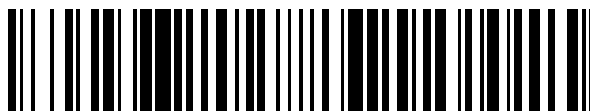


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 611 036**

51 Int. Cl.:

C11B 7/00 (2006.01)

A23D 9/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.07.2007 PCT/EP2007/006221**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.01.2008 WO08006597**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.07.2007 E 07786049 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2016 EP 2054493**

54 Título: **Fracciones de oleína líquidas y estables**

30 Prioridad:

14.07.2006 EP 06380201
16.10.2006 ES 200602620

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.05.2017

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (100.0%)
CALLE SERRANO, 117
28006 MADRID, ES**

72 Inventor/es:

**SALAS LIÑAN, JOAQUIN JESUS;
MARTINEZ-FORCE, ENRIQUE y
GARCÉS MANCHEÑO, RAFAEL**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 611 036 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).

DESCRIPCIÓN

Fracciones de oleína líquidas y estables

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a las fracciones de oleína, que son particularmente adecuadas para aplicaciones en las que el aceite tiene que ser líquido y resistente a la oxidación. La invención se refiere además a la utilización de la fracción de oleína y a las mezclas de aceite que comprenden estas fracciones.

Antecedentes de la invención

- 10 Los aceites naturales están compuestos de triacilglicerolos (TAG) que representan más del 98% del aceite total. Por lo tanto, las propiedades químicas y físicas de los aceites están determinadas por su composición de triacilglicéridos y la distribución de ácidos grasos en estas moléculas.

Las grasas y aceites vegetales utilizados en alimentos y otras aplicaciones no alimentarias, donde se necesita una alta estabilidad de oxidación, requieren una composición de triacilglicerolos especial, principalmente si se deben evitar tratamientos químicos como la hidrogenación. Los aceites parcialmente hidrogenados contienen isómeros trans de ácidos grasos que se consideran indeseables desde un punto de vista nutricional.

- 15 Algunos aceites de consumo cumplen parte de estos requisitos pero tienen desventajas tecnológicas o nutricionales. Por ejemplo, el aceite de palma y la oleína de palma tienen una alta estabilidad pero son sólidos o semi-sólidos a temperatura ambiente debido al contenido de TAG disaturados y trisaturados, y nutricionalmente poco saludables principalmente debido al contenido de ácido palmítico en la posición del TAG *sn*-2 (Renaud et al., J. Nutr. 125:229-237 (1995)). Los aceites vegetales altos en oleico son líquidos a temperaturas inferiores a 0°C pero no son suficientemente estables. Por lo tanto, los usos donde se requiere aceite estable y líquido no se pueden realizar con estos aceites.

- 20 Los aceites saludables con buena estabilidad de oxidación deben tener un bajo contenido de ácidos grasos saturados, que comprenden preferiblemente el estearato porque es neutral con respecto a los niveles de colesterol en suero (Pearson, Am. J. Clin. Nutr., 60 (S):1071S-1072S, (1994); Kelly et al., Eur. J. of Clinical Nutr., 55:88-96, (2001)), y no deben tener ácidos grasos saturados en la posición intermedia (*sn*-2) del triacilglicérido. Se ha sugerido que los aceites con ácidos grasos en la posición intermedia del triacilglicérido son responsables de los efectos aterogénicos de estos aceites (Renaud et al., J. Nutr. 125:229-237 (1995)).

El documento WO0019832 muestra cómo se podría obtener un aceite alto en estearato y alto en oleato de *Brassica*. Además, se obtuvieron algunas fracciones de estearina y oleína.

- 30 El documento WO99057990 muestra además cómo se podría obtener un aceite alto en estearato y alto en oleato a partir de la soja y como, además, se obtuvieron algunas fracciones de estearina y oleína. Todos los aceites y las fracciones que se muestran en estas publicaciones de patente tienen más que 0,5% de linolenato. Por lo tanto, ninguno de los aceites anteriores o sus fracciones son un buen material para obtener la fracción de oleína de la presente invención.

- 35 Se ha propuesto que se utilicen algunas fracciones de oleína tropicales mezcladas con aceites de consumo estándar como grasas para freír. Como se muestra en el documento WO2006/061100, se podría mezclar una fracción de oleína de manteca de karité tropical con aceites de consumo dando como resultado una grasa para freír. Sin embargo, la manteca de karité tiene la desventaja de que es bastante rara, obtenida a partir de árboles tropicales. Para la fabricación de aceite a escala industrial el abastecimiento puede llegar a convertirse en un problema.

- 40 El documento EP-1290119 describe el uso de un aceite de girasol alto en esteárico alto en oleico (HSHOSF) para la producción de estearina, que se mezcla con un aceite vegetal líquido para preparar una fase grasa. El contenido de sólidos de la fracción de estearina es mayor que 50% en peso y contiene al menos 30% en peso de ácidos grasos SUS. La fracción de estearina está destinada a estructurar el aceite vegetal para obtener una margarina o untable. La fracción de estearina por tanto proporciona los sólidos en estos productos y no es en sí un líquido.

- 45 Fernández et al. (Journal of Agricultural and food chemistry, vol.53, 2005, pages 5326-5330) describe la caracterización de aceites obtenidos directamente de nuevas líneas de girasol que tienen contenidos medios y muy altos de ácido esteárico. Estas nuevas líneas se generan cruzando líneas altas en esteárico en ellas mismas o con líneas de girasol estándar y altas en oleico. CAS-33 es una línea con un origen alto en oleico y tiene un contenido de SMS de 8,9% y un contenido de SMM de 42,5%.

- 50 El documento WO01/96507 describe un método para obtener una fracción de estearina fraccionando aceite de girasol alto en oleico, altamente saturado.

Los aceites hechos principalmente de ácidos grasos saturados y monoinsaturados tienen muy buena estabilidad, pero, teniendo en cuenta la biosíntesis de TAG en las plantas, los aceites con un contenido incrementado de ácidos grasos saturados tendrán cantidades notables de TAG con dos o tres ácidos grasos saturados. Estos TAG

precipitarán, incluso a temperatura ambiente, haciendo que estos aceites solidifiquen muy fácilmente. Los aceites líquidos a temperaturas tan bajas como 0°C y estables son de interés industrial. Los aceites de girasol altos en estearato con un origen alto en oleato tienen muy buena estabilidad de oxidación, pero son fácilmente sólidos. Las fracciones de este aceite sin la mayor parte de los TAG disaturados deberían tener una buena estabilidad y serán líquidos a una temperatura de en torno a 0°C.

Es por tanto el objeto de la presente invención proporcionar un nuevo aceite que es a la vez líquido a bajas temperaturas y resistente a la oxidación.

Compendio de la invención

La invención se refiere de este modo a una fracción de oleína, donde:

- a. menos que 8,6% de las especies de TAG de dicha fracción de oleína tienen la fórmula general SMS y
- b. al menos 26% de las especies de TAG de dicha fracción de oleína tienen la fórmula general SMM

donde S representa un ácido graso saturado y M representa un ácido graso monoenoico, cuya fracción es obtenible fraccionando aceite de girasol alto en oleato y altamente saturado (HOHS) y recolectando la fracción líquida, llamada oleína. La fracción líquida es el sobrenadante del fraccionamiento. El aceite HOHS es preferiblemente un aceite de girasol alto en oleico alto en esteárico (HOHE).

La fracción de oleína de la presente invención tiene una estabilidad de oxidación superior, es líquida a una temperatura próxima a o por debajo de 0°C y tiene una composición de triacilglicéridos que hace que sea saludable en comparación con otros aceites estables altamente saturados como el aceite de palma o la oleína de palma.

Los métodos de fraccionamiento adecuados que se utilizan son fraccionamiento en seco o con disolventes.

La invención también proporciona los distintos usos del aceite. Las características mejoradas de la fracción de oleína permiten que se utilice en varios productos alimentarios y no alimentarios en situaciones en las que son deseables aceites líquidos con una estabilidad de oxidación incrementada, estabilidad a la fritura y estabilidad de almacenamiento, siendo al mismo tiempo un producto saludable.

La estabilidad de oxidación de los aceites se define por la composición de ácidos grasos de los TAG. Los TAG ricos en ácidos grasos poliinsaturados son más inestables que los TAG ricos en ácidos grasos saturados y monoinsaturados. Los ácidos grasos insaturados que se encuentran en los aceites de consumo son oleato, linoleato y linolenato que tiene uno, dos y tres dobles enlaces, respectivamente. El linolenato es el ácido graso más inestable y responsable de los sabores a pescado y por lo tanto debe ser tan bajo como sea posible en los aceites estables, preferiblemente en forma de trazas (menor que 0,5%). Los aceites con linolenato por encima de este valor no son un buen material de partida para fraccionar la oleína de esta invención.

La fracción de oleína de la invención tiene menos que 0,5% en peso de linoleato.

La fracción de oleína es líquida a temperatura ambiente y más estable que otros aceites que son líquidos a temperatura ambiente, tales como el aceite estándar CAS-6 (Salas et al JAOCS, 83:539-545 (2006)) y el aceite alto en oleico CAS-9 (Fernández-Moya et al. J. Agric. Food Chem. 53:5326-5330 (2005)). El aceite alto en oleico y alto en esteárico HOHS (WO0074470) es muy estable pero no es líquido a temperatura ambiente. El aceite alto en oleico alto en palmítico IG-1297M (WO9964546) es igualmente estable pero no es líquido a temperatura ambiente y comprende contenidos mayores de palmítico que es menos deseable desde un punto de vista nutricional.

Descripción detallada de la invención

La fracción de aceite de la invención tiene un punto de turbidez menor que 5°C, preferiblemente menor que 0°C, más preferiblemente menor que -6° C.

La fracción de aceite estable y líquida de la invención es obtenible por fraccionamiento a baja temperatura de un aceite de girasol alto en oleico altamente saturado.

En una primera realización, el fraccionamiento a baja temperatura es un fraccionamiento en seco, que incluye las siguientes etapas:

- disminuir la temperatura del aceite a 12°C, más preferiblemente 9,5° C, incluso más preferiblemente 5°C, opcionalmente con agitación;
- separar la oleína de la fracción sólida; y
- opcionalmente fraccionar la oleína resultante de nuevo a 2,5°C, más preferiblemente 0°C para obtener una fracción de oleína menos saturada.

En otra realización el fraccionamiento a baja temperatura es un fraccionamiento con disolventes, que incluye las siguientes etapas:

- mezclar el aceite con un disolvente orgánico como acetona, hexano o éter etílico;

- disminuir la temperatura de la disolución de aceite a 0°C, preferiblemente -5°C;

5 - separar la oleína de la fracción sólida; y

- opcionalmente recuperar la oleína eliminando el disolvente del sobrenadante. En una realización específica, el disolvente se elimina del sobrenadante por destilación al vacío.

10 La invención se basa en el uso de un aceite en particular como el aceite de origen para el fraccionamiento. El aceite de origen debe tener una composición determinada de TAG. La fracción de oleína de la invención comprende entre 1,8 y 9,8% de SUS, preferiblemente entre 2,4 y 8,8%, más preferiblemente entre 3,8 y 7,9%, aun más preferiblemente entre 4,2 y 7,6% y entre 54 y 64% de SUU, preferiblemente entre 56 y 62%, más preferiblemente entre 58 y 60%.

15 Los aceites de girasol altamente saturados y altos en oleato para usar como material de partida para la preparación de la fracción de aceite de la invención se pueden extraer de semillas HOHS descritas en el documento WO0074470 (los progenitores de las cuales son CAS-3 (ATCC75968) y un mutante alto en tioesterasa (ATCC PTA-628)). Estas semillas se describen también en Fernández-Moya et al. (J. Agric. Food Chem. 53: 5326-5330 (2005)) como CAS-15. Otros aceites son los HOHP descritos en el documento WO9964546. Las semillas IG-1297M depositadas como ATCC n° 209591, que tienen la misma composición de TAG que CAS-12 de Álvarez-Ortega et al. (Lipids 32: 833-837 (1997)) o los aceites y semillas descritos en documento WO0074469, estos últimos también se describen en Serrano-Vega et al. (Lipids 40: 369-374 (2005)) como CAS-25.

20 Las tablas 1 y 2 muestran las especies moleculares de triacilglicéridos y la composición de la clase de triacilglicérido del aceite alto en oleato y alto en estearato de CAS-15 en comparación con un aceite alto en oleato (CAS-9).

Tabla 1.- Composición de triacilglicéridos del aceite de girasol alto en oleato alto en estearato (CAS-15) comparado con un aceite de girasol alto en oleato de control (CAS-9).

Triacilglicérido	Contenido de triacilglicéridos (mol %)	
	CAS-9	CAS-15
POP	-	0.5
POE	0.4	4.5
POO	6.4	6.2
PLE	-	0.6
POL	-	1.4
PLL	-	-
EOE	0.5	10.4
EOO	11.7	37.7
ELE	-	-
OOO	70.9	14.3
EOL	-	7.7
OOL	6.6	4.0
ELL	-	1.2
OLL	-	0.8
EOA	-	1.5
OOA	0.9	2.8
OLA	-	0.5
EOB	-	1.4
OOB	2.5	3.7
OLB	-	0.7

P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oleico = 18:1; L = ácido linoleico = 18:2; A = ácido araquídico = 20:0; B = ácido behénico = 22:0

Tabla 2.- Composición de clase de triacilglicéridos del aceite de girasol alto en oleato alto en estearato (CAS-15) comparado con un aceite de girasol alto en oleato de control (CAS-9). S = ácido graso saturado, M = ácido graso monoenoico y D = ácido graso dienoico, U = ácido graso insaturado

	CAS-9	CAS-15
SMS	0.9	18.3
SDS	-	0.6
SMM	21.5	50.4
SDM	-	10.3
SDD	-	1.2
MMM	70.9	14.3
MDM	6.6	4.0
MDD	-	0.8
SUS	0.9	18.9
SUU	21.5	61.9
UUU	77.5	19.1

En una primera realización, el aceite es un aceite de girasol alto en oleico alto en esteárico (HOHE) obtenible extrayendo semillas de la cepa de girasol CAS-15 (Fernández-Moya et al. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 5326-5330), que es una línea de tipo HOHS como se describe en el documento WO0074470, o de otra cepa HOHE obtenible cruzando CAS-3 (ATCC- 75968) con un mutante alto en oleico alto en tioesterasa (ATCC PTA-628).

En una segunda realización específica, el aceite de girasol alto en oleico altamente saturado es un aceite de girasol alto en oleico alto en palmítico (HOHP) obtenible extrayendo semillas de la cepa de girasol IG-1297M (correspondiente con CAS-12), cuyas semillas se depositaron el 20 de enero 1998 bajo el número de acceso ATCC, ATCC-209591.

En una realización adicional, el aceite de girasol alto en oleico alto en esteárico es obtenible extrayendo semillas de CAS-25, produciendo un aceite alto en oleico alto en palmítico bajo en palmitoleico y bajo en asclépico y obtenible cruzando IG-1297M (ATCC-209591) con CAS-3 (ATCC- 75968).

La fracción de oleína de la invención se puede obtener a partir del aceite extraído de estas semillas. La invención sin embargo no se limita a la oleína fraccionada del aceite extraído de estas semillas. Cualquier aceite HOHS es un aceite de partida adecuado para producir el aceite de la invención. Dicho aceite HOHS se puede utilizar puro, es decir, extraído directamente de las semillas, o mezclado para tener un alto contenido de ácido oleico y ácidos grasos saturados. Dichos aceites se denominan en este documento "HOHS". CAS-15, CAS-33 y otros aceites HOHS tienen todos contenidos oleicos y saturados similares pero pueden diferir en otras características.

El fraccionamiento con disolventes o en seco de cualquier aceite alto en oleico altamente saturado, en particular alto en esteárico, puede proporcionar una fracción de oleína de acuerdo con la invención.

El fraccionamiento con disolventes se hace con cantidades iguales de acetona, hexano o éter etílico y enfriando la mezcla a 0°C. Después de la centrifugación a 10000x g en una centrífuga preparativa Sorvall a 0°C se pudieron separar un precipitado, la fracción de estearina, y un sobrenadante, la fracción de oleína. La fracción de oleína líquida tiene un contenido muy bajo de TAG disaturados y un contenido incrementado de TAG insaturados, las Tabla 3 y 4 muestran la composición de un ejemplo del aceite original de una línea de semillas HOHS y la fracción de oleína. La fracción de oleína tiene una cantidad reducida de TAG disaturados POP, POS, SOS, SOA y SOB.

Tabla 3.- Composición de triacilglicéricos de una fracción de oleína de un aceite de girasol alto en oleato altamente saturado comparado con el aceite original (HOHS)

Triacilglicérico	Contenido de triacilglicéridos (%)	
	HOHS	Oleína
POP	0.3	0.2
POE	2.3	1.1
POO	6.7	7.3
POL	0.7	0.7
EOE	4.2	0.9
EOO	34.4	36.7
OOO	31.7	35.0
EOL	2.7	2.7
OOL	4.2	4.7
OLL	0.4	0.4
EOA	0.9	0.4
OOA	3.4	3.6
OLA	0.3	0.0
EOB	1.1	0.0
OOB	6.6	6.2

P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0;
 O = ácido oleico = 18:1; L = ácido linoleico = 18:2; A
 = ácido araquídico = 20:0; B = ácido behénico = 22:0

Tabla 4.- Composición de clase de triacilglicéridos de una fracción de oleína de un aceite de girasol alto en oleato alto en estearato comparado con el aceite original (HOHS de). S = ácido graso saturado, M = ácido graso monoenoico y D = ácido graso dienoico.

Clase de Triacilglicéridos	Contenido de triacilglicéridos (%)	
	HOHS	Oleína
SMS	8.9	2.7
SDS	-	-
SMM	51.1	53.8
SDM	3.7	3.4
SDD	-	-
MMM	31.7	35.0
MDM	4.2	4.7
MDD	0.4	0.4
DDD	-	-

5 Se encontró sorprendentemente que los aceites de este tipo tienen excelentes propiedades de estabilidad, en experimentos de estabilidad de oxidación acelerada, y son líquidos a temperaturas cercanas a 0°C y menores.

10 La estabilidad del aceite de la invención se puede expresar como la cantidad de TAG alterados (monómeros de triacilglicéridos oxidados y triacilglicéridos polimerizados) después de un ensayo de oxidación acelerada. Para la presente invención, el ensayo se ha llevado a cabo introduciendo 2 g de los aceites en un horno a 180°C y muestreando 50 mg a intervalos de 2 h para determinar los TAG alterados. Los aceites restantes después de 10 h de tratamiento se recogieron y además se analizaron para compuestos polares y distribución en monómeros de TAG oxidados y TAG polimerizados.

De esto se deduce que el aceite de la invención es líquido a bajas temperaturas de alrededor de 0° C y significativamente estable. La composición de triacilglicéridos de los aceites de la invención es significativamente diferente de los aceites de la técnica anterior como se demostrará en los Ejemplos.

15 El aceite de la invención es un aceite natural que se puede extraer de semillas de girasol y se obtiene mediante fraccionamiento en seco o con disolventes a baja temperatura. Esta fracción de oleína es termoestable sin métodos

de modificación como la hidrogenación de los dobles enlaces de los ácidos grasos, la transesterificación o cualquier otra modificación química. El aceite de la invención se obtiene sin realizar dichos procesos de modificación artificial.

Una fracción de oleína de aceite de girasol preferida de la invención comprende entre 1,6% y 8,6% de SMS, más preferiblemente entre 2,1% y 8,4% y más preferiblemente entre 3,4% y 8% y entre 26% y 62% de SMM, preferiblemente 38% y 60% , más preferiblemente 40% y 58%, aun más preferiblemente 42% y 56%. Además, se prefiere que las fracciones de aceite de la invención tengan menos que 8% de ácidos grasos saturados en la posición sn-2 de los TAG que constituyen el aceite, preferiblemente menos que 5%, más preferiblemente menos que 3%.

Los ácidos grasos saturados son generalmente ácido esteárico y ácido palmítico. Se prefiere que la fracción de aceite de la invención tenga un contenido relativamente alto de estearato, debido a que el aceite será entonces más saludable. Para asegurar la máxima termoestabilidad se prefiere que el SMM total de la fracción de oleína debe ser al menos 30%, más preferiblemente al menos 35%, aun más preferiblemente 45% o más.

Se prefiere que el aceite además tenga un alto contenido de ácido oleico y un contenido de ácido linoleico correspondientemente bajo, ya que el ácido oleico es más estable que el ácido linoleico y tiene muy buenas propiedades nutricionales. Se prefiere que el aceite tenga además menos que 15% de ácido linoleico, más preferiblemente menos que 10%, aun más preferiblemente 5% o menos en base al peso total de los ácidos grasos.

También es preferible que el contenido de linolenato sea menor que 0,5%, porque el linolenato es el ácido graso más inestable de los aceites de consumo y es responsable de los sabores a pescado.

En una primera realización preferida, la invención describe una fracción de oleína en la cual 1,6% a 8,6%, en particular 3,4% de las especies de TAG tienen la fórmula general SMS, 26% a 62%, en particular 48% de las especies de TAG tienen la fórmula general SMM, la fracción de oleína tiene

- un punto de turbidez de 4°C a -6°C, en particular -1,2°C y

- una estabilidad térmica tal que después de calentar a 180°C durante 10 horas un máximo de 20,1% a 26,5%, en particular 22,3% de los TAG están alterados.

Dicho aceite se obtiene por fraccionamiento húmedo de aceite de semillas de CAS-15.

En una segunda realización preferida, la invención describe a una fracción de oleína en la cual 2,6% a 7,4%, en particular 4,2% de las especies de TAG tienen la fórmula general SMS, 39% a 59%, en particular 49% de las especies de TAG tienen la fórmula general SMM, y la fracción de oleína tiene

- un punto de turbidez de 3°C a -4°C, en particular -0,2°C y

- una estabilidad térmica tal que después de calentar a 180°C durante 10 horas un máximo de 19,8% a 24,2%, en particular 20,2% de los TAG están alterados.

Dicho aceite se obtiene por fraccionamiento húmedo de aceite de semillas de CAS-15.

La fracción de oleína de la invención es termoestable en el sentido de que resiste la oxidación y polimerización de los TAG que constituyen el aceite mejor que lo hacen los aceites altos en oleato. Como consecuencia de ello, la fracción de oleína de la invención es particularmente adecuada para el almacenamiento de larga duración y para freír y cocinar a temperaturas de al menos 100° C, preferiblemente 160°C o 180° C. Freír comprende freír y saltear productos alimentarios, tales como carne, aves de corral, pescado, frutas, verduras, etc. así como freír en aceite abundante masa, patatas fritas, aperitivos. Además, el aceite de la invención es también adecuado para hornear, asar y cocinar y la producción de mayonesa, mayonesa ligera, mayonesa baja en grasa, mostaza, ketchup, salsa tártara, untables para sándwiches, botella para bufé de ensaladas, aliños de ensalada, comida precocinada, sopa preparada, salsas, crema, etc.

En un sentido más general la invención se refiere al uso de una fracción de oleína, que tiene menos que 15% de ácidos grasos saturados y menos que 10%, preferiblemente menos que 5% de ácido linoleico después de haber sometido el aceite a condiciones de alta temperatura, que consisten en mantener el aceite en un horno a 180°C durante 10h. En la práctica, tales condiciones de alta temperatura se encuentran por ejemplo al freír y hornear.

La invención no se limita al aceite como tal. La invención se refiere al uso del aceite en mezclas con otros aceites, en estas mezclas las propiedades totales pueden diferir del aceite de la invención y también para ser utilizado en procesos industriales como la interesterificación enzimática o química para un posterior fraccionamiento del aceite.

La fracción de oleína de la invención se puede utilizar con algunos antioxidantes u otros aditivos para mejorar sus propiedades, principalmente en operaciones de fritura discontinua, como se muestra en Márquez-Ruiz et al. (EUR. J. Lipid Sci. Technol. 106:752-758 (2004)). En este trabajo se muestra que algunas siliconas y particularmente el dimetilpolisiloxano (DMPS) añadidas a los aceites y grasas en concentraciones muy bajas mejoran sus propiedades principalmente en las operaciones de fritura discontinua. Este aditivo se ha utilizado ampliamente en los aceites para

freír de consumo como inhibidor de las reacciones termo-oxidativas al freír en aceite abundante. La invención además se refiere a un método para la preparación de una fracción de aceite estable y líquida mediante fraccionamiento a baja temperatura de un aceite de girasol alto en oleico, altamente saturado. El método es un fraccionamiento a baja temperatura y es preferiblemente o bien un fraccionamiento en seco o bien un fraccionamiento con disolventes.

Como se emplea en esta memoria, los términos "fracción de aceite", "fracción de oleína" y "aceite de la invención" se utilizan indistintamente. Aunque el producto de la invención es una fracción de un aceite que es en sí todavía un aceite y por lo tanto también se denomina "aceite".

Las especies de TAG de fórmula general SUS, donde S es un ácido graso saturado y U es un ácido graso insaturado, son SMS y SDS. M es un ácido graso monoenoico con un enlace insaturado. D es un ácido graso dienoico con dos enlaces insaturados. Las especies SMS son EOE, POP, POE, EOB, EOA. Las especies SDS son PLP, ELE, PLE.

Las especies de TAG de fórmula general SUU son SMM, SMD, y SDD. Las especies SMM son POO, EOO, OOA y OOB. Las especies SMD son POL, EOL, OLA y OLB. Las especies SDD son PLL y ELL.

Las especies de TAG de fórmula general UUU son MMM, MMD, MDD y DDD.

La especie MMM es OOO. La especie MMD es OOL. La especie MDD es OLL y la especie DDD es LLL.

La presente invención se ilustrará adicionalmente en los ejemplos que siguen y que de ninguna manera pretenden limitar la invención. En los ejemplos se hace referencia a la siguiente figura:

Figura. Cursos de polimerización de diferentes aceites a 180°C. Se estudiaron girasol común (CAS-6), girasol alto en oleico (CAS-9), girasol alto en oleico alto en palmítico (CAS-12), aceites altos en oleico altos en esteárico (HOHS-17%E y HOHS-20%E) y sobrenadantes del fraccionamiento de aceites altos en oleato altos en estearato a 0°C (sobrenadante 1) y -5°C (sobrenadante 2).

Ejemplos

Ejemplo 1

Preparación de aceites para preparar la fracción de oleína de la invención

1. Material vegetal

La fracción de oleína de la invención se puede preparar a partir de semillas de la cepa depositada IG-1297M o a partir de semillas que se obtengan de cualquier otra manera. Otra forma de obtener dichas semillas se ilustra a continuación.

Se utilizaron semillas de girasol maduras altas en oleato y altas en esteárico de HOHS como se describe en documento WO0074470 y/o semillas CAS-15 como se describe en Fernández-Moya et al. (J. Agric. Food Chem. 53:5326-5330 (2005)), todos con alto contenido de estearato con un origen alto en oleato.

Los aceites altos en oleico altos en esteárico (HOHS) son todos similares e independientes de las semillas utilizadas para extraer los aceites que se usaron en estos ejemplos, los aceites se podrían extraer de cualquier otra semilla y utilizarse puros o mezclados para obtener una composición de TAG específica.

Se utilizaron CAS-12 (depositado como IG-1297M (ATCC 209591)) o CAS-25 (obtenido a partir de un cruce entre IG-1297M y CAS-3 como se describe en Serrano-Vega et al. Lipids 2005, 40, 369-374) con o sin palmitoleato. Los aceites altos en oleico altos en palmítico son todos similares e independientes de las semillas utilizadas para extraer los aceites que se usaron en estos ejemplos, los aceites se podrían extraer de cualquier otra semilla y utilizarse puros o mezclados para obtener una composición de TAG específica.

Como materiales de control se utilizaron semillas maduras de una línea de girasol normal (estándar, CAS-6) y una línea alta en oleico (CAS-9).

Algunos ejemplos de la composición de ácidos grasos de los aceites usados en estos ejemplos se pueden encontrar en la tabla 5.

Tabla 5.- Composición de ácidos grasos de algunos aceites utilizados en esta patente.

Aceite de girasol	Composición de ácidos grasos (mol %)					
	16:0	18:0	18:1	18:2	20:0	22:0
Estándar (CAS-6)	4.96	7.8	28.39	57.24	0.43	1.17
Alto en oleico (CAS-9)	3.71	7.28	85.48	1.18	0.7	1.64
HOHS 17%E	4.45	17.75	70.37	3.34	1.52	2.56
HOHS 20%E	4.55	20.2	67.49	2.87	1.74	3.16
HOHS 24E	5.12	24.0	61.63	4.14	2.18	2.93
HOHS 253	5.71	19.6	57.91	12.83	1.46	2.36

Se extrajeron los aceites HOHS 17%, HOHS 24E y HOHS 253 de semillas CAS-33 y CAS-15 y se utilizaron puros. HOHS 20% es un aceite mezclado.

5 2. Extracción del aceite

A escala de laboratorio, los aceites utilizados para la preparación de la fracción de oleína de esta invención se extrajeron de semillas usando un procedimiento que comprende la trituración de las semillas a un polvo fino que se mezcla con 1/5 p/p de sulfato de sodio anhidro. A continuación, la torta resultante se envasó en cartuchos de papel de filtro que contienen aprox. 25 g de la mezcla y se extrajo en Soxhlett durante 16 h utilizando heptano como disolvente. La mezcla de aceite enriquecido recuperada en el depósito de disolvente se destiló al vacío a 80°C y las trazas de disolvente se quitaron aplicando un flujo de nitrógeno.

Un método alternativo implica la trituración de las semillas a un polvo fino y la extracción discontinua del aceite mezclando las semillas molidas con 2 vol. por peso de heptano. La suspensión se transfirió a matraces con tapa de rosca y se mantuvo a 80°C durante 2 h. Entonces, se añadió un vol. de 10 g/L NaCl en metanol y se dejó a las fases separarse. Se retiró el sobrenadante enriquecido con heptano y se destiló a vacío a 80°C. El aceite finalmente se separó con un flujo de nitrógeno para eliminar las trazas de disolvente. Para la extracción a mayor escala, el aceite de las semilla se extrajo utilizando una prensa de aceite continua con una capacidad de 8 kg/h. Se extrajeron lotes de 5 kg y luego se refinaron. Dado que estos aceites mostraban un bajo contenido de fosfato no se desgomaron. La eliminación del exceso de ácidos grasos libres se llevó a cabo mediante neutralización con sosa caustica de 12° Baumé (2,18 M) a 15°C durante 40 minutos. Los trozos de jabón se eliminaron por centrifugación y el aceite entonces se lavó con agua. El siguiente paso fue blanquear el aceite mediante un tratamiento con arcilla de blanqueo activada (1% p/p) a 70°C durante 10 min. Finalmente, el aceite se desodoriza aplicando 3% de vapor a 200°C durante 3h al vacío durante 3 h.

Ejemplo 2

25 Caracterización de los TAG

1. Distribución de los TAG en los aceites

Los TAG purificados de los aceites de girasol utilizados para preparar la fracción de oleína de la invención se obtuvieron pasando 3 g de aceite disuelto en 3 ml de éter de petróleo sobre alúmina, que se había activado a 200°C durante 3 h inmediatamente antes de su uso. La alúmina (1,5 g. 2 veces) se colocó en dos pequeñas columnas conectadas por un trozo de tubo de silicona y la disolución de lípidos se colocó en la parte superior y se dejó que filtrar a través de la alúmina. Las columnas se lavaron posteriormente con 6 ml de éter de petróleo. El disolvente se evaporó y los TAG purificados se enjuagaron con nitrógeno y se almacenaron a -20°C.

Los TAG fueron desprovistos de tocoferoles como se determina por HPLC siguiendo el Método Estándar 2432 de la IUPAC (IUPAC Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, Blackwell, Oxford, 7.sup.th ed. (1987)).

La composición de las especies moleculares de TAG se llevó a cabo por cromatografía de gases de los TAG purificados usando una columna capilar DB-17-HT (Agilent Technologies, USA) de 15 m por 0,25 mm de diámetro interno, 0,1 micras de espesor de película, hidrógeno como gas portador y un detector FID, según J Agr Food Chem. 2000,48, 764-769.

Ejemplo 3

Preparación de las fracciones de oleína de la invención

1. Fraccionamiento de aceites usando disolventes

- 5 Los aceites extraídos de las semillas mencionadas en el ejemplo 1 se disolvieron en 3 volúmenes de un disolvente orgánico, tal como hexano, acetona o éter etílico. Otras razones aceite disolvente dan los mismos resultados, véase "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices", 1990, World Conference Proceedings, American Oil Chemists' Society. A continuación se mantuvieron a temperatura baja durante períodos de 24 h. Los sobrenadantes se separaron de los precipitados por centrifugación a 5000 x g y el disolvente se eliminó de la fracción de oleína enjuagando con nitrógeno. Las fracciones de oleína se almacenaron a -20°C en una atmósfera de nitrógeno. Se realizaron dos fraccionamientos a 0°C y -5°C, dando oleínas de diferente composición y propiedades.

Tabla 6.- Composición de triacilglicérol de aceites altos en esteárico altos en oleico y diferentes fracciones preparadas por fraccionamiento con acetona a 0°C (sup. 1) y -5°C (sup. 2).

Triacilglicérido	Composición de triacilglicéridos (mol %)					
	HOHS 253	HOHS 24E	Sup. 1 253	Sup. 1 24E	Sup 2 253	Sup. 2 24E
POP	0.82	0.83	0.62	0.57	0.69	0.72
PLP	0.23		0.2		0.22	
POE	4.03	5.72	1.95	1.54	1.67	1.3
POO	8.54	8.13	9.53	13.75	11.63	15.77
PLE	1.52	0.23	1.41	0.37	1.14	0.38
POL	1.83	1.06	2.13	1.86	2.31	2.24
PLL	1.18		1.16	0.21	1.18	
EOE	5.28	10.07	1.12	1.04	0.68	0.59
EOO	27.67	39.24	30.3	32.74	27.38	30.22
ELE	2.01	0.6	1.1			0.23
OOO	21.24	15.45	23.74	26.06	27.02	28.58
EOL	6.34	4.92	6.91	6.23	6.09	6.16
OOL	4.57	2.95	5.05	5.37	5.23	5.63
ELL	4.7		5.17		5.23	
OLL	1.57	0.35	2.14	0.8	2.34	0.35
LLL	1.06		1.23		0.92	
EOA	1.14	1.56		0.14	0.42	
OOA	1.91	3.22	2.16	4.65	2.05	4.27
OLA	0.24	0.23	0.3	0.55	0.65	0.49
EOB	0.61	1.37		0.19		
OOB	2.98	3.76	3.22	3.44	2.51	2.69
OLB	0.54	0.3	0.53	0.49	0.65	0.38

P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oleico = 18:1; L = ácido linoleico = 18:2; A = ácido araquídico = 20:0; B = ácido behénico = 22:0

Se extrajeron los aceites HOHS 24E y HOHS 253 de semillas CAS-33 y CAS-15.

2. Fraccionamiento con disolventes de aceites altos en oleico altos en esteárico

- 15 Se pueden encontrar ejemplos de fraccionamiento con disolventes en la tabla 6. Dos aceites altos en oleico altos en esteárico (HOHS 253 y HOHS 24E), extraídos de semillas de líneas CAS-15 (descritas en Fernández-Moya et al. J. Agric. Food Chem. 53:5326-5330 (2005)) o de semillas HOHS como se describe en el documento WO0074470, se fraccionaron con acetona a 0°C y se recogieron las respectivas fracciones de oleína (Sup 1_253 y Sup 1_24E). Se obtuvieron otras dos fracciones a -5°C (Sup 2_253 y Sup 2_24E).
- 20 Las fracciones obtenidas a 0 y -5°C tienen un contenido reducido de TAG disaturados tales como POS, SOS, SOA, SOB etc. La composición de TAG se puede mostrar como clases de TAG de acuerdo con el contenido de TAG saturados (S) monoinsaturados (M) y diinsaturados (D). La Tabla 7 muestra los datos agrupados como se ha indicado anteriormente.

Tabla 7.- Composición de clase de triacilglicéridos de aceites altos en esteárico altos en oleico y diferentes fracciones preparadas por fraccionamiento con acetona a 0°C (sup. 1) y -5°C (sup. 2). S = ácido graso saturado, M = ácido graso monoenoico, y D = ácido graso dienoico, U = ácido graso insaturado.

Clase de triacilglicéridos	Composición de triacilglicéridos (mol %)					
	HOHS 253	HOHS 24E	Sup. 1 253	Sup. 1 24E	Sup 2 253	Sup. 2 24E
SMS	11.88	19.55	3.69	3.48	3.46	2.61
SDS	3.76	0.83	2.71	0.37	1.36	0.61
SMM	41.1	54.35	45.21	54.58	43.57	52.95
SMD	8.95	6.51	9.87	9.13	9.7	9.27
SDD	5.88	-	6.33	0.21	6.41	-
MMM	21.24	15.45	23.74	26.06	27.02	28.58
MMD	4.57	2.95	5.05	5.37	5.23	5.63
MDD	1.57	0.35	2.14	0.8	2.34	0.35
DDD	1.06	-	1.23	-	0.92	-
SUS	15.64	20.38	6.4	3.85	4.82	3.22
SUU	55.93	60.86	61.41	63.92	59.68	62.22
UUU	28.44	18.75	32.16	32.23	35.51	34.56

De lo anterior se deduce que las fracciones de oleína de la invención tienen un valor de SMS sustancialmente más bajo que los aceites de partida.

5 3. Fraccionamiento con disolventes de aceites altos en oleico altos en palmítico

Otros aceites saturados de girasol, tales como el aceite alto en palmítico alto en oleico de CAS-12, también se fraccionaron y se obtuvo una fracción de oleína. Esta fracción de oleína tiene cantidades reducidas de TAG disaturados. La composición de TAG del aceite de girasol alto en oleico y alto en palmítico (HOHP de CAS 12) original y las fracciones obtenidas con acetona a 0 y -5°C tras 24 h, denominadas Sup.1 y Sup. 2, respectivamente, se muestran en la tabla 8.

La composición de TAG se puede mostrar como clases de TAG. La tabla 9 muestra las clases de TAG del aceite HOHP original y las fracciones Sup. 1 y Sup. 2.

Las fracciones de oleína tienen una cantidad reducida de TAG disaturados, tales como SMS y una cantidad aumentada de TAG monosaturados y TAG triinsaturados como SMM y MMM.

Tabla 8.- Composición de triacilglicérols del aceite alto en oleico alto en palmítico (CAS-12) y diferentes fracciones preparadas por fraccionamiento con acetona a 0°C (sobrenadante 1) y a -5°C (sobrenadante 2).

Composición de triacilglicéridos (mol %)			
Triacilglicérido	HOHP	Sup. 1	Sup. 2
PPoP	0.62	0.71	0.35
PPoPo	0.28	0.44	0.64
POP	17.5	7.02	2.26
PAsP	0.66	-	0.29
PPoO	9.87	16.46	13.44
PPoL	1.3	2.49	2.64
POE	1.85	0.64	0.48
POO	30.9	36.31	29.73
POAs	5.41	7.07	7.01
POL	8.22	12.3	12.54
PoOO	1.41	-	2.68
PoOL	0.54	0.56	0.82
EOE	0.25	-	-
EOO	2.22	1.99	3.67
OOO	10.99	8.08	13.38
OOAs	3.74	3.35	5.57
OOL	1.43	0.92	1.49
POB	0.96	0.15	0.4
OOA	0.25	0.22	0.4
OOB	1.02	0.59	1.2

P = ácido palmítico = 16:0; Po = ácido palmitoléico = 16:1; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oleico = 18:1^{Δ9}; As = ácido ascléptico = 18:1^{Δ11}; L = ácido linoléico = 18:2; A = ácido araquídico = 20:0; B = ácido behénico = 22:0

Tabla 9.- Composición de clase de triacilglicéridos de aceite alto en oleico alto en palmítico y diferentes fracciones preparadas por fraccionamiento con acetona a 0°C (sobrenadante 1) y -5°C (sobrenadante 2). S = ácido graso saturado, M = ácido graso monoinsaturado y D = ácido graso dienoico, U = ácido graso insaturado.

Composición de triacilglicéridos (mol %)			
Clases de triacilglicéridos	HOHP	Sup. 1	Sup. 2
SMS	21.84	8.52	3.78
SDS	-	-	-
SMM	49.95	63.08	56.09
SMD	9.52	14.79	15.18
SDD	-	-	-
MMM	16.14	11.43	21.63
MMD	1.97	1.48	2.31
MDD	-	-	-
DDD	-	-	-
SUS	21.84	8.52	3.78
SUU	59.47	77.87	71.27
UUU	18.11	12.91	23.94

4. Fraccionamiento en seco de aceites

Los aceites se fraccionaron sin disolventes enfriando los aceites durante 24-48 h sin ningún disolvente. Los precipitados resultantes se sedimentaron por centrifugación a 5000 x g durante 30 min a la temperatura de fraccionamiento. Las oleínas se separaron como sobrenadantes. Las temperaturas de fraccionamiento oscilaban de 12 a 0°C. El fraccionamiento en seco se describe en "Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices", 1990, World Conference Proceedings, American Oil Chemists' Society, páginas. 136-141 y 239-245.

Durante el almacenamiento a baja temperatura se formaron cristales de TAG saturados y se pudieron separar del aceite líquido a través de centrifugación, prensado en frío, etc. Algunos ejemplos de fraccionamiento en seco se muestran en las tablas 10 y 11. El aceite alto en oleico y alto en esteárico original se mantuvo a 9,5°C, y la oleína denominada sup 1 se recuperó como sobrenadante. La oleína Sup 1 a continuación se fraccionó a 5°C durante 24 h, resultando en la oleína denominada sup 2 como sobrenadante. Sup 2 se fraccionó posteriormente otra vez a 2,5°C durante 24 h y se obtuvo sup 3 en las tablas 10 y 11.

Como en el fraccionamiento con disolventes, los TAG disaturados disminuyen mientras que las especies de TAG más insaturadas aumentan. Los mismos resultados mostrados como clases de TAG se pueden encontrar en la tabla 11.

Tabla 10.- Composición de triacilglicérols de aceite alto en esteárico alto en oleico (aceite obtenido de semillas HOHS) y diferentes fracciones preparadas mediante fraccionamiento en seco a 9,5°C (sobrenadante 1), 5°C (sobrenadante 2) y 2,5°C (sobrenadante 3).

Triacilglicérido	Composición de triacilglicéridos (mol %)			
	HOHS	Sup. 1	Sup. 2	Sup. 3
POP	0.56	0.46	0.51	0.45
POE	3.38	2.36	2.19	2.34
POO	7.18	7.9	8	8.21
PLE	-	-	0.19	-
POL	0.98	1.18	1.14	1.07
EOE	6.7	3.15	2.82	2.81
EOO	36.65	39.46	37.38	38.23
ELE	0.47	-	0.33	0.3
OOO	25.42	27.78	28.52	28.59
EOL	4.98	5.22	5.33	5.13
OOL	4.76	4.96	5.13	5.01
OLL	0.32	-	0.37	0.22
EOA	0.98	0.39	0.4	0.31
OOA	2.87	3.06	2.98	3.01
OLA	0.27	-	0.26	0.27
EOB	0.82	-	0.28	0.24
OOB	3.47	4.1	3.81	3.41
OLB	0.2	-	0.31	0.38

P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oleico = 18:1; L = ácido linoleico = 18:2; A = ácido araquídico = 20:0; B = ácido behénico = 22:0

Tabla 11.- Composición de clase de triacilglicéridos de aceite alto en esteárico alto en oleico (obtenido de semillas HOHS) y de diferentes fracciones preparadas mediante fraccionamiento en seco a 9,5°C (sobrenadante 1), 5°C (sobrenadante 2) y 2,5°C (sobrenadante 3). S = ácido graso saturado, M = ácido graso monoenoico, y D = ácido graso dienoico.

Clase de TAG	Composición de triacilglicéridos (mol %)			
	HOHS	Sup. 1	Sup. 2	Sup. 3
SMS	12.44	6.36	6.2	6.15
SDS	0.47	0	0.52	0.3
SMM	50.17	54.52	52.17	52.86
SMD	6.43	6.4	7.04	6.85
SDD	-	-	-	-
MMM	25.42	27.78	28.52	28.59
MMD	4.76	4.96	5.13	5.01
MDD	0.32	0	0.37	0.22
DDD	-	-	-	-
SUS	12.91	6.36	6.72	6.45
SUU	56.6	60.92	59.21	59.71
UUU	30.5	32.74	34.02	33.82

El fraccionamiento en seco de un aceite dado es muy dependiente de las temperaturas utilizadas para la cristalización de triacilglicéridos. Por lo tanto, la composición de las fracciones de oleína resultantes era diferente. Los datos indicados en las tablas 12 y 13 a continuación son representativos para el fraccionamiento en seco de un aceite alto en oleico alto en esteárico, de forma secuencial a 12, 2.5 y 0°C durante 24 h.

El fraccionamiento de aceite a temperaturas más bajas produjo más oleína líquida con un menor contenido de TAG de la forma SMS y un mayor contenido de las clases más insaturadas como MMM o MMD. La ocurrencia de TAG de la forma SMM alcanzó un máximo en el sup 1 y a continuación disminuyó ligeramente en sup 2 y sup 3, aumentando las especies más insaturadas como MMM y MMD.

Tabla 12.- Composición de triacilglicéridos de aceite alto en esteárico alto en oleico y diferentes fracciones preparadas mediante fraccionamiento en seco a 12°C (sup 1), 2,5°C (sup 2) y 0°C (sup 3).

Triacilglicérido	Composición de triacilglicéridos (mol %)			
	HOHS 310	Sup. 1	Sup. 2	Sup. 3
POP	0.56	0.47	0.47	0.32
POE	3.78	2.58	2.42	1.61
POO	7.55	7.35	7.68	8.17
POL	0.92	1	1.04	0.99
EOE	7.45	3.88	3.18	1.74
EOO	38.49	41.63	40.75	37.3
OOO	24.77	26.02	27.38	32.1
EOL	4.44	5.19	5.11	4.93
OOL	4.14	4.62	4.86	6.09
OLL				0.29
EOA	1	0.52	0.3	
OOA	2.58	2.75	2.83	3.06
EOB	1.34	0.9	0.76	
OOB	2.99	3.1	3.23	3.41

P = ácido palmítico = 16:0; E = ácido esteárico = 18:0; O = ácido oleico = 18:1; L = ácido linoleico = 18:2; A = ácido araquídico = 20:0; B = ácido behénico = 22:0

Tabla 13.- Composición de clase de triacilglicéridos de aceite alto en esteárico alto en oleico y de diferentes fracciones preparadas por fraccionamiento en seco a 12°C (sobrenadante 1), 2,5°C (sobrenadante 2) y 0°C (sobrenadante 3). S = ácido graso saturado, M = ácido graso monoenoico, y D = ácido graso dienoico, U = ácido graso insaturado.

Clase de triacilglicéridos	Composición de triacilglicéridos (mol %)			
	HOHS 310	Sup. 1	Sup. 2	Sup. 3
SMS	14.13	8.35	7.13	3.67
SDS				
SMM	51.61	54.83	54.49	51.94
SMD	5.36	6.19	6.15	5.92
SDD				
MMM	24.77	26.02	27.38	32.1
MMD	4.14	4.62	4.86	6.09
MDD				0.29
DDD				
SUS	14.13	8.35	7.13	3.67
SUU	56.97	61.02	60.64	58.15
UUU	28.91	30.64	32.24	38.48

Ejemplo 4

Determinación del punto de turbidez

- 5 Para muchos propósitos alimentarios es preferible un aceite líquido, por ejemplo para freír con abundante aceite la mayoría de las empresas prefieren los aceites líquidos para evitar el aislamiento térmico y calentar para evitar la solidificación de las grasas. El punto de turbidez se define como la temperatura a la cual el aceite se vuelve turbio debido a la solidificación de TAG en unas condiciones dadas. Mide cuando un aceite comienza a ser sólido y algunos cristales de grasa sólida aparecen debido a la baja temperatura. Los aceites con puntos de turbidez más
- 10 bajos son líquidos a temperaturas más bajas. Además, cuando los productos alimenticios necesitan ser almacenados en el frigorífico, es preferible un aceite líquido con un punto de turbidez cercano o menor que 0°C.

- Para medir el punto de turbidez de las fracciones de oleína con diferentes contenidos de SUS y los aceites de control, se transfirieron cantidades de 10 g de cada a tubos de vidrio con tapón de rosca y se calentaron a 80° C para eliminar cualquier trazas de sólidos. Posteriormente se trasladaron a un baño termostatzado dotado con una
- 15 lámpara y una ventana que permite examinar la turbidez de los aceites. La temperatura inicial del baño era de 30°C, a continuación la temperatura se disminuyó a un ritmo de 2°C cada 20 min. para llegar a una temperatura final de -10°C. Los puntos de turbidez se establecieron visualmente como la temperatura a la que un aceite dado se volvió turbio.

- Se han determinado los puntos de turbidez de algunas fracciones de oleína de aceites altos en oleico altos en esteárico. La composición triacilglicéridos de estas fracciones de oleína está en la Tabla 14.
- 20

Tabla 14.- composición de clase de triacilglicéridos de las fracciones de oleína usadas para determinar el punto de turbidez. S = ácido graso saturado, M = ácido graso monoenoico y D = ácido graso dienoico.									
Oleína	SMS	SDS	SMM	SMD	SDD	MMM	MMD	MDD	DDD
A	3.1		54.2	3.5		34.4	4.4	0.4	
B	0.7		43.0	5.1		44.8	6.1		
C	3.7		51.9	5.9		32.1	6.1	0.3	
D	7.1		54.5	6.2		27.4	4.9		

La tabla 15 muestra que el punto de turbidez de aceites estándar y altos en oleico es el mismo, siendo de -8°C. Por lo tanto, comenzaron a ser sólidos a temperaturas inferiores a 0°C, pero los aceites altamente saturados tienen punto de turbidez superior a 20°C, son sólidos en el frigorífico. Las fracciones de oleína preparadas por fraccionamiento con disolventes o en seco de un aceite alto en oleico alto en esteárico tienen puntos de turbidez cercanos a 0°C e inferiores y próximos a aceites estándar y altos en oleico. Su comportamiento a temperaturas de refrigeración es similar a los aceites estándar y altos en oleico.

Tabla 15.- Puntos de turbidez de distintos aceites y fracciones de oleína HOHE.

Aceite de girasol	Contenido de SUS (%)	Punto de turbidez (°C)
Estándar (CAS-6)	2	-8
Alto en oleico (CAS-9)	1	-8
Alto en oleico alto en esteárico (CAS-15)	19	24
Oleína A	3	-4
Oleína B	1	-6
Oleína C	4	-1
Oleína D	7	4

Ejemplo 5

10 Termoestabilidad

1. Purificación de TAG

Los TAG de diferentes aceites y fracciones de oleína (Sup.1_253 y Sup. 2_253 del ejemplo 3; Tabla 6) se purificaron y fueron desprovistos de tocoferoles antes de llevar a cabo los estudios de termoestabilidad utilizando el protocolo descrito en el ejemplo 3.

- 15 Tras calentar la calidad de un aceite se puede deteriorar debido a que los TAG que constituyen el aceite se oxidan y/o polimerizan. Para probar la termoestabilidad se realizó un tratamiento térmico a 180°C durante 10 h de la siguiente forma.

2. Tratamiento termo-oxidativo

- 20 El tratamiento termo-oxidativo de las muestras se llevó a cabo en condiciones estrictamente controladas de acuerdo con Barrera- Arellano et al. (Grasas Aceites 48, 231-235 (1997)). En resumen, se pesaron $2,00 \pm 0,01$ g de TAG purificados en tubos de vidrio estándar de 13 cm por 1 cm de diámetro interno, se introdujeron por turnos en un horno a $180,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Se retiraron muestras de 50 mg a intervalos de 2 h para el análisis de TAG polimerizados. Después de calentar durante un periodo total de 10 h, se sacaron las muestras finales y además se analizaron para compuestos polares y distribución en monómeros de TAG oxidados y TAG polimerizados. Se observaron cuidadosamente las instrucciones Rancimat (TM) para la limpieza de los recipientes y la corrección de temperatura. No se aplicó ningún burbujeo de aire durante el calentamiento y los recipientes se dejaron abiertos

3. Cuantificación de TAG

- 30 Los TAG polimerizados en los diversos aceites se cuantificaron por cromatografía de exclusión por tamaño de alto rendimiento (HPSEC) siguiendo una modificación del Método Standard 2508 de la IUPAC (supra) por medio del uso de un detector de dispersión de luz en lugar de un detector de índice de refracción en el HPLC. Se determinaron los compuestos polares totales y su distribución en monómeros de TAG oxidados y polímeros de TAG mediante una combinación de cromatografía de adsorción y HPSEC (Dobarganes et al. Fat Sci. Technol. 90,308-311 (1988)).

- 35 Las condiciones aplicadas para la HPSEC fueron las siguientes: Las separaciones se llevaron a cabo en un Módulo Waters 2695 (Milford, MA) dotado de un detector Waters 2420 ELS. Los datos se procesaron utilizando software Empower. Unas columnas Ultrastayragel (Waters Associates, Milford, Mass., USA) conectadas en serie y funcionando a 35°C (25 cm por 0.77 cm de diámetro interno), se llenaron con un copolímero de estireno divinil benceno poroso, altamente reticulado (<10 Åm). El tetrahidrofurano grado HPLC sirvió como la fase móvil con un flujo de 1 mL/min. Se usaron disoluciones de muestra de 50 mg de aceite/mL y 15 mg de compuestos polares/mL en tetrahidrofurano para el análisis de los TAG polimerizados y la distribución de compuestos polares, respectivamente.

40 4. Monitorización de las alteraciones de TAG

Monitorizar la formación de dímeros, polímeros y TAG alterados en condiciones similares a las utilizadas en el fritura industrial y doméstica da información acerca de la estabilidad de oxidación de los aceites y fracciones dados. Por lo

tanto, los TAG purificados de aceite de girasol común, que es rico en ácido linoleico CAS-6 (Salas et al. JAOCS 83:539-545 (2006)) (Tabla 5) mostraron la mayor tasa de polimerización (Figura 1), alcanzando 28 % de TAG polimerizados después de 10 horas a 180°C.

- 5 En el aceite alto en oleico CAS-9 (Fernández-Moya et al. J. Agric. Food Chem.53: 5326-5330 (2005)) los TAG eran más estables que el aceite de girasol común pero polimerizaron más rápidamente que los de los dos sobrenadantes obtenidos por fraccionamiento de aceites HOHS (Sup. 1_253 y Sup. 2_253 del ejemplo 3; Tabla 6), a 0°C y -5°C.

- 10 Por lo tanto, estas fracciones oleína, que contienen altos niveles de TAG de la forma SUU y bajos de SUS muestran estabilidades más altas que los aceites de girasol comunes y altos en oleico, así como puntos de turbidez bajos, lo que los hace aceites líquidos estables adecuados para freír, hornear, asar y cocinar y la producción de mayonesa, mayonesa ligera, mayonesa baja en grasa, mostaza, ketchup, salsa tártara, untables para sándwiches, botella para bufé de ensaladas, aliños de ensalada, comida precocinada, sopa preparada, salsas y crema.

Los aceites altos en esteárico altos en oleico HOHS 17% y HOHS 20% (Tabla 5) y los aceites altos en palmítico altos en oleico (CAS-12) mostraron tasas similares de polimerización, ligeramente menores que el sobrenadante de 0°C debido a su alto contenido de ácidos grasos saturados, que los hacen semisólidos a temperatura ambiente.

- 15 Además, los datos correspondientes a los TAG alterados después de 10 horas a 180°C eran concordantes con el curso de la polimerización (tabla 16). Los aceites común y alto en oleico mostraron el mayor contenido de TAG alterados, seguidos de las fracciones de oleína aisladas de aceites HOHS sobrenadante 1 y sobrenadante 2, mostrando de nuevo que estos eran aceites líquidos estables. El menor contenido de TAG alterados se encontró en los aceites HOHS y HOHP semisólidos altamente saturados. Estos últimos aceites sin embargo no son líquidos y
20 podrían llegar a ser sólidos durante el transporte o el almacenamiento a baja temperatura.

Tabla 16.- Composición de triacilglicéridos alterados de diferentes aceites y fracciones de oleína tras 10 h a 180°C

	TAG alterados (% p/p)			
	Monómeros	Dímeros	Oligómeros	Total
Estándar (CAS-6)	8.8	10.2	17.4	36.3
Alto en oleico (CAS-9)	12.4	9.6	6.1	28.1
Alto en oleico alto en palmítico (CAS-12)	8.3	5.9	2.9	17.1
HOHS17%E	7.8	6.0	3.4	17.3
HOHS20%E	8.2	5.5	2.8	16.5
Sobrenadante 0°C	9.4	7.1	4.7	21.3
Sobrenadante -5°C	10.8	8.5	6.4	25.7

REIVINDICACIONES

1. Fracciones de oleína estables y líquidas donde:

a) menos de 8,6% de las especies de TAG de dicha fracción de oleína tienen la fórmula general SMS, y

5 b) al menos 26% de las especies de TAG de dicha fracción de oleína tienen la fórmula general SMM, donde S representa un ácido graso saturado y M representa un ácido graso monoenoico, cuya fracción de oleína es obtenible mediante:

- el fraccionamiento de un aceite de girasol alto oleico altamente saturado; y

- recoger la fracción líquida.

10 2. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en la reivindicación 1, donde el fraccionamiento es un fraccionamiento a baja temperatura.

3. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en la reivindicación 2, donde el fraccionamiento a baja temperatura es un fraccionamiento en seco, que comprende las siguientes etapas:

- disminuir la temperatura del aceite a 12°C, más preferiblemente 9,5°C, incluso más preferiblemente 5°C, opcionalmente con agitación;

15 - separar la oleína de la fracción sólida; y

- opcionalmente fraccionar la oleína resultante de nuevo a 2,5°C, más preferiblemente 0°C para obtener una fracción de oleína menos saturada.

4. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en la reivindicación 2, donde el fraccionamiento a baja temperatura es un fraccionamiento en seco, que consiste en las siguientes etapas:

20 - disminuir la temperatura del aceite a 12°C, más preferiblemente 9,5° C, incluso más preferiblemente 5°C, opcionalmente con agitación; y

- separar la oleína de la fracción sólida.

25 5. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en la reivindicación 4, donde el fraccionamiento a baja temperatura además contiene la etapa de fraccionar la oleína resultante de nuevo a 2,5°C, más preferiblemente 0°C para obtener una fracción de oleína menos saturada.

6. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en la reivindicación 2, donde el fraccionamiento a baja temperatura es un fraccionamiento con disolventes, que comprende las siguientes etapas:

- mezclar el aceite con un disolvente orgánico como acetona, hexano o éter etílico;

- disminuir la temperatura de la disolución de aceite a 0°C, preferiblemente -5°C;

30 - separar la oleína de la fracción sólida; y

- opcionalmente recuperar la oleína eliminando el disolvente del sobrenadante.

7. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en la reivindicación 2, donde el fraccionamiento a baja temperatura es un fraccionamiento con disolventes, que consiste en las siguientes etapas:

- mezclar el aceite con un disolvente orgánico como acetona, hexano o éter etílico;

35 - disminuir la temperatura de la disolución de aceite a 0°C, preferiblemente -5°C; y

- separar la oleína de la fracción sólida.

8. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en la reivindicación 7, donde el fraccionamiento además contiene la etapa de recuperar la oleína eliminando el disolvente del sobrenadante, preferiblemente por destilación al vacío.

40 9. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde el aceite de girasol alto en oleico altamente saturado es

a) un aceite de girasol alto oleico alto esteárico obtenible extrayendo semillas de girasol altas en oleico altas en esteárico que son obtenibles cruzando CAS-3 (ATCC 75968) y un mutante alto en tioesterasa con el número de depósito ATCC PTA-628, o

b) un aceite de girasol alto en palmítico obtenible extrayendo semillas de la cepa de girasol IG-1297M, cuyas semillas se depositaron el 20 de enero de 1998 bajo el número de acceso ATCC ATCC-209591, o

c) un aceite de girasol alto en oleico alto en palmítico bajo en palmitoleico y bajo en asclépico obtenible extrayendo semillas de la cepa de girasol CAS-25, cuyas semillas son obtenibles cruzando IG-1297M (ATCC 209591) y CAS-3 (ATCC 75968).

10. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-9, donde el contenido total de ácido linolénico en dicha fracción de oleína es menor que 0,5% y/o el contenido de ácido linoleico en dicha fracción de oleína es menor que 15%, preferiblemente menor que 10%, preferiblemente menor que 5%.

11. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde menos del 6%, preferiblemente menos del 4% de las especies de TAG de dicha fracción de oleína tienen la fórmula general SMS y/o al menos 30%, preferiblemente al menos 35%, más preferiblemente al menos 45% de las especies de TAG de dicha oleína tienen la fórmula general SMM.

12. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-11, caracterizada por que tiene menos del 8%, preferiblemente menos del 5%, más preferiblemente menos del 3% de ácidos grasos saturados en la posición sn-2 de los TAG que constituyen dicha fracción de oleína.

13. Una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-11, caracterizada por que tiene un punto de turbidez menor que 5°C, preferiblemente menor que 0°C, más preferiblemente menor que -6° C.

14. Un método para la preparación de la fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en la reivindicación 1 mediante el fraccionamiento a baja temperatura de un aceite de girasol alto en oleico, altamente saturado, donde

a) el fraccionamiento a baja temperatura es un fraccionamiento en seco, que incluye las siguientes etapas:

-disminuir la temperatura del aceite a 12°C, preferiblemente 9,5°C, más preferiblemente 5°C, con o sin agitación;

- separar la oleína de la fracción sólida; y

- opcionalmente fraccionar la oleína resultante de nuevo a 2,5° C, más preferiblemente 0°C para obtener una fracción de oleína menos saturada,

o

b) el fraccionamiento a baja temperatura es un fraccionamiento con disolventes que incluye las siguientes etapas:

- mezclar el aceite con un disolvente orgánico como acetona, hexano o éter etílico;

- disminuir la temperatura de la disolución de aceite a 0° C, preferiblemente -5°C;

- separar la oleína de la fracción sólida;

- opcionalmente recuperar la oleína eliminando el disolvente del sobrenadante por destilación a vacío.

15. El uso de una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-13

- para la producción de salsas, particularmente mayonesa, mayonesa ligera, mayonesa baja en grasa, mostaza, ketchup y salsa tártara, aliños de ensalada, botella para bufé de ensaladas, untables para sándwiches, comida precocinada, sopa o crema preparada, y helado o tarta helada; o

- en condiciones de alta temperatura a través del calentamiento mediante cualquier medio a temperaturas de al menos 100°C y en particular para freír, cocer, cocinar y asar, donde las condiciones de alta temperatura comprenden preferiblemente temperaturas de al menos 160°C, más preferiblemente al menos 180°C; o

- en procesos industriales como la interesterificación enzimática o química y el fraccionamiento posterior del aceite.

16. Una mezcla de aceite que incluye una fracción de oleína estable y líquida como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.

Figura 1

