

# Vliv hlízové bramborové vody na butanol-acetonové kvašení

DAGMAR VRANÁ-HEJNALOVÁ

543.264+547.284.3]:663.15

Výzkumný ústav kvasného průmyslu — skupina průmyslu bramborářského v Praze

Butanol a aceton našly uplatnění v řadě průmyslových odvětví již před první světovou válkou a jejich význam právě ve válce ještě značně stoupl. Když roku 1912 *Weizman* isoloval mikroorganismus schopný produkovat aceton a butanol na nejružnějších cukerných substrátech, byl využit tento jev prakticky a nahrazována nákladná a zdlouhavá syntetická výroba butanolu a acetonu jejich kvasnou produkcí. První takový závod byl postaven v letech 1913 až 1914 v USA, později pak další v Anglii, Kanadě a Indii. Postup získávání těchto rozpouštědel kvasnou cestou vypracoval *Weizman*. Výchozím substrátem byla kukuřičná nebo obilná žrádla. Tím se však celý proces značně zdražoval; průmysloví mikrobiologové a kvasní chemici se tedy snažili nahradit tyto drahé suroviny nejružnějšími odpady nebo surovinami méně hodnotnými.

Jejich práce však zatím nepřesáhly rámec laboratorních pokusů.

*Peterson, Fred* a *Verhulst* [12] se pokoušeli vyrobit aceton, butylalkohol a těkavé kyseliny z kukuřičných palic. Stejně zaměření měly i pokusy *Langlykkovy, van Lanenovy a Fraserovy* [7]. Tito zjistili, že roztoky xylosy, získané z tohoto materiálu v prvním stupni dvoustupňové hydrolysy, mohou být zkvašovány vybraným kmenem butylogenních klostridií. Medium ovšem vyžadovalo předchozí úpravy práškováním železem nebo aktivním uhlím. Produkce rozpouštědel a jejich poměr byl stejný jako při zkvašování glukosy nebo melasy. *Fred, Peterson a Anderson* [4] pokusně zkvašovali hydrolysáty ovesných slupek a slupek z burských oříšků. Hydrolysované ovesné slupky se tímto způsobem pokoušeli zpracovat rovněž *Underkofler,*



Fulmer a Rayman [15]. Po zjištění, že butylogenní klostridia mohou metabolisovat pentosy, přikročili Sjolander, Langlykke a Peterson [14] a později Leonard, Peterson a Ritter [8] k pokusům o zkvašování dřevních hydrolysátů na butanol a aceton. Sjolander, Langlykke a Peterson hydrolysovali dřevo zředěnou kyselinou sírovou a po neutralisaci uhlíčanem vápenatým naočkovali hydrolysát *Cl. felsineum* a *Cl. butylicum*. Na těkavé produkty bylo přeměněno 30 až 40 % cukrů. Poměr produktů byl u *Cl. felsineum* týž jako na glukose, *Cl. butylicum* produkoval malá množství isopropanolu. Leonard, Peterson a Ritter očkovali dřevní hydrolysáty přímo kmenem *Cl. acetobutylicum* č. 39. Výtěžky neutrálních produktů byly 24 až 38 % na zkvašený cukr.

Wendland, Fulmer a Underkofler [17] využívali levulanů z topinamburů (Jerusalem Artichokes), které mírnou kyselou hydrolysou převedli na levulosu a po neutralisaci hydroxydem sodným očkovali *Cl. acetobutylicum*. K zajištění maximálních výtěžků přidávali živiny ve formě obilné drti. Autoři dosáhli stejných výtěžků i poměru rozpouštědel jako na obilné zápaře.

Konečně Wiley, Johnson, Mc Coy a Peterson [18] se snažili zkvašením na butanol a aceton zhodnotit odpadní sulfitové výluhy. K upravenému výluhu přidali anorganické soli a živiny ve formě melasy. Nejvhodnějším mikroorganismem pro toto kvašení byl *Cl. butylicum*. V neutrální produkty bylo přeměněno 25 až 30 % cukrů v poměru 75 dílů butanolu, 20 dílů acetonu a 5 dílů etanolu. U nás se podobným problémem zabývala Malivánková.

V roce 1952 vypracoval Dyr [3] způsob výroby rozpouštědel, přizpůsobený našim podmínkám. Výchozí surovinou byly brambory, substrátem bramborová zápara v koncentraci asi 4 %. Tento způsob je již v provozu.

Vhodnou odpadní surovinou pro butanol-acetonové kvašení u nás se zdají být výrobní zbytky při škrobářské výrobě. Až dosud byly tyto látky zužitkovány při kombinované výrobě škrobářsko-lihovarské. Jistým nedostatkem je tu poněkud vyšší spotřeba uhlí na vyrobený 1 hl lihu vlivem slabé koncentrace zápar. Proto se zdá být vhodnější zužitkování škrobářských odpadů kvasným procesem butanol-acetonovým, kde, jak známo, obsah zkvasitelných uhlohydrátů v zápaře se pohybuje kolem 5 až 6 %. Při výrobě škrobu přicházejí pro toto zhodnocování v úvahu koncentrovaná hlízová voda, zadní škroby a škrobářské zdrtky. Jednotlivé složky se v uvedeně zápaře podílejí obsahem zkvasitelných uhlohydrátů takto: hlízová voda 23 %, zadní škroby 27,5 % a škrobářské zdrtky 49,5 %.

Zužitkování těchto látek na rozpouštědla v poloprovozním měřítku provádíme již čtvrtou kampaň s poměrně dobrým výsledkem. Směs výše uvedených látek se paří kontinuálním způsobem a na zákvasnou teplotu se chladí povrchovým způsobem v ležatých kvasných kádích. K zakvašování se používá kultury ze Závodu 25. února v Rájci, a to v poměru 2000 ml zákvasu na 70 hl díla. Obsah škrobu v zápaře se pohybuje od 4,5 do 5,5 %. Kon-

centrace rozpouštědel v zápaře se pohybuje od 1,55 do 1,96 %, poměr rozpouštědel v průměru 60,53 % butanolu, 29,31 % acetonu a 10,17 % etanolu. Obsah nezakvašeného škrobu činí 0 až 0,26 %, kvasná doba je 48 až 55 hodin.

Takto dosažené slibné výsledky z poloprovozních zkoušek, jakož i význam kombinované výroby škrobářsko-kvasné pro likvidaci odpadních vod škrobářských nás přiměly k důkladnějšímu studiu problému zužitkování tohoto odpadu na rozpouštědla. Šlo hlavně o to, zjistit vliv koncentrované hlízové vody na celý kvasný proces. Ve srovnání s normální výrobou rozpouštědel z brambor, kde dochází ke zředování bramborové substance v poměru 1 : 3, je při kombinované výrobě až dosud ředěna bramborová hmota po značném odstranění škrobu v poměru 1 : 0,75 provozní vodou. Je dán tudíž předpoklad, že převážná část rozpustných látek bramborové substance, obsažená v hlízové vodě, může ovlivňovat téměř v původní koncentraci celý kvasný proces. Kröner uvádí toto složení bramborové hmoty: 76,50 % vody, 17,50 % škrobu, 1,92 % dusíkatých látek, až 5,51 % sacharosy, 1,55 % pentos, 0,12 % tuku a 0,5 % fosfatidů. Podrobným rozбором sušiny bylo zjištěno, že brambory obsahují téměř všechny běžné aminokyseliny a řadu organických kyselin (kyselinu jablečnou, jantarovou, dioxymaleinovou, vinnou, citronovou, šťavelovou, mléčnou).

V neškrobnaté části bramborové substance tvoří rozpustný podíl asi 65 %, z čehož 45 % jsou látky dusíkaté, 25 % cukry a 30 % popeloviny. Při laboratorních zkouškách jsme tedy sledovali vliv hlízové vody na proces butanol-acetonového kvašení.

#### Materiál a metodika

Pracovali jsme s kmenem *Cl. acetobutylicum* Z 4, izolovaným na pracovišti v Rájci nad Svitavou. Kmen byl vypěstován z odisolovaných zdravých buněk, zbylých po autolyse kultury v degenerovaném kvasném procesu v provozu. Kulturu jsme uchovávali v lednici na bramborové zápaře a přeočkovali pravidelně 1krát za 2 měsíce. Pro další práce jsme ji používali až po určité době klidu v lednici (nejméně 3 týdny). Vegetativní inokulum jsme připravovali očkováním 4 % bramborové zápar (z čerstvých brambor) šokovaným sbírkovým materiálem. K očkování pokusů jsme používali výhradně 22hodinového vegetativního inokula v množství 4 %. Pro vlastní pokusy bylo použito bramborové zápar připravené z bramborové mouky a hlízové vody v koncentraci 5 a 7 %. Zahusťená hlízová voda (60 % sušiny) byla rovněž uchovávána v lednici a pro přípravu zápar ředěna vodovodní vodou na 2 % sušiny. Kontrolou pokusů byly baňky připravené stejným způsobem z bramborové mouky a vodovodní vody. Kvasná teplota byla 37 °C, kvasná doba 72 hodin, objem kultivační tekutiny byl 500 ml.

#### Stanovení kvasných produktů

Kvasné produkty jsme stanovili podle Rosenfelda a Simona (1950): 100 ml kvasného media jsme zalikalisovali 10 ml 1 N NaOH, zředili 20 ml destilo-



vané vody a oddestilovali 100 ml. Zalkalisováním se zvýší disociační konstanta kyselin a protože těkají pouze nedisociované kyseliny, přecházejí do destilátu neutrální produkty, zatím co kyseliny zůstávají v destilačním zbytku.

V destilátu jsme stanovili butanol a etanol postupem, uváděným *Johnsonem* [6]. Stanovení acetonu jsme prováděli metodou *Goodwinovou* [5], která je modifikací *Messingerovy* [10] metody.

Cukry jsme určili metodou *Shafera* a *Hartmana* [13]. Před stanovením jsme 10 ml kvasného media podrobili 3hodinové hydrolyse se 4 ml 10 N  $H_2SO_4$  na vodní lázni a potom zneutralisovali 4 ml 10 N NaOH. Při tomto stanovení byly zjištěné hodnoty přepočteny na glukosu. Titrační aciditu jsme sledovali titrací 10 ml media 0,1 N NaOH na fenolftalein.

Pro biometrické hodnocení dosažených výsledků jsme použili jednak *t*-testu, jednak  $\chi^2$  (*Macek, Pokorný*) [9]. *T*-test ukázal, do jaké míry je průkazný rozdíl mezi výsledky v pokuse a v kontrole, pomocí  $\chi^2$  jsme zjistili pravděpodobnost, s jakou se budou opakovat výsledky v pokusech i v kontrolách ve vztahu k výtěžkům theoretickým.

Pro *t*-test jsme používali hodnot:

$n$  = počet případů

$$\bar{x} = \frac{S(x_i)}{n} \text{ — arithm. průměr}$$

$$s_x^2 = \frac{1}{n-1} \cdot (S(x_i)^2 - n\bar{x}^2) \text{ — rozptyl}$$

$s_x = \sqrt{s_x^2}$  — standardní deviace (směrodatná odchylka)

$$s_x^- = \frac{s_x}{\sqrt{n}} \text{ — střední chyba}$$

Způsob uvádění výsledků:  $\bar{x} \pm 3 s_x^-$

$$t(n_1 + n_2 - 2) = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{s_{x_1}^2 + s_{x_2}^2}}$$

Príslušnou hodnotu pro  $t(n_1 + n_2 - 2)$  vyhledáme v tabulce.

Při výpočtu  $\chi^2$  jsme postupovali takto:

$E$  = hodnoty očekávané (v našem případě 60 : 10 : 30)

$D$  = hodnoty dosažené

$$\chi^2 = \frac{(E-D)^2}{E \text{ (pro but.)}} + \frac{(E-D)^2}{E \text{ (pro et.)}} + \frac{(E-D)^2}{E \text{ (pro acet.)}}$$

$N = n - 1$

$n$  = v našem případě 3 (butanol, etanol, aceton).

Pro vypočtený  $\chi^2$  a naše  $N$  opět najdeme odpovídající hodnotu v tabulce.

### Zhodnocení experimentální části

Varianta s 5 % škrobu

Pokus		Kontrola
střední chyba: butanol	3,86	5,79
etanol	2,17	1,88
aceton	1,81	1,11

% butanolu v zápaře:

52,55 %  $\pm$  11,58 %    48,10 %  $\pm$  17,37 %

### Experimentální část

Tabulka 1

POKUS

Kmen	Baňka č.	Koncentrace rozpouštědel v zápaře	Rozpouštědla v mg/ml			Vzájemný poměr rozpouštědel v %			Tit. ac.	Cukry mg/ml	Cukry na poč. pokusu v %
			butanol	etanol	aceton	butanol	etanol	aceton			
Z <sub>4</sub> (Ráj.)	1.	1,733	9,42	1,92	5,99	54,35	11,08	34,56	3,7	8,10	5,0 %
	2.	1,776	6,69	4,40	6,67	37,66	24,77	37,55	4,0	7,72	
	3.	1,780	7,30	4,12	6,38	41,00	23,14	35,83	3,6	7,72	
	4.	1,818	9,96	2,33	5,89	54,78	12,81	32,39	4,0	8,10	
	5.	2,059	12,10	2,69	5,80	58,77	13,06	28,17	3,7	8,22	
	6.	1,832	9,10	3,09	6,13	49,67	16,86	33,45	3,9	8,02	
	7.	1,644	9,83	1,39	5,22	59,79	8,46	31,75	4,8	4,77	
	8.	1,738	11,20	1,74	4,44	64,44	10,01	25,55	4,0	4,77	
Průměr						52,55	15,00	32,40			
KONTROLA											
	1.	1,710	9,50	2,29	5,31	55,55	13,39	31,05	3,1	3,85	5 %
	2.	1,477	6,82	3,70	4,25	46,17	25,05	28,77	3,0	4,01	
	3.	1,554	8,05	3,51	3,98	45,47	19,82	22,48	2,9	3,92	
	4.	1,677	9,50	2,29	4,98	56,64	13,65	29,69	3,2	3,70	
	5.	1,826	10,10	3,21	4,85	55,30	17,57	26,55	3,3	3,58	
	6.	1,776	9,93	3,15	4,68	55,91	17,73	26,35	3,0	3,72	
	7.	1,780	9,80	3,20	4,80	55,05	17,97	26,96	3,2	3,69	
	8.	1,641	9,50	2,29	4,62	57,88	13,95	28,14	3,1	3,94	
	9.	1,567	8,32	3,87	3,48	53,09	24,69	22,20	2,9	3,81	
	10.	1,704	7,09	5,47	4,48	41,61	32,10	26,29	3,3	3,57	
	11.	1,774	7,50	4,94	5,30	42,27	27,84	29,87	3,0	3,42	
	12.	1,771	7,50	4,94	5,27	42,34	27,89	29,75	3,1	3,45	
Průměr						48,10	20,92	29,09			



Tabulka 2

POKUS

Kmen	Baňka č.	Koncentrace rozpouštědel v zápaře	Rozpouštědla v mg/ml			Vzájemný poměr rozpouštědel v %			Titř. ac.	Cukry mg/ml	Cukry na poč. pokusu v %
			butanol	etanol	aceton	butanol	etanol	aceton			
Z <sub>4</sub> (Ráj.)	1.	1,911	11,61	2,67	4,80	60,75	13,97	25,27	4,5	4,21	7,0 %
	2.	1,890	11,81	2,07	5,02	62,49	10,95	26,56	4,6	3,70	
	3.	2,085	10,79	3,97	6,09	51,75	19,04	29,21	4,5	3,57	
	4.	1,809	7,16	6,43	4,5	39,58	35,54	24,88	4,5	2,79	
	5.	1,420	9,55	0,59	4,06	67,25	4,15	28,59	3,6	3,44	
	6.	1,397	8,87	2,11	2,99	63,49	15,10	21,40	4,4	3,70	
	7.	1,691	10,36	1,33	5,22	61,27	7,87	30,87	5,4	4,46	
	8.	1,696	9,69	2,63	4,64	57,13	15,51	27,36	4,3	4,32	
	9.	1,736	9,42	3,50	4,44	54,26	20,16	25,58	4,2	3,95	
	10.	1,513	8,87	2,11	4,15	58,63	13,95	27,43	4,5	4,02	
	11.	1,683	9,56	2,25	5,02	56,80	13,37	29,83	4,7	4,93	7,0 %
	12.	1,533	8,87	2,11	4,35	57,86	13,76	28,38	4,9	5,10	
	13.	1,571	8,87	2,11	4,73	56,46	13,43	30,11	4,5	4,57	
	14.	1,816	11,03	2,49	4,64	60,74	13,71	25,55	5,1	4,87	
	15.	1,783	9,83	2,98	5,02	55,13	16,71	28,15	4,6	4,72	
	16.	1,838	10,07	2,67	4,64	54,79	14,53	25,24	5,2	4,98	
	17.	1,555	10,38	1,21	3,86	66,75	7,78	24,82	4,7	5,20	
	18.	1,393	9,28	0,79	3,86	66,62	5,67	27,71	4,3	4,79	
	19.	1,513	8,87	2,11	4,15	58,63	13,95	27,43	4,6	4,95	
	20.	1,478	8,05	2,38	4,35	54,47	16,10	29,43	4,5	4,78	
	21.	1,552	8,87	2,11	4,54	57,15	13,59	29,25	4,5	4,84	
	22.	1,550	9,28	1,58	4,64	59,87	10,19	29,94	4,6	4,82	
Průměr						59,71	14,72	27,34			
KONTROLA											
	1.	1,686	10,49	3,28	3,09	62,22	19,45	18,33	3,0	4,08	7 %
	2.	1,548	7,61	4,97	2,90	49,08	32,06	18,71	2,8	4,00	
	3.	1,562	7,50	4,93	3,19	47,83	31,44	20,34	3,1	4,65	
	4.	1,768	9,96	4,92	2,80	56,32	27,82	15,83	2,8	4,23	
	5.	1,484	7,50	4,93	2,41	50,54	33,21	16,23	2,8	4,98	
	6.	1,902	11,60	4,91	2,51	60,98	25,81	13,19	2,9	4,54	
	7.	1,753	10,51	3,16	3,86	59,95	18,02	22,02	2,8	4,42	
	8.	1,497	7,50	4,93	2,54	49,63	32,62	16,81	3,0	5,05	
	9.	1,547	10,66	1,91	2,90	68,90	12,35	18,75	2,9	4,21	
	10.	1,692	9,28	4,74	2,90	54,84	28,01	17,14	2,9	4,07	
	11.	1,682	9,28	4,74	2,80	55,17	28,18	16,65	3,0	4,10	
	12.	1,457	6,68	4,41	3,48	45,84	30,27	23,88	2,9	4,87	
Průměr						55,11	26,60	18,19			

% etanolu v zápaře:

15,00 % ± 6,51 % 20,92 % ± 5,65 %

% acetonu v zápaře:

32,40 % ± 5,43 % 27,34 % ± 3,33 %

 $t_{(18)}$  pro butanol = 53,92 % $t_{(18)}$  pro etanol = 5,02 % $t_{(18)}$  pro aceton = 11,53 % $\chi^2 = 17,7 %$ 

Varianta se 7 % škrobu &lt; 1 %

% acetonu v zápaře:

27,34 % ± 2,37 % 18,19 % ± 4,89 %

 $t_{(32)}$  pro butanol = 11,0 % $t_{(32)}$  pro etanol < 1 ‰ $t_{(32)}$  pro aceton < 1 ‰ $\chi^2 = 28,3 %$ 

&lt; 1 %

## Diskuse

V laboratorních pokusech jsme sledovali možnost zkvašení škrobářenských zbytků na butanol a aceton, a to jednak při koncentraci 5 % cukru, jednak koncentraci 7 % cukru. Při pokusech byla zajišťována konstantní produkce rozpouštědel zachováváním stále stejných podmínek (kvasná doba, kvasná teplota, objem kultivační tekutiny, tvar kultivačních nádob, složení substrátu, stáří a množství inokula). Přesto však byl v některých, zejména

Pokus

Kontrola

střední chyba: butanol 2,54

1,97

etanol 1,65

1,82

aceton 0,79

1,63

% butanolu v zápaře:

59,71 % ± 7,62 % 55,11 % ± 5,91 %

% etanolu v zápaře:

14,72 % ± 4,95 % 26,60 % ± 5,46 %



kontrolních baňkách, zjištěn nápadně nepříznivý poměr neutrálních produktů. Protože, jak je svrchu uvedeno, byly při pokusech zachovávány konstantní podmínky a protože běžnými kontrolními metodami, zavedenými v provozu (mikroskopická kontrola stavu bakterií, titrační acidita, tvorba plynu), nebyly zjištěny žádné abnormality v průběhu kvašení, nebyly tyto „špatné“ baňky vyřazeny, nýbrž jsme obrátili pozornost ke statistickým metodám.

Ve srovnání s kontrolou byla v pokusech střední chyba menší téměř u všech hodnot. Rozdíl v procentuálním poměru rozpouštědel je však podle výsledků *t*-testu statisticky dostatečně průkazný pouze u etanolu a acetonu ve variantě pokusu se 7 % škrobu (za průkaznou se pokládá pravděpodobnost menší než 5 %). Naproti tomu druhé biometrické měřítko ( $\chi^2$ ), kdy výtěžky v pokusech i v kontrolách byly vztahovány k theoretickému poměru rozpouštědel ukázalo, že ve variantě s 5 % škrobu je pravděpodobnost 17,7 % a ve variantě se 7 % škrobu dokonce 28,3 %, zatím co v kontrole je v obou případech menší než 1 %.

Podle výsledků biometrického hodnocení lze tedy škrobářenské zbytky používat ke kvasné výrobě butanolu a acetonu dokonce s poněkud lepšími výsledky než brambory. Zejména důležité však je, že kvašení s přidáním hlízové vody vykazuje daleko menší výkyvy v procentuálním poměru rozpouštědel mezi jednotlivými baňkami. Průběh kvasného procesu s hlízovou vodou je tedy, podle výsledků  $\chi^2$ , mnohem pravidelnější; výsledky se více přibližují výsledkům theoretickým než při kvašení kontrolním.

Námi použitých statistických metod lze používat i v provozech.  $\chi^2$  může sloužit jako měřítko na př. pro posuzování výhod nového technologického postupu, *t*-testu lze použít pro hodnocení nově zaváděné suroviny.

Nepříznivým zjevem v naší práci je vysoký obsah zbytkového cukru na konci kvašení.

## Závěr

1. Byly provedeny laboratorní pokusy se zkvašováním škrobářenských zbytků na butanol a aceton jednak při koncentraci 5 % cukru, jednak při koncentraci 7 % cukru.

2. Podle výsledků analys je možno tuto surovinu zpracovávat s poněkud lepšími výsledky než bramborovou záparu. Kvašení s hlízovou vodou probíhá pravidelněji a s menšími výkyvy než kvašení kontrolní.

3. Pro posuzování přednosti nové suroviny bylo použito biometrických metod.

## Literatura

- [1] BERNHAUER K.: *Gärungchemisches Praktikum*. Berlin 1939
- [2] DYR J.: Výroba n-butanolu a acetonu kvašením bramborů. *Průmysl potravin* 1 (1950) 267
- [3] DYR J.: Problémy přípravy kultur při butanol-acetonovém kvašení. *Průmysl potravin* 3 (1952) 262
- [4] FRED E. B., PETERSON W. H., ANDERSON J. A.: Production of Acetone, Alcohol and Acids from Oat and Peanut Hulls. *Ind. Eng. Chem.* 15 (1923) 126
- [5] GOODWIN L. F.: Modification of the Messinger Method for Acetone Determination. *Journ. Amer. Chem. Soc.* 42 (1920) 39
- [6] JOHNSON M. J.: Determination of Small Amounts of Ethyl and Butyl Alcohols. *Ind. Eng. Chem.* IV. (1932) 20
- [7] LANGLYKKE A. F., VAN LANEN J. M., FRASER D. R.: Butyl-Alcohol from Xylose Saccharification Liquors from Corncocks. *Ind. Eng. Chem.* 40 (1948) 1716
- [8] LEONARD R. H., PETERSON W. H., RITTER G. J.: Butanol-Aceton Fermentation of Wood Sugar. *Ind. Eng. Chem.* 39 (1947) 1443
- [9] MACEK J., POKORNÝ V.: Zakládání a hodnocení biologických pokusů. *Skripta*, Praha 1956
- [10] MESSINGER J.: Titrimetrische Bestimmung von Aceton in Methylalkohol. *Ber. der Deutsch. Chem. Ges.* 21 (1888) 3366
- [11] ROSENFELD B., SIMON E.: The Mechanism of Butanol-Aceton Fermentation. I. The Role of Pyruvate as an Intermediate. *J. Biol. Chem.* 186 (1950) 395
- [12] PETERSON W. H., FRED E. B., VERHULST J. H.: A Fermentation Process for the Production of Acetone, Alcohol and Volatile Acids from Corncocks. *Ind. Eng. Chem.* 13 (1921) 757
- [13] SHAFFER P. A., HARTMAN A. F.: The Iodometric Determination of Copper and its Use in Sugar Analysis II. *J. Biol. Chem.* 45 (1920) 365
- [14] SJOLANDER N. O., LANGLYKKE A. F., PETERSON W. H.: Butylalcohol Fermentation of Wood Sugar. *Ind. Eng. Chem.* 30 (1938) 1250
- [15] UNDERKOFER L. A., FULMER E. I., RAYMAN M. M.: Oat Hull Utilization by Fermentation. Butyl-Acetic Acid Fermentation of the Acid Hydrolyzate. *Ind. Eng. Chem.* 29 (1937) 1290
- [16] WEINSTEIN L., RETTGER L. F.: Some Factors involved in the biological Production of Acetone and Butylalcohol. *J. Bact.* 25 (1933) 201
- [17] WENDLAND R. T., FULMER E. I., UNDERKOFER L. A.: Butyl-Acetic Acid Fermentation of Jerusalem Artichokes. *Ind. Eng. Chem.* 33 (1941) 1078
- [18] WILEY A. J., JOHNSON M. J., MCK COY E., PETERSON W. H.: Aceton-Butyl-Alcohol Fermentation of Waste Sulfite Liquor. *Ind. Eng. Chem.* 35 (1941) 605