

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 748 813**

51 Int. Cl.:

A23K 20/158 (2006.01)

A23D 9/00 (2006.01)

C11B 5/00 (2006.01)

A01H 5/10 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.11.2008 PCT/ES2008/070220**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.07.2009 WO09080858**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.11.2008 E 08865088 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2019 EP 2243379**

54 Título: **Aceite de girasol con estabilidad al calor elevada**

30 Prioridad:

21.12.2007 ES 200703417

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

18.03.2020

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (100.0%)**

**C/ Serrano 117
28006 Madrid, ES**

72 Inventor/es:

**VELASCO VARO, LEONARDO;
FERNÁNDEZ MARTÍNEZ, JOSE MARIA y
PEREZ VICH, BEGOÑA**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 748 813 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

Aceite de girasol con estabilidad al calor elevada

Campo de la técnica

5 La invención está comprendida en el sector agrícola, en el sector alimentario y en el sector industrial. El aceite de girasol objeto de la presente invención tiene una elevada estabilidad frente al calor, mucho mayor que otros aceites de girasol actualmente existentes. La elevada estabilidad frente al calor del aceite lo hace adecuado para procedimientos domésticos e industriales que requieren o provocan temperaturas elevadas, tanto en el sector alimentario (alimentos fritos) como en el sector industrial (biolubricantes, biocombustibles).

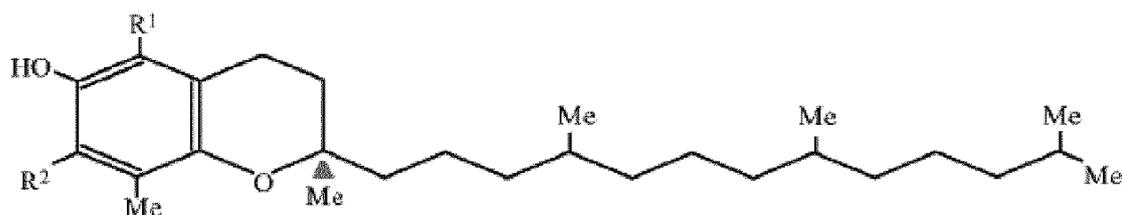
Estado de la técnica

10 El uso de aceites vegetales en tratamientos que requieren o provocan temperaturas elevadas depende de que los aceites tengan una buena estabilidad frente al calor o estabilidad térmica. El someter el aceite a condiciones de temperaturas elevadas típicas de los procedimientos de preparación de alimentos (fritura, cocción) o procedimientos de fricción (lubricación de motores y maquinaria) provoca una serie de procedimientos de degradación como oxidación, polimerización, hidrólisis, ciclación e isomerización, que dan lugar a la formación de productos con olores y sabores desagradables y con propiedades negativas desde el punto de vista nutricional (Bastida y Sánchez Muñiz, Thermal oxidation of olive oil, sunflower oil and a mix of both oils during forty discontinuous domestic fryings of different foods. *Food Science and Technology International*, 7:15-21, 2001). La aparición de estos procedimientos de degradación de aceites es inferior y, por lo tanto, la vida útil del aceite es mayor cuanto mayor sea la estabilidad frente al calor.

20 La estabilidad frente al calor de los aceites vegetales está determinada principalmente por su grado de insaturación y por la presencia en los mismos de sustancias con propiedades antioxidantes, que protegen al aceite durante el calentamiento y retrasan la aparición de procedimientos de degradación. El grado de insaturación del aceite está determinado por su perfil de ácidos grasos. Los ácidos grasos son más susceptibles a la oxidación a medida que aumenta el grado de insaturación o el número de enlaces dobles en su cadena hidrocarbonada. Entre los ácidos grasos más comunes en aceites vegetales, el ácido linoléico (poliinsaturado, tres enlaces dobles) es el más susceptible a la oxidación, seguido del ácido linoleico (monoinsaturado, un enlace doble) y los ácidos esteárico y palmítico (saturados, sin enlaces dobles) (F.B. Padley et al., 1994; Occurrence and characteristics of oils and fats. The Lipid Handbook, ed. F.D. Gunstone, J. L. Harwood and F. B. Padley, London: Chapman & Hall, pp. 47-223).

30 Las semillas de aceites producen de forma natural sustancias con propiedades antioxidantes, entre las cuales se encuentran los tocoferoles. Los tocoferoles son moléculas que consisten en un grupo cromanol y una cadena lateral de fitilo. Hay cuatro formas diferentes que se producen de forma natural de tocoferoles, denominadas alfa-, beta-, gamma- y delta-tocoferol, que difieren una de otra en el número y la posición de los grupos metilo (Me) en el anillo de cromanol (Fig. 1).

Figura 1. Estructura química de los tocoferoles



35

R1 = Me; R2 = Me: Alfa-tocoferol
 R1 = Me; R2 = H: Beta-tocoferol
 R1 = H; R2 = Me: Gamma-tocoferol
 R1 = H; R2 = H: Delta-tocoferol

40 Como son sustancias liposolubles, los tocoferoles presentes en las semillas de aceites pasan al aceite durante el procedimiento de extracción. En este lugar tienen una doble acción antioxidante. Por una parte, tienen una acción in vitro, es decir, protegen al aceite y los productos que lo contienen (alimentos preparados) o derivados del mismo (biocombustibles, biolubricantes) de la oxidación durante el almacenamiento y uso. Por otra parte, los tocoferoles son compuestos bioactivos que ejercen un importante efecto antioxidante in vivo, es decir, en la célula viva. Esta actividad antioxidante in vivo es conocida como actividad de vitamina E (G. Pongracz et al., Tocopherole, Antioxidantien der Natur. *Fat Science and Technology* 97: 90-104, 1995). Hay enormes diferencias entre los cuatro tipos de tocoferoles en relación con su actividad antioxidante in vitro e in vivo. Por lo tanto, el alfa-tocoferol se caracteriza por

45

5 tener una eficacia máxima como antioxidante in vivo o vitamina E, pero su actividad in vitro es baja en comparación con los otros tocoferoles. Tomando como referencia la actividad antioxidante al 100% para el alfa-tocoferol, Pon-gracz et al (1995, trabajo mencionado con anterioridad) determinaron la eficacia relativa como los antioxidantes in vivo de 50% para beta-tocoferol, 25% para gamma-tocoferol y 1% para delta-tocoferol. Por el contrario, la eficacia relativa como antioxidantes in vitro fue de 182% para beta-tocoferol, 194% para delta-tocoferol y 285% para gamma-tocoferol.

10 El aceite de girasol de forma natural tiene un perfil de ácidos grasos que consiste en ácido palmítico (4-8% de los ácidos grasos totales), ácido esteárico (2-6% de los ácidos grasos totales), ácido oleico (20-45% de los ácidos grasos totales) y ácido linoleico (45-70% de los ácidos grasos totales). La proporción relativa de ácidos grasos oleico y linoleico es variable y depende en gran medida de la temperatura durante el desarrollo de la semilla (Fernandez-Martínez et al., Performance of near-isogenic high and low oleic acid hybrids of sunflower. Crop Science 33: 1158-1163, 1993). Se ha desarrollado una amplia gama de líneas de girasol con perfiles modificados de ácidos grasos por medio de mejora genética. Las líneas principales desarrolladas y sus perfiles de ácidos grasos se muestran en la Tabla 1.

15 Tabla 1. Composición de ácidos grasos (%) del aceite de la semilla de los principales mutantes de girasol naturales o inducidos en comparación con el aceite estándar (tomado de la publicación de Fernandez-Martínez et al., Mejora de la calidad del girasol. Mejora Genética de la Calidad en Plantas. Editors: G. Llácer, M.J. Diez, J.M. Carrillo, and M.L. Badenes. Universidad Politécnica de Valencia, pag. 449-471, 2006).

| Mutante o línea | Composición de ácidos grasos (%) | | | | |
|---|----------------------------------|------|------|------|------|
| | 16:0 | 16:1 | 18:0 | 18:1 | 18:2 |
| Estándar ² | 5,7 | --- | 5,8 | 20,7 | 64,5 |
| | 6,5 | --- | 3,0 | 40,9 | 49,6 |
| Contenido bajo de ácidos grasos saturados | | | | | |
| LS-1 | 5,6 | 0,0 | 4,1 | 20,2 | 67,4 |
| LS-2 | 8,6 | 0,0 | 2,0 | 10,8 | 75,0 |
| LP-1 | 4,7 | 0,0 | 5,4 | 23,8 | 63,7 |
| RS1 | 3,9 | 0,0 | 2,6 | 40,1 | 51,8 |
| RS2 | 4,4 | 0,0 | 3,2 | 42,9 | 47,7 |
| Contenido elevado de ácido palmítico | | | | | |
| 275HP | 25,1 | 6,9 | 1,7 | 10,5 | 55,8 |
| CAS-5 | 25,2 | 3,7 | 3,5 | 11,4 | 55,1 |
| CAS-12 | 30,7 | 7,6 | 2,1 | 56,0 | 3,1 |
| Línea HP | 23,9 | 3,4 | 2,0 | 20,4 | 50,7 |
| CAS-37 ³ | 29,5 | 12,3 | 1,4 | 5,4 | 38,7 |
| Contenido elevado de ácido esteárico | | | | | |
| CAS-3 | 5,1 | 0,0 | 26,0 | 13,8 | 55,1 |
| CAS-4 | 5,4 | 0,0 | 11,3 | 34,6 | 48,0 |
| CAS-8 | 5,8 | 0,0 | 9,9 | 20,4 | 63,8 |
| CAS-14 | 8,4 | 0,0 | 37,3 | 12,4 | 38,0 |
| CAS-19 | 6,8 | 0,0 | 15,3 | 21,5 | 56,4 |
| CAS-20 | 5,7 | 0,0 | 7,7 | 35,9 | 50,5 |
| Contenido elevado de ácido oleico | | | | | |
| Pervenets | --- | --- | --- | 79,3 | 14,8 |
| M-4229 | 3,4 | --- | 4,1 | 86,1 | 3,9 |
| M-3067 | 3,9 | --- | 5,2 | 54,6 | 33,9 |
| Contenido elevado de ácido linoleico | | | | | |
| F6 sel. | --- | --- | --- | --- | 77,3 |
| 2698-1 | --- | --- | --- | --- | 78,0 |

¹16:0 = ácido palmítico; 18:0 = ácido esteárico; 16:1 = ácido palmitoleico

20 18:1 = ácido oleico; 18:2 = ácido linoleico.

²Datos de cultivos estándar obtenidos en entornos fríos y calientes, respectivamente.

³Datos no proporcionados por los autores.

El aceite de girasol se caracteriza por tener de forma natural un perfil de tocoferoles que consiste principalmente en alfa-tocoferol, que representa más de un 90% de los tocoferoles totales, siendo las proporciones de beta-, gamma- y delta-tocoferol menos de 5% de los tocoferoles totales (Demurin et al., Genetic variability of tocopherol composition in sunflower seeds as a basis of breeding for improved oil quality. *Plant Breeding* 115: 33-36, 1996). Han sido desarrolladas líneas de girasol con un elevado contenido de beta-tocoferol (más de 50% de los tocoferoles totales), un elevado contenido de gamma-tocoferol (más de 90% de los tocoferoles totales) y un elevado contenido de delta-tocoferol (más de 65% de los tocoferoles totales) por medio de mejora genética (Fernandez-Martinez et al., 2006, trabajo mencionado con anterioridad).

Han sido identificadas fuentes alternativas de variación para el perfil de tocoferoles en semillas de girasol. Ha sido identificado germoplasma de girasol que produce aceite que tiene niveles de gamma-tocoferol mayores que 85% en una búsqueda para mejorar la estabilidad oxidativa durante el almacenamiento y uso (L. Velasco and J.M. Fernandez-Martínez, Identification and genetic characterization of new sources of beta- and gamma-tocopherol in sunflower germplasm. *Helia* 26, no. 38: 17-24, 2003).

Se desarrollaron métodos para producir aceites de girasol que tienen ácidos saturados recientes y ácidos grasos insaturados elevados para usar el aceite en productos alimenticios o cosméticos sin necesidad de una hidrogenación que puede conducir a ácidos grasos trans nocivos (Martinez Force Enrique et al. US2004/088758 A1).

Los aceites de girasol con un bajo grado de insaturación, que consisten principalmente en ácidos grasos saturados (ácido esteárico y ácido palmítico) y ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico) tienen una mayor estabilidad frente al calor que el aceite de girasol estándar, con un mayor grado de insaturación (R. Garcés et al., High stable vegetable oils. WO99/64546). Análogamente, los aceites de girasol en los que el alfa-tocoferol ha sido parcialmente sustituido con otros tocoferoles con un mayor poder antioxidante in vitro, principalmente gamma- y delta-tocoferol, tienen una mayor estabilidad frente al calor que el aceite de girasol estándar, con un contenido elevado de alfa-tocoferol (L. Velasco and J. M. Fernandez-Martinez, Sunflower Seeds with High Delta-tocopherol Content. WO2004/089068). No se ha desarrollado hasta ahora ningún material de girasol vegetal cuyas semillas produzcan un aceite con un bajo grado de insaturación, determinado mediante un contenido elevado de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, y con un bajo contenido de alfa-tocoferol en su perfil de tocoferoles.

Descripción de la invención

Breve descripción

La presente descripción se refiere a un aceite de girasol extraído a partir de semillas de girasol que tienen una serie de propiedades en su perfil de ácidos grasos y en su perfil de tocoferoles que le confieren una mayor estabilidad frente al calor en comparación con cualquier otro aceite de girasol desarrollado hasta ahora.

El aceite de semillas de girasol objeto de esta invención tiene una elevada estabilidad frente al calor y se caracteriza por un contenido de ácidos grasos saturados, es particular ácido palmítico y ácido esteárico, entre 15% y 45% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite y un contenido de suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol de más de 85% de los tocoferoles presentes en el aceite, en que el contenido de tocoferoles totales es de al menos 500 mg por kg de aceite y en que la elevada estabilidad frente al calor es mayor que la del aceite de girasol que tiene solamente el perfil de ácidos grasos y tocoferoles modificado.

Este aceite puede tener también un contenido de ácido palmitoleico de más de 5% de los ácidos grasos totales, principalmente cuando el ácido graso saturado predominante es ácido palmítico. El contenido de ácido linoleico es de menos de 10%, preferentemente menos de 5% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite. Análogamente, la suma de gamma- y delta-tocoferol representa más de un 85% de los tocoferoles totales presentes en el aceite, siendo el contenido de alfa-tocoferol de menos de 15% de los tocoferoles totales y el contenido de tocoferoles totales en este aceite es entre 500 mg por kg de aceite y más de 1250 mg por kg de aceite.

Es también un aceite con una elevada estabilidad frente al calor, su índice de estabilidad de aceite (medida en un aparato Rancimat model 743 (Metrohm AG, Herisau, Suiza) después de un período de inducción de 10 horas a una temperatura de 110°C del aceite sin refinar) es entre 35 horas y más de 120 horas.

La presente descripción se refiere también a semillas de girasol que contienen un aceite con las características mencionadas y las plantas de girasol que, tras ser auto-fertilizadas, producen semillas con las características mencionadas. Actualmente no hay semillas de girasol que produzcan un aceite con la combinación de características en los perfiles de ácidos grasos y tocoferoles como el conseguido con las semillas de la presente descripción.

El uso del aceite para alimentos de seres humanos y animales, y para la producción de biolubricantes y biocombustibles, es también otro objeto de la presente invención.

El alcance de la protección está definido estrictamente por las reivindicaciones

Descripción detallada

La presente descripción se refiere a un aceite de girasol extraído de semillas producidas por plantas de la especie *Helianthus annuus L.* que producen un tipo de aceite especial con características de su perfil de ácidos grasos y perfil de tocoferoles que le confieren una excepcional estabilidad frente al calor.

5 La invención se refiere a un aceite de semillas de girasol, como se describe en las reivindicaciones, con una elevada estabilidad frente al calor con un contenido de ácidos grasos saturados, en particular ácido palmítico y ácido esteárico, entre 15% y 45% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, un contenido de ácido oleico entre 45% y 75% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite y un contenido de suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol de más de 85% de los tocoferoles totales presentes en el aceite), en que el contenido de tocoferoles totales es de al menos 500 mg por kg de aceite y la elevada estabilidad frente al calor es mayor que la de aceite de girasol que solo tiene modificado el perfil de ácidos grasos o de tocoferoles. La combinación de estas propiedades confiere al aceite una elevada estabilidad frente al calor.

10 Este aceite puede tener también un contenido de ácido palmitoleico de más de 5% de los ácidos grasos totales, principalmente cuando el ácido graso saturado predominante es ácido palmítico, con un contenido de ácido linoleico de menos de 10%, preferentemente menos de 5% de los ácidos grasos presentes en el aceite.

15 En una realización particular de la invención, el contenido de ácido palmitoleico es de más de un 5% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, en particular un 10% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite.

20 La máxima estabilidad de aceites para el aceite es conferida por los ácidos grasos saturados. Sin embargo, un contenido muy elevado de estos ácidos grasos en el aceite determina un punto de humeo bajo en los alimentos fritos y un bajo valor nutricional del aceite. El ácido oleico confiere al aceite una estabilidad del aceite menor que los ácidos grasos saturados, pero un punto de humeo mayor y un valor nutricional mayor. Los gamma- y delta-tocoferoles confieren al aceite una estabilidad del aceite mayor que el conferido por beta- y alfa-tocoferoles.

25 El contenido de alfa-tocoferol del aceite de la invención es de menos de 15% de los tocoferoles totales presentes en el aceite. El contenido de tocoferoles totales puede variar también en el intervalo entre 750 mg por kg de aceite y más de 1250 mg por kg de aceite.

Este aceite se obtuvo recombinando los siguientes caracteres individuales, ya previamente desarrollados en el girasol:

30 a) Elevado contenido de ácidos grasos saturados. Hay varias líneas de girasol que tienen entre 15% y 45% de los ácidos grasos en el aceite o sus semillas en la forma de ácidos grasos saturados, tanto en la forma de ácido palmítico (16:0) como en la forma de ácido esteárico (18:0). Se usaron dos tipos de líneas: 1) elevado contenido esteárico, cuyo contenido de ácido esteárico es entre 15% y 45% de los ácidos grasos totales en el aceite de las semillas y 2) elevado contenido palmítico, cuyo contenido de ácido palmítico es entre 15% y 45% de los ácidos grasos totales en el aceite de las semillas y cuyo contenido de ácido palmitoleico (16:1) es entre 5% y 15% de los ácidos grasos totales en el aceite de las semillas.

35 b) Elevado contenido de ácido oleico (18:1). Las líneas de girasol denominadas "elevado contenido oleico" usadas tienen entre 85% y 95% de los ácidos grasos en el aceite de sus semillas en la forma de ácido oleico. El contenido de ácido linoleico (18:2) es entre 2% y 10% de los ácidos grasos totales del aceite en sus semillas.

40 c) Elevado contenido de suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol Este carácter está presente en varias líneas de girasol, en las que la suma de ambos tocoferoles representa más de 85% de los tocoferoles totales presentes en las semillas. Se usaron dos tipos de líneas: 1) elevado contenido de gamma-tocoferol, en la que el contenido de gamma-tocoferol representa más de 85% de los tocoferoles totales en las semillas, que es capaz de alcanzar un valor de hasta 99% de los tocoferoles totales en las semillas, y 2) elevado contenido de delta-tocoferol, en las que el contenido de delta-tocoferol representa más de 65% de los tocoferoles totales en las semillas y el contenido de gamma-tocoferol representa más de 20% de los tocoferoles totales en las semillas, siendo la suma de delta-tocoferol y gamma-tocoferol de más de 85% de los tocoferoles totales en las semillas, y siendo capaz de alcanzar un valor de hasta un 99% de los tocoferoles totales en las semillas. Las semillas de ambos tipos de líneas dan lugar a un aceite en el contenido total de tocoferoles que está entre 500 y 1500 mg por kg de aceite, con los perfiles de tocoferoles anteriormente mencionados.

45 Como estos son caracteres de una elevada complejidad genética, la recombinación se realizó en dos etapas que se describen a continuación:

50 1) Recombinación de los caracteres de "elevado contenido de ácidos grasos saturados" y "elevado contenido de ácido oleico".

55 Se realizaron cruces entre las líneas con elevado contenido de ácidos grasos saturados (ácido palmítico y ácido esteárico) y la línea con elevado contenido de ácido oleico, y se obtuvo la semilla híbrida F₁. Esta semilla germinó y las plantas correspondientes fueron auto-fertilizadas para obtener la semilla F₂, que mostró una segregación de los

dos caracteres. Como cada uno de los caracteres individuales está controlado por 1-3 genes, la mayoría de los cuales son recesivos, fue necesario analizar una media de 100 semillas F_2 de cada uno de los cruces para obtener una semilla que tuviera la combinación de los caracteres buscados, es decir, un elevado contenido de ácidos grasos saturados y un elevado contenido de ácido oleico. La baja frecuencia de aparición de semillas que combinaban los dos caracteres hizo necesario analizar una media de 2.000 semillas de cada uno de los cruces para obtener un número suficiente de semillas con los dos caracteres combinados.

Con el fin de que la combinación de los caracteres modificados del perfil de ácidos grasos sea comercialmente útil, los caracteres deben ser heredables y deben ser expresados independientemente de las condiciones ambientales en las que se cultivan las plantas. Por esta razón, se realizó un procedimiento de selección que condujo a fijar los caracteres para verificar su estabilidad frente a diferentes condiciones ambientales. Para estos fines, se sembraron las semillas F_2 seleccionadas y se confirmó la estabilidad genética de los caracteres combinados por medio de un análisis de las semillas F_3 originadas a partir de la auto-fertilización de cada una de las plantas F_2 , y de las semillas F_4 originadas a partir de un número elevado de plantas F_3 cultivadas en diversos ambientes.

Como consecuencia de esta primera etapa, se obtuvieron plantas cuyas semillas tenían un elevado contenido de ácidos grasos saturados, entre 15% y 45% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, un elevado contenido de ácido oleico, entre 45% y 75% de los ácidos grasos totales, y un bajo contenido de ácido linoleico, de menos de 10% de los ácidos grasos totales.

2) Recombinación del nuevo carácter "contenido elevado de ácidos grasos saturados y contenido elevado de ácido oleico" con el carácter "contenido elevado de suma de gamma- y delta-tocoferol".

En esta segunda etapa, se usaron plantas obtenidas en la etapa 1) previa que se recombinan con un contenido elevado de ácidos grasos saturados (15-45% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite) y contenido elevado de ácido oleico (45-75% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite), así como plantas con un contenido elevado de suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol (más de 85% de los tocoferoles totales presentes en las semillas).

Después de realizar los cruces controlados entre las líneas con un contenido elevado de gamma- y delta-tocoferol con plantas F_3 con un contenido elevado de ácidos grasos saturados y un contenido elevado de ácido oleico, se obtuvo la semilla híbrida F_1 . Esta semilla germinó y las plantas correspondientes fueron auto-fertilizadas para obtener la semilla F_2 , que mostró una segregación para los tres caracteres objeto de la recombinación, es decir, contenido elevado de ácidos grasos saturados (ácido palmítico y ácido esteárico), contenido elevado de ácido oleico y contenido elevado de suma de gamma- y delta-tocoferol. Como el perfil de ácidos grasos buscado está controlado por 4-6 genes, y el perfil de tocoferoles buscado está controlado por 1-3 genes, generalmente recesivos, fue necesario analizar una media de 400 semillas F_2 de cada uno de los cruces para obtener una semilla que tuviera la combinación de los caracteres buscados, es decir, un contenido elevado de ácidos grasos saturados, un contenido elevado de ácido oleico y con contenido elevado de suma de gamma- y delta-tocoferol. La baja frecuencia de aparición de semillas que combinaban los dos caracteres hizo necesario analizar una media de 5.000 semillas de cada uno de los cruces para obtener un número suficiente de semillas con los dos caracteres combinados.

Con el fin de que la combinación de caracteres modificados del perfil de ácidos grasos sea comercialmente útil, debe ser heredable y debe ser expresado independientemente de las condiciones ambientales en las que se cultiven las plantas. Por esta razón, se realizó un procedimiento de selección que condujo a una fijación de los caracteres y a verificar su estabilidad bajo diferentes condiciones ambientales. Con esta finalidad, se sembraron las semillas F_2 seleccionadas y se confirmó la estabilidad genética de los caracteres combinados a través de un análisis de las semillas F_3 de cada una de las plantas F_2 y de las semillas F_4 originadas a partir de un número elevado de plantas F_3 . Estas plantas fueron cultivadas en diferentes ambientes, que sirvieron para confirmar que la expresión simultánea de un contenido elevado de ácidos grasos saturados, contenido elevado de ácido oleico y contenido elevado de suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol es el resultado de una herencia genética fija y estable que es expresada independientemente de las condiciones de cultivo de las plantas.

Como consecuencia de esta segunda etapa, se obtuvieron plantas cuyas semillas tenían un contenido elevado de ácidos grasos saturados, entre 15% y 45% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, un contenido elevado de ácido oleico, entre 45% y 75% de los ácidos grasos totales, y un contenido de suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol de más de 85% de los tocoferoles totales presentes en el aceite. Cuando una fuente de ácidos grasos saturados era una línea con un contenido elevado de ácido palmítico (15-45% de los ácidos grasos totales en el aceite), se observó también la presencia de un contenido de ácido palmitoleico de más de 5% de los ácidos grasos totales del aceite.

Teniendo en cuenta el intervalo en el contenido de ácidos grasos (ácidos palmítico, esteárico y oleico) y tocoferoles de las líneas de girasol usadas en las diferentes etapas de recombinación, las realizaciones particulares de la invención obtenidas incluyen aceites con un contenido de ácido esteárico de más de 15%, más de 25% y más de 35% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite. Otras realizaciones particulares de la invención tienen un contenido de ácido palmítico de más de 15%, más de 25% y más de 35% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite.

En otras dos realizaciones particulares de la invención, el aceite de la invención tiene un contenido de gamma-tocoferol de más de 85%, en particular más de 95% de los tocoferoles totales presentes en el aceite.

5 En otras realizaciones particulares de la invención, el aceite tiene un contenido de delta-tocoferol de más de 25% de los tocoferoles totales presentes en el aceite, en particular más de 55% de los tocoferoles totales presentes en el aceite y, en particular, más de 75% de los tocoferoles totales presentes en el aceite.

10 Debido al perfil de ácidos grasos con un bajo nivel de insaturación, que es la causa principal de la oxidación y la baja estabilidad frente al calor de los aceites vegetales, y a la presencia de una proporción elevada de tocoferoles con una fuerte acción protectora contra la oxidación y el efecto de temperaturas elevadas, el aceite extraído a partir de la semillas producidas mediante las plantas anteriormente descritas tiene una estabilidad frente al calor excepcional, mucho mayor que cualquier otro aceite de girasol convencional, y también mayor que cualquier otro aceite de girasol que tenga solamente el perfil de ácidos grasos o el perfil de tocoferoles modificado.

El índice de estabilidad del aceite (OSI) del aceite objeto de la presente invención, medido en un aparato Rancimat model 743 (Metrohm AG, Herisau, Suiza) después de un período de inducción de 10 horas a una temperatura de 110°C del aceite sin refinar varía en el intervalo entre 35 y 120 horas.

15 La degradación termo-oxidativa del aceite se evalúa estudiando la degradación de los tocoferoles presentes en dicho aceite y la aparición de compuestos y polímero polares durante el calentamiento. El aceite objeto de la presente invención tiene una degradación termo-oxidativa menor que la del aceite obtenido a partir de semillas usadas como semillas parentales, que tienen un porcentaje inferior (la mitad) de formación de polímeros y compuestos polares.

20 Dadas estas características técnicas del aceite de la invención, con una estabilidad del aceite elevada y una resistencia elevada frente a la degradación termo-oxidativa, este aceite puede ser adecuadamente usado en alimentos para seres humanos y/o animales. El aceite de la invención puede ser usado también en la producción de biolubricantes y/o biocombustibles.

25 El aceite de la invención puede ser obtenido a partir de la extracción de semillas de girasol de la línea de semillas IAS-1265, depositada el 20 de marzo de 2007 en la entidad NCIMB (National Collection of Industrial, Marine and Food Bacteria) Ltd., Aberdeen, Escocia, con el número de acceso NCIMB-41477.

Las semillas de girasol de la línea de girasol IAS-1265, depositada el 20 de marzo en el banco de semillas de la entidad NCIMB Ltd., Aberdeen, Escocia, con el número de acceso NCIMB-41477, o las semillas de girasol originadas a partir de la misma, pueden ser usadas para obtener el aceite de la invención.

30 En la presente memoria descriptiva se describen las mezclas de aceites que contienen el aceite de la invención, así como la harina obtenida como el residuo del procedimiento de extracción para extraer el aceite a partir de las semillas de girasol.

35 También se describen en la presente memoria descriptiva semillas de girasol que contienen un aceite con las características del aceite de la invención. Son semillas procedentes de plantas que, después de su germinación, contienen en sus semillas, tras ser auto-fertilizadas, un aceite con las características del aceite de la invención, independientemente de las condiciones de cultivo de las plantas. En un aspecto particular, las semillas que contienen un aceite con las características del aceite de la invención proceden de la línea de girasol IAS-1265, depositada el 20 de marzo de 2007 en el banco de semillas NCIMB Ltd. Aberdeen, Escocia, con el número de acceso NCIMB-41477. Estas semillas pueden ser usadas para obtener el aceite de la invención.

40 Se describen también en la presente memoria descriptiva plantas de girasol (*Helianthus annuus L.*) que, tras ser auto-fertilizadas, producen las semillas que contienen el aceite de la invención.

Realizaciones

Obtención de las semillas

5.1. Recombinación de los caracteres "contenido elevado de ácidos grasos saturados" y "contenido elevado de ácido oleico"

45 Se tomaron aleatoriamente 48 semillas de cada una de las líneas de girasol NP-40, con un contenido elevado de ácido palmítico en el aceite (más de 15% de los ácidos grasos totales), desarrolladas por medio de mutagenésis química, y BSD-2-423, con un contenido elevado de ácido oleico en el aceite (más de 85% de los ácidos grasos totales) y se analizó la composición o perfil de ácidos en el aceite de cada una de las semillas individuales. Como el análisis de las semillas no puede ser destructivo, porque después del análisis las semillas debe ser capaces de germinar, el análisis se realizó por medio del procedimiento de la mita de las semillas. Dicho procedimiento consiste en cortar una pequeña parte de la semilla alejada del embrión, de forma que el corte no afecte a la capacidad germinadora de la semilla. La parte del corte se analiza seguidamente en cuanto a su perfil de ácidos grasos por medio de cromatografía de gases de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (R. Garcés y M. Mancha, One-setp lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. Analytical Biochemistry, 211:139-143, 1993) y

el resto de la semilla que contiene el embrión se almacena en condiciones óptimas con el fin de que su germinación se produzca dependiendo de los resultados analíticos.

Una vez que se ha confirmado el perfil de ácidos grasos de cada una de las semillas, dichas semillas germinaron y las plantas correspondientes se cultivaron en un invernadero que se realizaron cruces controlados entre plantas NP-40 y plantas BSD-2-423. Estos cruces consisten en suprimir la vitalidad o los órganos masculinos de las flores al amanecer, antes de que las anteras se abran para liberar el polen, en plantas que van a ser usadas como parentales hembras, seguido de una polinización artificial usando polen de las plantas que van a ser usadas como parentales machos. En este ejemplo, se usaron las plantas BSD-2-423 como el parental hembra y se usaron las plantas NP-40 como el parental macho, aunque se obtiene el mismo resultado usando las parentales en sentido opuesto.

Las semillas híbridas resultantes de los cruces, denominadas semillas F_1 , se analizaron en cuanto a su perfil de ácidos grasos por medio del procedimiento de la media semilla anteriormente expuesto. El contenido medio de ácido palmítico en las semillas F_1 fue de 7,3% de los ácidos grasos totales en el aceite, en comparación con un 30,0% de las semillas de las plantas NP-40 y un 3,5% en las semillas de las plantas BSD-2-423. El contenido medio de ácido oleico de las semillas F_1 fue de 69,8% de los ácidos grasos totales en el aceite, en comparación con un 8,0% en las semillas NP-40 y un 89,6% en las semillas BSD-2-423.

Germinaron 150 semillas F_1 y las plantas correspondientes fueron auto-fertilizadas para obtener las semillas F_2 , que fueron analizadas en cuanto a su perfil de ácidos grasos. Se analizaron 2.348 semillas F_2 , siendo observada la segregación para los contenidos de ácido palmítico y ácido esteárico. El contenido de ácido palmítico en las semillas F_2 varió en el intervalo entre 3,1% y 37,8% de los ácidos grasos totales en el aceite. El contenido de ácido oleico en las semillas F_2 mostró un intervalo de variación entre 6,9% y 92,2% de los ácidos grasos totales en el aceite. De las 2.348 semillas analizadas, 104 de ellas mostraron una combinación de contenido elevado de ácido palmítico, mayor que el 15% de los ácidos grasos totales, y un contenido elevado de ácido oleico, mayor que un 45% de los ácidos grasos totales en el aceite. De estas 104 semillas, la semilla con un contenido mayor de ácido palmítico presentó un contenido de ácido palmítico de 34% y un contenido de ácido oleico de 55% de los ácidos grasos totales, mientras que la semilla con un contenido superior de ácido oleico tenía un contenido de ácido palmítico de 18% y un contenido de ácido oleico de 73% de los ácidos grasos totales.

Las semillas F_2 seleccionadas se sembraron y se confirmó la estabilidad genética de los caracteres combinados por medio de un análisis de las semillas F_3 de cada una de las plantas F_2 . El análisis de un total de 3.744 semillas dio como resultado una composición de ácidos grasos del aceite de las semillas que consistió en un contenido medio de 27,7% \pm 3,4% (media \pm desviación típica) de ácido palmítico, 7,2% \pm 1,7% de ácido palmitoleico, 1,4% \pm 0,3% de ácido esteárico, 59,8% \pm 4,9% de ácido oleico y 3,9% \pm 1,0% de ácido linoleico.

5.2. Recombinación de los caracteres "contenido elevado de ácidos grasos y contenido elevado de ácido oleico" con el carácter "contenido elevado de suma de gamma- y delta-tocoferol".

Se tomaron 48 semillas F_3 obtenidas en la etapa previa, las cuales combinaban un contenido elevado de ácido palmítico (más de 15%) y un contenido elevado de ácido oleico (más de 45%) y 48 semillas de la línea T2100, con un contenido elevado de gamma-tocoferol (más de 85%) y se analizó para cada una tanto la composición o perfil de ácidos en el aceite como la composición o perfil de tocoferoles de cada una de las semillas individuales. Este análisis se realizó mediante el procedimiento de la media semilla anteriormente descrito. La parte de corte de la semilla se dividió en dos mitades y se analizó el perfil de ácidos grasos en una mita por medio de cromatografía de gases de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (R. Garcés y M. Mancha, 1993, trabajo anteriormente mencionado) y se analizó el perfil de tocoferoles en la otra mitad por medio de cromatografía líquida de alta resolución - HPLC (F. Goffman et al., Quantitative determination of tocopherols in single seeds of rapeseed, *Brassica napus* L., *Fett/Lipid* 101:142-145, 1999).

Una vez que se confirmó el perfil de ácidos grasos y tocoferoles de cada una de las semillas, dichas semillas germinaron y las plantas correspondientes se cultivaron en un invernadero y se realizaron cruces controlados entre plantas procedentes de semillas F_3 y plantas T2100, análogamente a lo descrito en la sección 5.1. Las semillas F_1 fueron analizadas en cuanto a sus perfiles de ácidos grasos y tocoferoles. El contenido medio de ácido palmítico en las semillas F_1 fue de 6,8% de los ácidos grasos totales en el aceite, en comparación con 28,9% en las semillas de las plantas NP-40 y 3,2% en las semillas de las plantas T2100. El contenido de ácido oleico de las semillas F_1 fue de 72,6,8% de los ácidos grasos totales en el aceite, en comparación con 90,3% en las semillas BSD-2-423 y 12,1% en las semillas de T2100. El contenido de gamma-tocoferol de las semillas F_1 fue de 1,2% de los tocoferoles totales, en comparación con 0,0% en las semillas NP-40 y BSD-2-423 usadas como testigo, y 99,2% en las semillas T2100.

Germinaron 100 semillas F_1 y las plantas correspondientes y las plantas correspondientes fueron auto-fertilizadas para obtener las semillas F_2 , que fueron analizadas en cuanto a su perfil de ácidos grasos. Se analizaron 8.952 semillas F_2 , siendo observada la segregación para los contenidos de ácido palmítico, ácido oleico y tocoferoles. El contenido de ácido palmítico en las semillas F_2 varió en el intervalo entre 2,2% y 37,6% de los ácidos totales en el aceite. El contenido de ácido oleico en las semillas F_2 mostró un intervalo de variación entre 5,8% y 94,2% de los ácidos grasos totales en el aceite. El contenido de gamma-tocoferol mostró una variación entre 0,0% y 99,6% de los tocoferoles totales en las semillas. De las 8.952 semillas analizadas, 51 de ellas mostraron una combinación de

contenido elevado de ácido palmítico, más de 15% de los ácidos grasos totales, un contenido elevado de ácido oleico, más de 45% de los ácidos grasos totales en el aceite y un contenido elevado de gamma-tocoferol, más de 85% de los tocoferoles totales en las semillas.

5 Se sembraron las semillas F₂ seleccionadas y se confirmó la estabilidad genética de los caracteres combinados por medio de un análisis de las semillas F₃ de cada una de las plantas F₂. El análisis de un total de 3.204 semillas F₃ dio lugar a una composición de ácidos grasos del aceite de las semillas que consistía en un contenido medio de 28,9% ± 3,3% (media ± desviación típica) de ácido palmítico, 7,3% ± 1,1% de ácido palmitoleico, 1,6% ± 0,5% de ácido esteárico, 52,5% ± 3,9% de ácido oleico y 4,2% ± 0,7% de ácido linoleico, y una composición de la fracción de tocoferoles que consistía en 2,8% ± 1,3% de alfa-tocoferol, 96,6% ± 1,8% de gamma-tocoferol y 0,6% ± 0,2% de delta-tocoferol.

Extracción del aceite

15 Se usó una tanda de 150 g de semillas F₃ para extraer el aceite usando éter de petróleo (punto de ebullición 40-60°C) y un sistema de extracción Soxhlet, siguiendo el procedimiento de la Asociación Española de Normalización (Catálogo de normas UNE. Madrid, 1991). El aceite fue analizado en cuanto a su composición de ácidos grasos y tocoferoles, dando lugar a una composición de ácidos grasos que consistía en 29,2% de ácido palmítico, 7,5% de ácido palmitoleico, 1,7% de ácido esteárico, 52,4% de ácido oleico y 4,2% de ácido linoleico y una composición de la fracción de tocoferoles que consistía en 2,4% de alfa-tocoferol, 96,4% de gamma-tocoferol y 1,2% de delta-tocoferol.

Características técnicas del aceite obtenido

20 a) Estudio del índice de estabilidad del aceite (OSI) en diferentes tipo de aceites de girasol. El índice de estabilidad del aceite (OSI) se midió después de calentar a 110°C durante 10 horas siguiendo el protocolo estándar de la entidad the American Oil Chemists' Society (Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 4th edition, AOCS, Champaign, IL, U.S.A., 1994) en los siguientes tipos de aceite de girasol:

Aceite 1: Aceite de girasol estándar (perfiles estándar de ácidos grasos y tocoferoles)

Aceite 2: Aceite con contenido elevado de ácido oleico y perfil estándar de tocoferoles

25 Aceite 3: Aceite con contenido elevado de ácido palmítico, contenido elevado de ácido oleico y perfil estándar de tocoferoles

Aceite 4: Aceite objeto de la presente invención con un contenido elevado de ácido palmítico, contenido elevado de ácido oleico y perfil modificado de tocoferoles (contenido elevado de gamma-tocoferol).

30 La composición de ácidos grasos y tocoferoles de los cuatro tipos de aceite de girasol, así como el OSI después de calentar a 110°C durante 10 horas, se muestran en la Tabla 2:

Tabla 2. Composición de ácidos grasos y tocoferoles de los cuatro tipos de aceite de girasol, así como el OSI después de calentar a 110°C durante 10 horas de cuatro tipos de aceite de girasol:

| Aceite | Ácidos grasos (%) ^a | | | | | Tocoferoles (%) ^b | | | | OSI (h) |
|--------|--------------------------------|------|------|------|------|------------------------------|-----|------|-----|---------|
| | 16:0 | 16:1 | 18:0 | 18:1 | 18:2 | A-T | B-T | G-T | D-T | |
| 1 | 6,9 | 0,0 | 5,8 | 34,1 | 53,2 | 99,9 | 0,1 | 0,0 | 0,0 | 1,2 |
| 2 | 4,3 | 0,0 | 3,1 | 90,4 | 2,2 | 99,9 | 0,1 | 0,0 | 0,0 | 1,5 |
| 3 | 28,2 | 7,8 | 1,7 | 56,9 | 2,1 | 99,9 | 0,1 | 0,0 | 0,0 | 17,1 |
| 4 | 29,2 | 7,5 | 1,7 | 52,4 | 4,2 | 2,4 | 0,0 | 96,4 | 1,2 | 49,5 |

^a16:0 = ácido palmítico; 18:0 = ácido esteárico; 18:1 = ácido oleico; 18:2 ácido linoleico; 16:1 ácido palmitoleico

^bA-T = alfa-tocoferol; B-T = beta-tocoferol; G-T = gamma-tocoferol; D-T = delta-tocoferol

35 b) Estudio de la degradación de tocoferoles y la aparición de compuestos y polímeros polares durante el calentamiento

40 Para estudiar el efecto sinérgico de la modificación del perfil de tocoferoles de perfiles de ácidos grasos ya modificados en el aceite, los aceites 3 y 4 descritos en la sección a) fueron sometidos a temperatura elevada (180°C) durante un período de tiempo prolongado (25 horas) y se midieron los siguientes parámetros directamente relacionados con la degradación termo-oxidativa del aceite:

- Contenido de tocoferoles totales, expresados dichos tocoferoles como mg totales de tocoferoles por kg de aceite, medido según el método estándar de la entidad Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC, Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. 1st supplement to 7th edition. Pergamon Press, Oxford, Reino Unido, 1992).

- Formación de compuestos polares, expresados con el % del peso total del aceite, medida según el método descrito

por M.C. Dobarganes et al. (High-performance size exclusion chromatography of polar compounds in heated and non-heated fats, Fat Science and Technology 90: 308-311, 1988).

- Formación de polímeros, expresada como el T del peso total de aceite, medida según el método estándar de la entidad International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC, 1992, trabajo anteriormente mencionado).

5 Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Contenido de tocoferoles totales (mg kg⁻¹), contenido de compuestos polares (%) y contenido de polímeros (%) de dos tipos de aceite después de calentar a 180°C durante 25 horas.

| Aceite | Tocoferoles (%) ^a | | | | Tocoferoles (mg kg ⁻¹) | | Compuestos polares (%) | | Polímeros (%) | |
|--------|------------------------------|-----|------|-----|------------------------------------|-----------------|------------------------|------|---------------|-----|
| | A-T | B-T | G-T | D-T | 0 ^b | 25 ^b | 0 | 25 | 0 | 25 |
| 3 | 99,9 | 0,1 | 0,0 | 0,0 | 826 | 0 | 3,0 | 21,0 | 0,0 | 8,7 |
| 4 | 2,4 | 0,0 | 96,4 | 1,2 | 808 | 135 | 3,2 | 10,7 | 0,0 | 4,0 |

^aA-T = alfa-tocoferol; B-T = beta-tocoferol; G-T = gamma-tocoferol; D-T = delta-tocoferol

^bIndica los niveles iniciales (0) y los obtenidos después de 25 horas de calentamiento (25) en las condiciones anteriormente indicadas

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor y con un contenido de ácidos grasos saturados, en particular ácido palmítico y ácido esteárico, entre 15% y 45% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, un contenido de ácido oleico entre 45% y 75% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite y un contenido de suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol de más de 85% de los tocoferoles totales presentes en el aceite, en que el contenido de tocoferoles totales es de al menos 500 mg por kg de aceite y en que la estabilidad elevada frente al calor es mayor que la de un aceite de girasol que solo tiene el perfil de ácidos grasos o tocoferoles modificado.
- 10 2. El aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido de alfa-tocoferol es de menos de 15% de los tocoferoles totales presentes en el aceite.
3. El aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido de ácido esteárico es de más de 15% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, en particular de más de 25% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, más en particular de más de 35% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite.
- 15 4. El aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido de ácido palmítico es de más de un 15% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, en particular de más de un 25% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, más en particular de más de 35% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite.
- 20 5. El aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido de gamma-tocoferol es de más de 85% de los tocoferoles totales presentes en el aceite, en particular de más de 95% de los tocoferoles totales presentes en el aceite.
- 25 6. El aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido de delta-tocoferol es de más de un 25% de los tocoferoles presentes en el aceite, en particular de más de 55% de los tocoferoles totales presentes en el aceite, en particular de más de 75% de los tocoferoles totales presentes en el aceite.
7. El aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido de ácido palmitoleico es de más de 5% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, en particular de más de 10% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite.
- 30 8. El aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido de ácido linoleico es de menos de un 10% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite, preferentemente menos de un 5% de los ácidos grasos totales presentes en el aceite.
9. El aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque el contenido de tocoferoles totales es de más de 750 mg por kg de aceite y, más preferentemente, de más de 1250 mg por kg de aceite.
- 35 10. El aceite de semillas de girasol con una estabilidad elevada frente al calor según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque el índice de estabilidad del aceite medido en un aparato Rancimat model 743 (Metrohm AG, Herisau, Suiza) después de un período de inducción de 10 horas a una temperatura de 110°C sobre el aceite sin refinar es de más de 35 horas, preferentemente más de 50 horas, más preferentemente más de 75 horas, incluso más preferentemente más de 100 horas, lo más preferentemente más de 120 horas.
- 40 11. Uso de semillas de girasol de la línea de girasol IAS-1265, depositada el 20 de marzo de 2007 en el banco de semillas de la entidad NCIMB Ltd. Aberdeen, Escocia, con número de acceso NCIMB-41477, o semillas de girasol procedentes de la misma, para obtener el aceite descrito en las reivindicaciones 1 a 10.
- 45 12. Uso de un aceite de girasol según las reivindicaciones 1 a 10 para alimentos para seres humanos y animales o para la producción de biolubricantes y biocombustibles.