldo y también por otros motivos se deduce la naturaleza ultramicroscópica de los productores de la fermentación perezosa. Se trata, por consiguiente aquí, como se ha sospechado, de habitar los organis-

67 mos a un virus invisible o a un bacteriofago. De igual manera tam -
bién es conocido el método de someter los cultivos a uno o varios
procesos selectivos, cultivandose en una disolución alimenticia,
a la que se agregan pequeñas cantidades de los productos que se han
de obtener por fermentación. En este caso se trata de hacer resis -
68 tentes los fermentos a la acetona o al alcohol butílico. Con estos
métodos conocidos, solo tienen de común el solicitado el método bac
teriologico conocido de habituar los microorganismos a determinadas
substancias por repetido cultivo en presencia de las mismas.

N O T A.

Descrito suficientemente el presente invento lo que se declara como
de novedad e invencion propia, son las siguientes reivindicaciones:

- 69 1) Un procedimiento para la obtención simultanea de alcohol butíli -
co y acetona por fermentación, caracterizado porque como fermentos
o productores de la fermentación se emplean familias de la especie
bac. amylobacter A. M. et Bredemann, habituadas por cultivo a can -
tidades crecientes de ácido.
- 70 2) Un procedimiento según lo reivindicado en el punto 1, caracter -
izado porque las familias del bacillus amylobacter A. M. et Bre -
demann, se cultivan progresivamente en alimentos con acidez inicial
creciente sin neutralizar el ácido que se forman en la fermentación
en una serie de estas (fermentaciones de habituación) intercalan -
71 dose entre cada 2 fermentaciones sucesivas de habituacion una fer -
mentacion en medio neutro o alcalino sin neutralizar los acidos que
se forman en la fermentacion (fermentacion de esporulacion) y los
cultivos, antes de la inoculacion a la siguiente fermentacion de
habituacion con acidez mas elevada, se calientan cada vez brevemen -
72 te en la forma conocida, para matar todas las formas vegetativas.
- 3) Una forma de ejecución del procedimiento reivindicado en el pun -
to 2, caracterizada porque el aumento de la concentración de iones
hidrogeno durante la fermentacion se limita, mediante tamponaje o
detencion de los medios alimenticios de las fermentaciones de ha -





73 bituación y esto sirviéndose preferentemente de las mezclas de cultivo detentoras; ácido débil y sal alcalina de este ácido, aumentando el grado de tamponaje de los medios alimenticios en las subsiguientes fermentaciones de habituación de acidez inicial creciente.

74 4) Una forma de ejecución del procedimiento reivindicado en los puntos 2 y 3, caracterizada porque para la retención de los medios fermentantes de las fermentaciones de habituación, se emplean conjuntamente mezclas de sustancias detentoras de igual clase, como las que se agregan después en la fermentación principal a la sustancia de partida que contiene el hidrato de carbono, como alimentos nitrogenados.

75 5) Una forma de ejecución del procedimiento reivindicado en los puntos 2 á 4, caracterizada porque la acidez inicial del medio fermentante se hace aumentar en las subsiguientes fermentaciones de habituación con un π de 4, de 0,1 á 1,6.

76 6) Una forma de ejecución del procedimiento reivindicado en los puntos 2 á 5, caracterizada porque también se hace aumentar constantemente la concentración del medio alimenticio en hidrato de carbono de una a otra fermentación de habituación, comenzándose con una concentración de 1 % de hidrato de carbono (calculado como fecula) y terminándose con una concentración de 6 - 8 %.

77 7) Un procedimiento según lo reivindicado en los puntos 1 a 6, caracterizado porque los caldos de la fermentación principal se adifican por adición o formación fermentativa de ácidos orgánicos, especialmente de ácido láctico.

78 8) Una forma de ejecución del procedimiento reivindicado en los puntos 1 á 7, caracterizado porque al caldo se agregan mezclas de sustancias de buena acción detentora o tampón, que al mismo tiempo sirven de alimento nitrogenado, y además combinaciones de amonio o / y urea.

79 9) Una forma de ejecución del procedimiento reivindicado en los



FEB. 1930

- 14. -

puntos 7 y 8, caracterizado porque la acidez inicial del caldo principal (acidez titulada por el azul de bromotimol) se ajusta por lo menos a 1,4 - 1,6.

80 10) Una forma de ejecución del procedimiento reivindicado en los puntos 7 á 9, caracterizada porque el valor F_h , en el caldo principal, con un grado de tamponaje de por lo menos 4, se ajusta entre 5-4,6.

81 11) Una forma de ejecución del procedimiento reivindicado en los puntos 7 á 10, caracterizada porque la marcha de la fermentación se vigila mediante medidas periodicas del grado de tamponaje y se adapta el valor π a la variacion de la acidez, esto es, crece con esta y alcanza preferentemente su valor maximo con el maximo de acidez.

82 12) Una forma de ejecución del procedimiento reivindicado en los puntos 7 á 11, caracterizada porque al comprobar grados de tamponaje insuficientemente elevados en el decurso de la fermentación principal, se agregan al caldo principal aditamentos de elevada acción detentora o tampón, por ejemplo, sales de los ácidos lactico, vínico, cítrico, u oxálico.

83 13) " Procedimiento para la obtención simultanea de alcohol bûtílico y de acetona por fermentación. " según se describe y reivindica en esta memoria descriptiva.

84 Consta esta descripción de catorce hojas foliadas y escritas a maquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 10 de Febrero de 1930.

Leocadio López y López. =

P.F.=