

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 717**

51 Int. Cl.:

**C12G 1/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.03.2012 PCT/CZ2012/000022**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.09.2012 WO12119572**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2012 E 12755189 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2017 EP 2681301**

54 Título: **Composición de ácidos grasos saturados y su uso para la inhibición de la fermentación alcohólica o maloláctica y reducción de la dosis de dióxido de azufre en la tecnología de elaboración de vino**

30 Prioridad:

**04.03.2011 CZ 20110116**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**04.10.2017**

73 Titular/es:

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNE (100.0%)  
Zemedelská 1665/1  
613 00 Brno, CZ**

72 Inventor/es:

**BARON , MOJMÍR;  
KUMSTA, MICHAL y  
BÁBÍKOVÁ, PETRA**

74 Agente/Representante:

**ZUAZO ARALUZE, Alexander**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 635 717 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS SATURADOS Y SU USO PARA LA INHIBICIÓN DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA O MALOLÁCTICA Y REDUCCIÓN DE LA DOSIS DE DIÓXIDO DE AZUFRE EN LA TECNOLOGÍA DE ELABORACIÓN DE VINO**

5

**DESCRIPCIÓN**

**Campo de la invención**

10 La invención presentada en el presente documento se refiere a la tecnología de elaboración de vino y proporciona una mezcla de ácidos grasos saturados para la inhibición de la actividad de levaduras y bacterias lácticas durante la fermentación alcohólica y maloláctica y para la reducción de la dosis de dióxido de azufre en la tecnología de elaboración de vino.

**Estado de la técnica**

15 La fermentación alcohólica es uno de los procesos más importantes de la tecnología de elaboración de vino. Los problemas que pueden surgir durante la fermentación alcohólica tienen carácter económico y cualitativo. La falta de nitrógeno es un problema grave. Si hay falta de este elemento en el vino, se produce un crecimiento de levaduras limitado y se ralentiza la fermentación alcohólica. Se estima que la concentración mínima de nitrógeno asimilado para una finalización satisfactoria de la fermentación es de 140 - 150 mg/l, siendo la concentración ideal de mosto con contenido en azúcar promedio de 190 mg/l. Las levaduras necesitan incluso una pequeña cantidad de oxígeno para su crecimiento. El mayor crecimiento de sustancia de levaduras y posible fermentación "hasta sequedad" puede producirse en su presencia. La fermentación puede ser lenta sin oxígeno inicial. Este es el motivo por el que los mostos de vino pueden oxigenarse o airearse para proporcionar apoyo a las levaduras. El alto contenido en azúcar en el mosto puede ralentizar o incluso detener la fermentación alcohólica puesto que un contenido más alto en azúcar actúa como inhibidor de las levaduras. Cuanto más alto es el contenido en azúcar del mosto, mayor es la presión osmótica para que crezcan las levaduras. Se producen condiciones de estrés a 300 gramos de azúcar por litro de mosto y la fermentación es imposible a un contenido en azúcar de 650 gramos por litro. El azúcar es una fuente de carbono (energía) para las levaduras, sin embargo, no se recomienda añadir azúcar al mosto en fermentación puesto que puede provocar un choque para las levaduras.

20 La demanda de los consumidores ha estado trayendo, de hecho, la situación opuesta en los últimos años, en la que se necesita inhibir las levaduras al final de la fermentación para detener la fermentación alcohólica. El problema de la terminación oportuna de la fermentación alcohólica para conservar azúcar residual en el vino es altamente complicado. Los métodos habituales aplicados en la práctica, como subenfriamiento o filtración conducen a costes excesivos e indudablemente requieren mucho trabajo y además son inasequibles para pequeños productores de vino. La propia aplicación de óxido de azufre no siempre es fiable al cien por cien y conduce a una calidad empeorada del producto futuro, vino.

25 **Ácidos grasos superiores (HFA)**, como ácido caprílico derivado de octano (C<sub>8</sub>), ácido caprínico derivado de decano (C<sub>10</sub>) y ácido láurico derivado de dodecano (C<sub>12</sub>), pertenecen al grupo de ácidos grasos superiores insaturados monocarboxílicos que se producen de manera natural, por ejemplo, en nueces o en leche materna, así que estas sustancias no son perjudiciales, sino que son incluso beneficiosas para la salud de seres humanos. La propiedad de estos ácidos es que ralentizan la fermentación. Estos ácidos se usan de manera industrial en perfumería y producción de pintura.

30 Algunos ácidos grasos superiores, como ácido palmítico derivado de hexadecano (C<sub>16</sub>) y ácido esteárico derivado de octadecano (C<sub>18</sub>), activan la fermentación. Por otro lado, otros ácidos grasos superiores como caprona derivada de hexano C<sub>6</sub>, ácido caprílico derivado de octano C<sub>8</sub> y ácido caprínico derivado de decano C<sub>10</sub>, tienen propiedades fungicidas (Lafon-Lafourcade *et al.* 1984). Hace muchos años, ya se realizaron estudios de laboratorio de enología para determinar su influencia de inhibición sobre la fermentación alcohólica y la fermentación maloláctica (De Felice *et al.* 1993, Ribereau-Gayon *et al.* 2006). Se forman de manera natural por las propias levaduras durante la fermentación alcohólica y en mayor concentración pueden contribuir a su difícil finalización o afectar a todo su transcurso. Los ácidos grasos superiores añadidos al medio de fin de la fermentación se asimilan por las levaduras y solo se esterifica gradualmente una pequeña parte (Viegas *et al.* 1989). La proporción de ácidos grasos se elimina en su mayor parte mediante fijación a las células de levaduras muertas, así que su adición no tiene ninguna influencia sobre el producto final.

35 El documento de patente CN 1129736 da a conocer una composición que inhibe las levaduras que comprende ácido caprílico, ácido cáprico y ácido láurico en la razón de 1:1:1. Sin embargo, esta composición muestra propiedades de inhibición de levaduras más bien bajas.

40 En la actualidad, no se usan ácidos grasos superiores con el fin de inhibir la actividad de levaduras durante la fermentación alcohólica o inhibir la actividad de bacterias lácticas durante la fermentación maloláctica. Los trabajos publicados demuestran propiedades de ácidos grasos superiores individuales. Sin embargo, no ofrecen una comparación de sus mezclas y desarrollo de vinos tratados de esta manera en relación con el contenido en dióxido

65

de azufre y la posibilidad de una fermentación secundaria.

### Sumario de la invención

5 La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

El objetivo de la invención presentada por el presente documento es proporcionar una mezcla de ácidos grasos superiores  $C_8$ ,  $C_{10}$  y  $C_{12}$  en la razón de 2:7:1 que permitirá una manera más fácil de terminación oportuna de la fermentación alcohólica o prevención de la fermentación maloláctica y reducción de la dosificación de dióxido de azufre como agente de conservación que impide la fermentación secundaria.

La invención también se refiere al uso de ácidos grasos superiores  $C_8$ ,  $C_{10}$  y  $C_{12}$  en la razón de 2:7:1 para la inhibición de la actividad de levaduras y bacterias lácticas en la fase de fin de la fermentación del mosto de uva y para la reducción de la dosificación de dióxido de azufre en la tecnología del vino.

15 La mezcla de ácidos grasos superiores  $C_8$ ,  $C_{10}$  a  $C_{12}$ , que contiene los ácidos en la razón de 2:7:1, ha demostrado ser ideal en la práctica.

Las mezclas de ácidos grasos superiores  $C_8$ ,  $C_{10}$  y  $C_{12}$  tienden a cristalizar si se disuelven en disolvente que tiene más del 50% en volumen de etanol. Por tanto, las mezclas que contienen estos ácidos se disuelven ventajosamente en al menos el 50% en volumen de etanol o preferiblemente en el 60% en volumen de etanol. Una mezcla de ácidos grasos superiores  $C_8$ ,  $C_{10}$  y  $C_{12}$ , disuelta en el 70% en volumen de etanol, mientras que 100 ml de etanol contienen 2 gramos de  $C_8$ , 7 gramos de  $C_{10}$  y 1 gramo de  $C_{12}$  ha demostrado ser muy ventajosa. Esta mezcla se usó en los ejemplos de realización.

25 Una ventaja de la mezcla propuesta es una alta capacidad fungicida de los ácidos  $C_8$  y  $C_{10}$  y la toxicidad máxima del ácido  $C_{12}$  para las bacterias lácticas. Un fin secundario del ácido  $C_8$  es aumentar la solubilidad del ácido  $C_{12}$  apenas soluble.

30 La dosificación de una mezcla de este tipo para el medio de fermentación es de 1:10 000 (1 ml en 10 litros del medio de fermentación). La dosificación de una mezcla de este tipo con respecto al vino es de 1:20 000.

35 Cuando se dosifican al mosto de fin de la fermentación, los ácidos grasos no disociados entran en células de levaduras, en las que se disocian y, por tanto, reducen el pH interno de las levaduras y la conformación de la membrana. Esto conduce a una rápida inhibición de la actividad metabólica de las levaduras, su secado y a la terminación completa de la fermentación alcohólica. Cuando se dosifican a vinos finales, la mezcla actúa como prevención frente a bacterias lácticas, fermentación maloláctica y fermentación secundaria.

40 La ventaja de la invención presentada en el presente documento es que la dosis de otros conservantes como dióxido de azufre o ácido ascórbico en las fases de almacenamiento y embotellado puede reducirse sustancialmente mediante adición de ácidos grasos. La reducción de la aplicación de dióxido de azufre es particularmente beneficiosa. A medida que se produce una mayor concentración de ácidos grasos superiores en el vino después de la primera extracción cuando se aplica este procedimiento, el riesgo de inestabilidad microbiana se reduce sustancialmente, lo que da como resultado una dosificación menor de dióxido de azufre u otros conservantes (ácido ascórbico, DMDC, etc.). Una influencia mínima sobre el aroma y sabor del vino, y además en el sentido positivo, es otra propiedad positiva. Los residuos de ácidos grasos no unidos evocan un mayor aroma y plenitud del sabor y determinada viscosidad sensual.

50 Una razón mayor de dióxido de azufre libre activo frente a  $SO_2$  unido es otra contribución de la invención. Este equilibrio depende de numerosos parámetros del vino. La mezcla de ácidos grasos superiores se añade aproximadamente 24 horas antes de la primera dosis de dióxido de azufre. La investigación ha mostrado una alta inhibición de levaduras dentro de este intervalo.

55 Puesto que el dióxido de azufre está fuertemente unido al último producto intermedio de la fermentación alcohólica = acetaldehído, la primera dosis de  $SO_2$  se proporciona en gran medida por este acetaldehído acompañada por el desarrollo de una proporción mayoritaria de  $SO_2$  unido. Según todas las suposiciones, este procedimiento debe reducir la cantidad de acetaldehído en el plazo de las 24 horas anteriormente mencionadas bajo la influencia de la forma protonada de  $NADH + H +$  lavada del citosol, y por tanto, reducir la futura capacidad de unión de  $SO_2$ . El vino tratado de esta manera muestra entonces una mayor concentración de  $SO_2$  libre y, por tanto, también mayor estabilidad con la misma dosificación de  $SO_2$  total (establecida por límites legales).

Un pH bajo, un mayor contenido en etanol, una temperatura menor y una mayor concentración de dióxido de azufre libre son factores de apoyo de la adición de ácidos grasos superiores, que tienen influencia sinérgica.

65 Este método puede producir una reducción eficaz del coste de las tecnologías que tratan con vinos con azúcar residual. La adición de ácidos grasos superiores en combinación con una dosis menor de dióxido de azufre es

particularmente eficaz para condiciones de bodegas pequeñas, en las que la aplicación de las operaciones costosas habituales en operaciones de bodegas grandes (enfriamiento, esterilización por filtración) es imposible.

5 El procedimiento que usa la mezcla de ácidos grasos superiores reduce la dificultad de vinos con azúcar residual, y la mezcla puede aplicarse particularmente a vinos orgánicos con respecto a peticiones de la reducción de la concentración de azufre.

10 En una dosificación correcta, el uso de ácidos grasos superiores no muestra ningún impacto sobre las calidades organolépticas del vino (véanse las tablas 2 y 3).

**Breve descripción de las figuras**

15 El gráfico 1 representa la influencia de la adición de ácidos grasos superiores sobre el retraso de la fermentación secundaria (ejemplo 2).

**Ejemplos de las realizaciones de la invención**

20 En los siguientes ejemplos, se usó una mezcla de ácidos grasos superiores C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub> y C<sub>12</sub>, disuelta en el 70% en volumen de etanol, mientras que 100 ml de etanol contenían 2 gramos de C<sub>8</sub>, 7 gramos de C<sub>10</sub> y 1 gramo de C<sub>12</sub>.

Ejemplo 1

25 Se eligieron diez mostos de uva en fermentación de volúmenes de desde 50 hasta 5000 litros para comparación de la eficacia de mezclas de ácidos grasos superiores. Se realizó la aplicación de ácidos grasos superiores en la fase de 10 - 15 g/l de azúcar residual. Se añadió dióxido de azufre a todas las variantes 24 horas más tarde. Se realizó muestreo para agar después de 7 días. En la tabla 1 están disponibles los resultados de las mediciones y confirman una reducción más eficaz de la población de levaduras viables en las variantes de uso combinado de ácidos grasos superiores y dióxido de azufre.

30 Tabla 1: levaduras viables en 1 ml de vino con y sin adición de mezcla de ácidos grasos superiores junto con SO<sub>2</sub> para finalizar la fermentación en la etapa de azúcar residual 10 - 15 g/l

Muestra de vino	Aplicación de HFA	Volumen [l]	Todo el SO <sub>2</sub> [mg/l]	SO <sub>2</sub> libre [mg/l]	Población de levaduras [1/ml]
1	SÍ	350	107,6	60,7	10 <sup>2</sup>
2	SÍ	350	113,9	45,6	10 <sup>2</sup>
3	SÍ	350	91,1	51,9	10 <sup>0</sup>
4	SÍ	5000	184,7	65,8	10 <sup>1</sup>
5	SÍ	5000	165,8	32,9	10 <sup>2</sup>
6	NO	50	170,8	84,8	> 10 <sup>4</sup>
7	NO	50	130,3	45,6	> 10 <sup>4</sup>
8	NO	150	120,2	50,6	10 <sup>3</sup>
9	NO	100	79,7	17,7	> 10 <sup>4</sup>
10	NO	100	73,4	24,0	10 <sup>1</sup>

Nota: se miden los valores de SO<sub>2</sub> por medio de yodometría sin deducción de ácido ascórbico y reductores, se contaron las poblaciones después de la propagación en agar.

Ejemplo 2

35 Para la determinación del efecto de ácidos grasos superiores sobre la fermentación secundaria, se dividió el vino usado ("Malverina", pH = 3,22, 18 g/l de azúcar residual, 28,4 de SO<sub>2</sub> libre, 162,8 de todo el SO<sub>2</sub>, sin esterilizar) en diez variantes, dos botellas de cada una. Se añadió la mezcla de ácidos grasos superiores a nueve botellas en concentraciones de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 16, 30 y 80 mg/l, una variante sirvió como control. Solamente se cubrieron las  
40 botellas con tapones de plástico provisionales y se almacenaron a temperatura ambiente con el fin de apoyar las levaduras que inician la fermentación secundaria. Una prueba sensorial y la producción de dióxido de carbono sirvieron para detectar el comienzo de la fermentación secundaria en una botella. La fecha de comienzo de la fermentación secundaria es un promedio de las dos botellas redondeado a días completos. Los resultados obtenidos  
45 (véase el gráfico 1) demuestran el efecto inhibitorio de la mezcla de ácidos grasos superiores sobre las levaduras que inician la fermentación secundaria. Aunque en la muestra de prueba la fermentación secundaria se inició en diez días, la muestra con adición real de ácidos grasos superiores de 6 mg/l resistió varias veces más. La adición de ácidos grasos superiores reduce rápidamente la necesidad de dióxido de azufre en vinos almacenados o embotellados con azúcar residual.

50 Ejemplo 3

5 Puesto que se produce la eliminación de ácidos grasos superiores en células de levaduras después de la aplicación en la fase de fin de la fermentación, no hay ninguna influencia negativa sobre las propiedades del futuro vino. Se realizó una prueba sensorial con adición creciente de la mezcla de ácidos grasos superiores para determinar la influencia en las propiedades organolépticas de vinos finales. Se usó el mismo vino ("Malverina", pH = 3,22, 18 g/l de azúcar residual, 28,4 de SO<sub>2</sub> libre, 162,8 de todo el SO<sub>2</sub>, sin esterilizar) como matriz para todas las variantes. El panel de cata consistió en siete miembros con exámenes internacionales según las normas SZPI, ISO, DIN, ÖNORM. En primer lugar, se familiarizó de manera explícita a los catadores con el sabor y olor extraños de la mezcla de ácidos grasos superiores (habitualmente descrito como jabón, parafina, grasa rancia, cuero mojado o celulosa), luego se sometieron a prueba en concentraciones proporcionalmente crecientes de la mezcla en el vino. La tabla 2 muestra los resultados.

Tabla 2: sensibilidad de los catadores a la adición creciente de la mezcla de ácidos grasos superiores en el vino.

Dosis [mg/l]	Sensibilidad de los catadores							Respuesta [%]
1	No	No	No	No	No	No	No	0
2	No	No	No	No	No	No	No	0
3	No	No	No	No	No	No	No	0
4	No	No	No	No	No	No	No	0
5	No	No	No	No	No	No	No	0
6	No	No	No	No	No	Sí	Sí	29
16	No	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	71
30	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	100
80	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	100

15 Entonces se mezclaron las mismas muestras y se evaluaron en orden aleatorio. La tabla 3 muestra los resultados.

Tabla 3: sensibilidad de los catadores a la adición aleatoria de la mezcla de ácidos grasos superiores en el vino

Dosis [mg/l]	Responsabilidad del catador							Respuesta [%]
1	No	No	No	No	No	No	No	0
2	No	No	No	No	No	No	No	0
3	No	No	No	No	No	No	No	0
4	No	No	No	No	No	No	No	0
5	No	No	No	No	No	No	No	0
6	No	No	No	No	No	Sí	Sí	0
16	No	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	43
30	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	100
80	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	100

20 Los resultados muestran que la adición de mezcla de ácidos grasos superiores puede reconocerse de manera fiable en las muestras evaluadas a partir de la concentración de 30 mg/l. Es decir, una concentración menor de 6 mg/l está por debajo del umbral de percepción de individuos formados y una concentración menor de 16 mg/l es apreciable por debajo de la probabilidad de oportunidad de acierto (75%).

25 Ejemplo 4:

30 Se realizó un experimento centrado en la determinación del desarrollo de vinos tratados y sin tratar mediante ácidos grasos superiores en el mismo vino ("Malverina", pH = 3,22, 18 g/l de azúcar residual, sin esterilizar) con dosis de 100 y 150 mg/l de SO<sub>2</sub> y una combinación de los ácidos grasos superiores (10 mg/l cada uno) con 100 mg/l de SO<sub>2</sub> (véase la 4). Condiciones del experimento: 10 litros de vino por variante, promedios de dos mediciones, sin protección frente a la oxidación, temperatura de almacenamiento de 25°C.

Tabla 4: desarrollo de SO<sub>2</sub> libre en el vino con y sin adición de ácidos grasos superiores C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub> y C<sub>12</sub>.

Dosis de SO <sub>2</sub>	100 de SO <sub>2</sub>	C <sub>8</sub> + 100 de SO <sub>2</sub>	C <sub>10</sub> + 100 de SO <sub>2</sub>	C <sub>12</sub> + 100 de SO <sub>2</sub>	150 de SO <sub>2</sub>
4/8	54,2	50,6	50,6	60,2	91,5
6/8	49,4	48,2	48,2	55,4	85,5
9/8			43,4	53,0	80,7
15/8	33,7	30,1	31,3	37,3	67,5
17/8	32,5	32,5	33,7	39,7	63,8
23/8	22,9	25,3	26,5	31,3	55,4
30/8	10,8	18,1	19,3	21,7	43,4

4/9	3,2	10,8	10,8	13,2	22,3
9/9		6,0	6,0	10,8	12,0
15/9		1,7	1,8	2,5	
Nota: una celda cruzada significa fermentación secundaria					

Los resultados mostraron prácticamente el mismo desarrollo de SO<sub>2</sub> libre hasta el nivel de aproximadamente 30 mg/l. Después de eso, los vinos demostraron ser más resistentes frente a una disminución de SO<sub>2</sub> libre en las condiciones oxidantes del experimento y la fermentación secundaria incluso se inició más tarde que en el vino tratado con 150 mg/l de SO<sub>2</sub>, que era el 150% de la dosis inicial en comparación con las variantes con ácidos grasos.

5

Ejemplo 5:

10 Con el fin de residuos de ácidos grasos superiores, se realizó un experimento con el mismo vino (Chardonnay, pH = 3,18, 10 g/l de azúcar residual), en el que se añadieron ácidos grasos superiores en la fase de fin de la fermentación. Una variante sirvió como control (solamente 100 mg/l de SO<sub>2</sub>), una variante con ácidos grasos superiores 10 mg/l, mezcla de C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub> y C<sub>12</sub> (2:7:1) y una variante con aplicación de ácido graso C<sub>9</sub> 10 mg/l impar. El volumen de cada variante fue de 350 litros. Entonces, después de la primera extracción de la suspensión de levaduras, se midieron los vinos finales en CG-EM (cromatografía de gases/espectrometría de masas). La aplicación de la mezcla de C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub> y C<sub>12</sub> (2:7:1) no provoca ninguna influencia cualitativa.

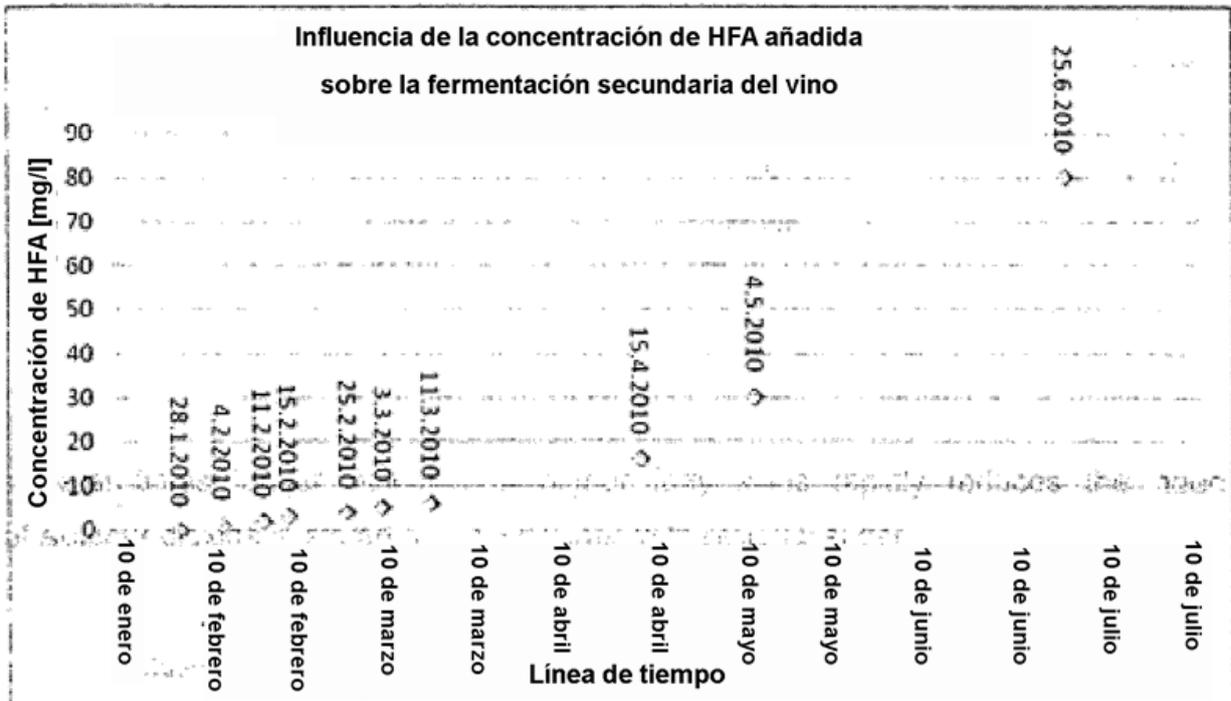
15

**Aplicabilidad industrial**

20 Puede usarse una mezcla de ácidos grasos superiores mediante aplicación directa con el fin de inhibir la actividad de levaduras y bacterias lácticas en la fase de fin de la fermentación de mostos de uva, o mediante aplicación al vino para la protección frente a la fermentación secundaria y para la reducción de la dosificación de dióxido de azufre durante toda la tecnología de elaboración de vino.

**REIVINDICACIONES**

1. Mezcla de ácidos grasos superiores caracterizada porque consiste en los ácidos C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub> y C<sub>12</sub> en la razón de 2:7:1.  
5
2. Mezcla de ácidos grasos superiores según la reivindicación 1, que contiene además el 70% en volumen de etanol en el que se disuelven los ácidos, mientras que 100 ml de disolución en etanol contiene 2 gramos de C<sub>8</sub>, 7 gramos de C<sub>10</sub> y 1 gramo de C<sub>12</sub>.
- 10 3. Uso de una mezcla de ácidos grasos superiores según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la tecnología de elaboración de vino.
4. Uso de una mezcla de ácidos grasos superiores según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 para la inhibición de la actividad de levaduras y bacterias lácticas durante la fermentación alcohólica y maloláctica y para la reducción de la dosis de dióxido de azufre en la tecnología de elaboración de vino.  
15
5. Uso de una mezcla de ácidos grasos superiores según la reivindicación 3 ó 4, en el que la dosificación de la mezcla preparada de esta manera en medio de fermentación es de 1:10 000 (1 ml por 10 litros de los medios).  
20
6. Uso de una mezcla de ácidos grasos superiores según la reivindicación 3 ó 4, en el que la dosificación de la mezcla preparada de esta manera en el medio de fermentación es de 1:20 000 (1 ml por 20 litros de los medios).



**Gráfico 1:** influencia de la adición de ácidos grasos superiores sobre el retraso de la fermentación secundaria