

Organización y
CSA Ltd.

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Pat

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones



SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

10-74426

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO ACEITE DE GIRASOL CON ELEVADA TERMOESTABILIDAD

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A23D 9/00

71. SOLICITANTE CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

DOMICILIO MADRID, ESPAÑA

74. APODERADO LUIS FELIPE CASTILLO

22. BOGOTÁ, D.C., 21 JUN 2010

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-074436- -00000-0000

Fecha: 2010-06-21 16:46:06
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 29

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☒

Capítulo I

☐

Capítulo II

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: **CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES CIENTIFICAS**

Dirección: Calle Serrano, 117

Nacionalidad o domicilio: Madrid, España

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____
Número _____

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: **LUIS FELIPE CASTILLO GIBSONE**

Dirección: Carrera 13 No. 37-43 Piso 12

Teléfono: 285 74 60 Fax: 285 92 67

E-mail info@castillograu.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ OTRO ☐

Cual _____
Número 79.397.879 de TP 68.995 del
Bogotá C.S.J.

4

**INVENTOR(ES)
(72)**

Nombre: **Leonardo VELASCO VARO - Jose Maria FERNANDEZ MARTINEZ - Begonia PEREZ VICH**

Dirección Instituto de Agricultura Sostenible (IAS) Apartado 4084 (3)

Nacionalidad o Domicilio: Córdoba, España

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/ES2008/070220

Fecha: 27/11/2008

Publicación Internacional No. WO 2009/080858 A1

Fecha: 02/07/2009

6

Título (54) ACEITE DE GIRASOL CON ELEVADA TERMOESTABILIDAD

7

Clasificación Internacional (51) A23D 9/00

8

Prioridad

Si

☒

No

☐

(33) País de origen
ESPAÑA

(32) Fecha
21.12.2007

(31) Número de Solicitud
P200703417

9

Comprobante de pago N°:

Fecha:

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

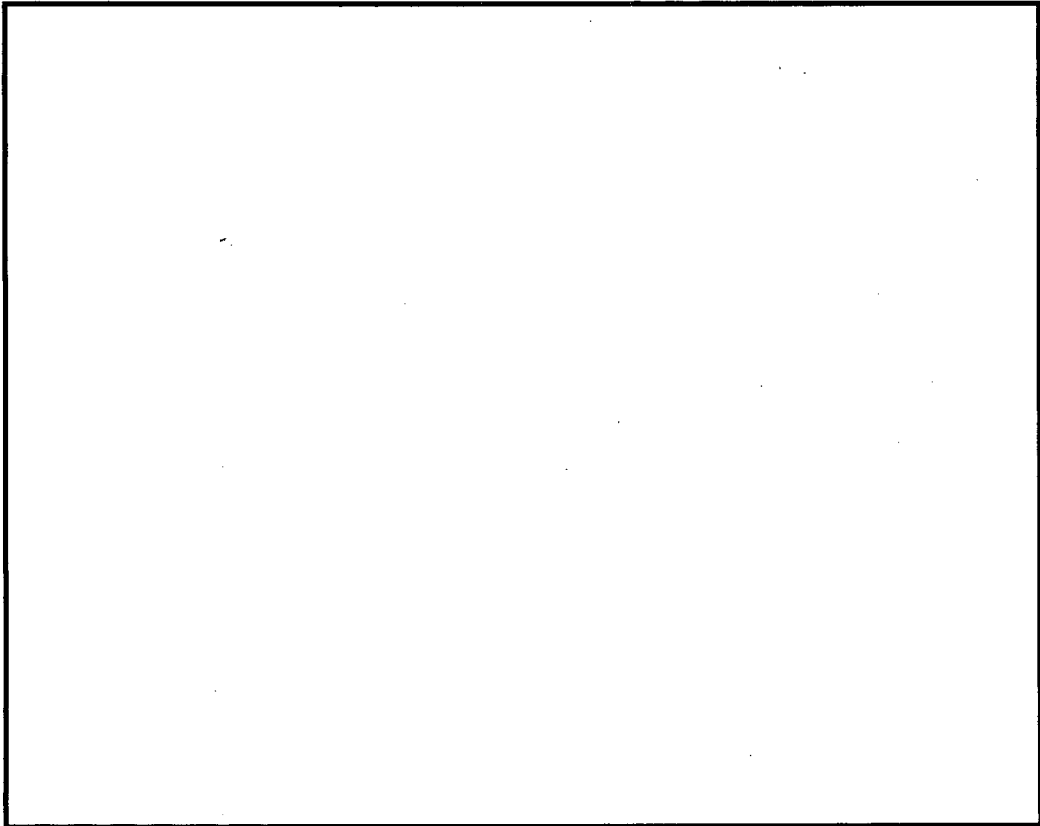
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso
- ☒ Certificado de existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Documento de Cesión del inventor al solicitante o a su acusante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito de material biológico.
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ Otros

11

FIGURA CARACTERISTICA



12

Solicito la concesión de patente,

NOMBRE: LUIS FELIPE CASTILLO GIBSONE

FIRMA:

G.C. 79.397.879
de Bogotá

T.P. 68.995
del C.S.J.

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-074436- -00000-0000

Fecha: 2010-06-21 16:46:06 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 29

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

MIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 49,647
FECHA : JUNIO 21 DE 2010

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAEO	BANCO	CUENTA	No. PAEO	FECHA PEO	VAL. PAEO
CASTILLO GRAU Y ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754327	355164681	21/06/2010	12,743,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1.	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL :	\$ 554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

9/15/7

4

Castillo Grau & Associates

Law Offices
P.O. Box 251473
Bogotá, Colombia

FOR PATENTS AND TRADEMARKS IN

COLOMBIA

PODER

(1) Consejo Superior de Investigaciones Cientificas
domicillado en (2)
Calle Serrano 117, ES-28006 Madrid, España

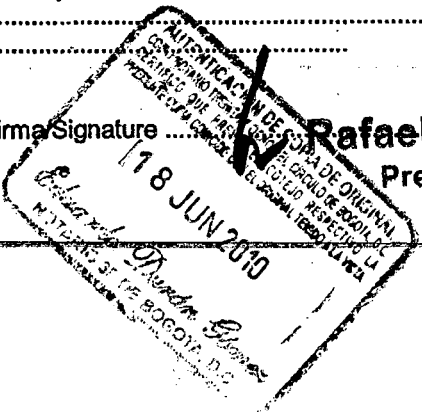
nombra al Dr. Germán Castillo Grau y/o Adriana Castillo
Gibsone y/o Luis Felipe Castillo Gibsone

.....
con oficinas en la Carrera 13 No. 37-43, Piso 12 en
Santafé de Bogotá, D.C., Colombia como sus
representantes con poder especial amplio y suficiente,
para recabar de las oficinas y autoridades Colombianas,
administrativas, judiciales o de policía, en primera o
segunda Instancia, la Obtención de Patentes de
Invención, Registro de Marcas, de Diseños Industriales,
de Nombres y Enseñas Comerciales, de Registros
Sanitarios, Nombres de Dominio, lo mismo que
traspasos, extensiones, renovaciones, cambios de
nombre y domicilio, registro de licencias de explotación
y registro de licencias de uso referentes a tales
actuaciones, a cuyo efecto les faculta para dar ante
dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto
indicado, elevar solicitudes, formular descripciones,
enmiendas, protestas, declaraciones, apelaciones y
reclamos, solicitar la aplicación de medidas cautelares,
aceptar en nuestro nombre y representación la Cesión
de derechos de invención y de patente de invención que
se nos haga por cualquier persona, abonar todos los
impuestos cuotas y pagos determinados por la ley,
recibir todos los documentos y valores dando el
descargo respectivo, llenar cualesquiera otros
requisitos, desistir, y tomar en fin todas las medidas que
creyeren conducentes al resguardo de nuestros
intereses y en caso de presentarse oposiciones para
que intervengan como demandantes o como
demandados, con todas las demás facultades legales
necesarias. Este poder comprende además las
facultades de recibir, desistir, transigir, comprometer,
sustituir, revocar sustituciones, recibir notificaciones y
nombrar apoderados judiciales o extra-judiciales

Dado y firmado en (4)

Firma Signature

Rafael Rodrigo
Rafael Rodrigo
Presidente



POWER OF ATTORNEY

Consejo Superior de Investigaciones Cientificas
(1)
domiciled in Calle Serrano 117, ES-28006 Madrid, Spain

hereby appoint Dr. Germán Castillo Grau and/or Adriana
Castillo-Gibsone and/or Luis Felipe Castillo-Gibsone
.....

.....
with offices at Carrera 13 No. 37-43, 12th Floor in
Bogotá, Colombia as our representatives with special
ample and sufficient power to obtain from the offices and
Colombian authorities, administrative, judicial and police,
in first or in second Instance, Patents of Invention,
registration of Trade or Service Marks, Industrial
Designs, of Commercial Names and Ensigns, Health
and Sanitary Registrations, Domain Names, as well as
assignments, extensions, renewals, changes of names
and addresses, registration of licences of exploitation
and licences of use referring to said actions who are
empowered to take before said authorities all of the
necessary steps for the purposes indicated, to file
applications, to formulate descriptions, corrections,
protests, declarations, appeals and claims, apply for
precautionary measures, to accept on our behalf and
representation the assignment of rights on invention and
titles of invention that may be done to us by any person,
to pay all taxes, quotas and payments prescribed by law,
to receive all the documents and proceeds giving the
respective acquittance or receipt, to fulfill any other
requisites to desist and take in fact any other measures
that may be deemed conducive to the safeguard of our
interests, and in case oppositions are presented to
intervene as plaintiff or defendant, with all necessary
legal faculties. This power includes the faculties to
receive, desist, compromise, transact, substitute it in all
or in part, to revoke substitutions, to receive notifications
and to appoint judicial or extra-judicial attorneys.

Given and signed in (4)



LEGITIMACIÓN: YO, ISABEL GRIFFO NAVARRO,
Notario del Ilustre Colegio de Madrid, con residencia en
la Capital, **DOY FE:** Que conozco y considero legitima la
firma y rubrica que antecede de **DON RAFAEL RODRIGO
MONTERO**, con D.N.I. y N.I.F. número 24093493-G, co-
mo Presidente, cargo que me consta ejerce por notorie-
dad, de la Agencia Estatal **CONSEJO SUPERIOR DE IN-
VESTIGACIONES CIENTÍFICAS, (CSIC)** por ser semejan-
te a la que figura en mi protocolo numero 295/09 de fe-
cha diecinueve de febrero de 2009. Y para que conste la
expido en el presente folio de los Colegios Notariales de
España, en Madrid, a treinta de Marzo de dos mil -
nueve.-



Apostille (o legalización única)
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)
(Real Decreto 2433/1978, de 2 de octubre)

1. Pais: *España*
El presente documento público
2. Ha sido firmado por *Dª Isabel Griffo Navarro*
3. Actuando en calidad de *NOTARIO*
4. Se halla sellado/timbrado con *el de su Notaría*

CERTIFICADO
En Madrid 6. El *02 ABR. 2009*
Por el Decano del Colegio Notarial de Madrid
Con el número *18734*
Sello/timbre: 10. Firma:

Don Luis Quiroga Gutierrez
Firma delegada del Decano

5

ACEITE DE GIRASOL CON ELEVADA TERMOESTABILIDAD

SECTOR DE LA TÉCNICA

5 La invención se enmarca en el sector de la agricultura, en el sector
alimentario, y en el sector industrial. El aceite de girasol objeto de la presente
invención presenta una elevada termoestabilidad, muy superior a la de otros
aceites de girasol existentes en la actualidad. La elevada termoestabilidad del
aceite lo hace idóneo para procesos domésticos e industriales que requieran o
10 provoquen elevadas temperaturas, tanto en el sector alimentario (frituras) como
en el sector industrial (biolubricantes, biocombustibles).

ESTADO DE LA TÉCNICA

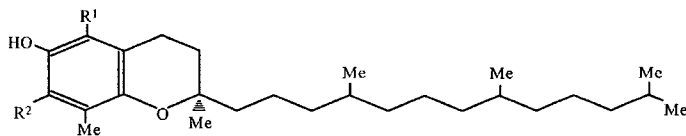
15 El empleo de aceites vegetales en procesos que requieran o provoquen
elevadas temperaturas demanda que los aceites posean una elevada
estabilidad térmica o termoestabilidad. El sometimiento del aceite a condiciones
de elevadas temperaturas propias de procesos de elaboración de alimentos
(fritura, horneado) o procesos de fricción (lubricación de motores y maquinaria)
provoca una serie de procesos degradativos del aceite, tales como oxidación,
20 polimerización, hidrólisis, ciclización, 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*
25 *Thechnology International*, 7:15-21, 2001). La ocurrencia de estos procesos
degradativos del aceite es tanto menor, y por tanto la vida útil del aceite es tanto
mayor, cuanto mayor es su termoestabilidad.

30 La termoestabilidad de los aceites vegetales está principalmente
determinada por su grado de insaturación y por la presencia en el mismo de
substancias con propiedades antioxidantes, que protegen al aceite durante el
calentamiento y retrasan la aparición de los procesos degradativos. El grado de
insaturación del aceite está determinado por su perfil de ácidos grasos. Éstos

son más susceptibles a la oxidación a medida que aumenta el grado de insaturación o número de dobles enlaces en su cadena hidrocarbonada. Entre los ácidos grasos más comunes en aceites vegetales, el ácido linolénico (poliinsaturado, tres dobles enlaces) es el más susceptible a la oxidación, seguido de ácido linoleico (poliinsaturado, dos dobles enlaces), ácido oleico (monoinsaturado, un doble enlace), y ácidos esteárico y palmítico (saturados, sin dobles enlaces) (F.B. Padley y col., 1994; Occurrence and characteristics of oils and fats. En *The Lipid Handbook*, ed. F.D. Gunstone, J.L. Harwood y F.B. Padley, London: Chapman & Hall, pp 47-223).

Las semillas oleaginosas producen de forma natural sustancias con propiedades antioxidantes, dentro de las que destacan los tocoferoles. Los tocoferoles son moléculas formadas por un grupo cromanol y una cadena lateral fitil. Existen en la naturaleza cuatro formas diferentes de tocoferoles, denominados alfa-, beta-, gamma-, y delta-tocoferol, que difieren entre sí por el número y posición de grupos metilo (Me) en el anillo cromanol (Fig. 1).

Fig. 1. Estructura química de los tocoferoles



- R1=Me; R2=Me: Alpha-tocopherol
- R1=Me; R2=H: Beta-tocopherol
- R1=H ; R2=Me: Gamma-tocopherol
- R1=H ; R2=H: Delta-tocopherol

Debido a que son sustancias liposolubles, los tocoferoles presentes en semillas oleaginosas pasan al aceite durante el proceso de extracción. Aquí ejercen una doble acción antioxidante. Por un lado, presentan una acción *in vitro*, es decir, protegen al aceite y a los productos que lo contienen (alimentos elaborados) o de él derivados (biocombustibles, biolubricantes) de la oxidación durante el almacenamiento y utilización. Por otro lado, los tocoferoles son compuestos bioactivos, ejerciendo un importante efecto antioxidante *in vivo*, es

decir, dentro de la célula viva. Esta actividad antioxidante *in vivo* es conocida como actividad de vitamina E (G. Pongracz y col., Tocopherole, Antioxidantien der Natur. *Fat Science and Technology* 97: 90-104, 1995). Existen grandes diferencias entre los cuatro tipos de tocoferoles en relación con su actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo*. Así, alfa-tocoferol se caracteriza por poseer la máxima eficacia como antioxidante *in vivo* o vitamina E, pero su actividad *in vitro* es baja en comparación con los otros tocoferoles. Tomando como referencia una actividad antioxidante de 100% para alfa-tocoferol, Pongracz y col. (1995, obra citada) determinaron una eficiencia relativa como antioxidantes *in vivo* de 50% para beta-tocoferol, 25% para gamma-tocoferol, y 1% para delta-tocoferol. Por el contrario, la eficiencia relativa como antioxidantes *in vitro* fue de 182% para beta-tocoferol, 194% para delta-tocoferol, y 285% para gamma-tocoferol.

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

Tabla 1. Composición media en ácidos grasos (%) del aceite de la semilla de los principales mutantes naturales o inducidos de girasol en comparación con el aceite estándar (tomado de Fernández-Martínez y col., Mejora de la calidad del girasol. En: *Mejora Genética de la Calidad en Plantas*. Editores: G. Llácer, M.J. Díez, J.M. Carrillo, y M.L. Badenes. Universidad Politécnica de Valencia, pp. 449-471, 2006)

2

Mutante o línea	Composición en ácidos grasos (%) ¹				
	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
Bajo contenido en 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
Alto contenido en 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
HP line	23,9	3,4	2,0	20,4	50,7
CAS-37 ³	29,5	12,3	1,4	5,4	38,7
Alto contenido en 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
Alto contenido en 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
Alto contenido en ácido linoleico					
F6 sel.	----	----	----	----	77,3
2698-1	----	----	----	----	78,0

¹16:0=ácido palmítico; 18:0=ácido esteárico; 16:1= ácido palmitoleico
18:1=ácido oleico; 18:2=ácido linoleico.

5 ²Datos de cultivares estándar obtenidos en ambientes fríos y cálidos, respectivamente.

³Datos no proporcionados por los autores

10 El aceite de girasol se caracteriza por poseer de forma natural un perfil de tocoferoles constituido principalmente por alfa-tocoferol, que representa más del 90% del total de tocoferoles, siendo las proporciones de beta-, gamma-, y delta tocoferol inferiores al 5% del total de tocoferoles (Demurin y col., Genetic variability of tocopherol composition in sunflower seeds as a basis of breeding for improved oil quality. *Plant Breeding* 115: 33-36, 1996). Mediante mejora

a

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

5

genética, se han desarrollado líneas de girasol con alto contenido en beta-tocoferol (más del 50% del total de tocoferoles), alto contenido en gamma-tocoferol (más del 90% del total de tocoferoles), y alto contenido en delta-tocoferol (más del 65% del total de tocoferoles) (Fernández-Martínez y col., 2006, obra citada).

Los aceites de girasol con bajo grado de insaturación, formados principalmente por ácidos grasos saturados (ácido esteárico y ácido palmítico) y monoinsaturados (ácido oleico) presentan una mayor termoestabilidad que el aceite de girasol estándar, con mayor grado de insaturación (R. Garcés y col., High stable vegetable oils. WO 99/64546). Asimismo, los aceites de girasol en los que alfa-tocoferol ha sido parcialmente substituido por otros tocoferoles con mayor poder antioxidante in vitro, principalmente gamma- y delta-tocoferol, presentan mayor termoestabilidad que el aceite de girasol estándar, con elevado contenido en alfa-tocoferol (L. Velasco y J.M. Fernández-Martínez, Semillas de girasol con alto contenido en delta-tocoferol. WO 2004/089068). Hasta la fecha no se ha desarrollado ningún material vegetal de girasol cuyas semillas produzcan un aceite con bajo grado de insaturación, determinado por un elevado contenido en ácidos grasos saturados y monoinsaturados, y con un bajo contenido de alfa tocoferol en su perfil de tocoferoles.

20

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Descripción Breve

La presente invención se refiere a un aceite de girasol extraído a partir de semillas de girasol que presenta una serie de propiedades en su perfil de ácidos grasos y en su perfil de tocoferoles que le confieren una mayor termoestabilidad en comparación con cualquier otro aceite de girasol desarrollado hasta la fecha. El aceite de girasol objeto de esta invención se caracteriza por un contenido en ácidos grasos saturados (ácido palmítico y ácido esteárico) entre el 15% y el 45% del total de ácidos grasos presentes en el aceite, un contenido en ácido oleico entre el 45% y el 75% del total de ácidos grasos. Este aceite puede presentar también un contenido en ácido palmitoleico superior al 5% del total de ácidos grasos, principalmente cuando el ácido graso saturado predominante es ácido palmítico. El contenido en ácido linoleico es inferior al 10%,

30

10

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

6

preferentemente inferior al 5% del total de los ácidos grasos presentes en el aceite. Asimismo, la suma de gamma- y delta-tocoferol representa más del 85% del total de tocoferoles presentes en el aceite, siendo el contenido en alfa-tocoferol inferior al 15% del total de tocoferoles. Y el contenido total en tocoferoles de este aceite está entre 500 mg por kg de aceite y más de 1250 mg por kg de aceite.

Se trata de un aceite con una elevada termoestabilidad, siendo su índice de estabilidad oxidativa (medido en un aparato Rancimat modelo 743 (Metrohm AG, Herisau, Suiza) tras un período de inducción de 10 horas a una temperatura de 110 °C sobre el aceite sin refinar) entre 35 horas y más de 120 horas.

La presente invención se refiere también a las semillas de girasol que contienen un aceite con las mencionadas características, y las plantas de girasol que al ser autofecundadas producen semillas con las características mencionadas. No existen en la actualidad semillas de girasol que produzcan un aceite con la combinación de características en los perfiles de ácidos grasos y tocoferoles como la conseguida en las semillas objeto de la presente invención.

Asimismo constituye otro objeto de la presente invención la utilización del aceite para la alimentación humana y animal, y para la elaboración de biolubricantes y biocombustibles.

Descripción Detallada

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

El mencionado aceite se caracteriza por un elevado contenido en ácidos grasos saturados, ácido palmítico y ácido esteárico, (15-45% del total de ácidos grasos en el aceite), un elevado contenido en ácido oleico (45-75% del total de ácidos grasos), y un elevado contenido de la suma de gamma- y delta-tocoferol (superior a 85% del total de tocoferoles presentes en el aceite). La combinación de estas tres propiedades confieren al aceite una elevada termoestabilidad.

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

7

Este aceite puede presentar también un contenido en ácido palmitoleico superior al 5% del total de ácidos grasos, principalmente cuando el ácido graso saturado predominante es ácido palmítico. Con un contenido en ácido linoleico inferior al 10%, preferentemente inferior al 5% del total de los ácidos grasos presentes en el aceite.

En una realización particular de la invención, el contenido en ácido palmitoleico es superior al 10% del total de ácidos grasos en el aceite.

La máxima estabilidad oxidativa del aceite la confieren los ácidos grasos saturados. Sin embargo, un contenido muy elevado de estos ácidos grasos en el aceite determina un bajo punto de humo (smoke point) en frituras y un bajo valor nutricional de aceite. El ácido oleico confiere al aceite menor estabilidad oxidativa que los ácidos grasos saturados, pero un mayor punto de humo y un mayor valor nutricional. Los tocoferoles gamma y delta confieren al aceite una estabilidad oxidativa superior a la conferida por los tocoferoles beta y alfa.

El contenido en alfa-tocoferol del aceite de la invención es inferior al 15% del total de los tocoferoles presentes en el aceite. Asimismo, el contenido total en tocoferoles puede oscilar entre 500 mg por kg de aceite y más de 1250 mg por kg de aceite.

La obtención de este aceite se consiguió recombinando los siguientes caracteres individuales, ya desarrollados previamente en girasol:

a) Alto contenido en ácidos grasos saturados. Existen diversas líneas de girasol que presentan entre el 15% y el 45% de los ácidos grasos en el aceite de sus semillas en la forma de ácidos grasos saturados, tanto en forma de ácido palmítico (16:0) como en forma de ácido esteárico (18:0). Se emplearon dos tipos de líneas: 1) alto esteárico, cuyo contenido en ácido esteárico se encuentra entre el 15% y el 45% del total de ácidos grasos en el aceite de las semillas, y 2) alto palmítico, cuyo contenido en ácido palmítico se encuentra entre el 15% y el 45% del total de ácidos grasos en el aceite de las semillas y el contenido en ácido palmitoleico (16:1) se encuentra entre el 5 y el 15% del total de ácidos grasos en el aceite de las semillas.

b) Alto contenido en ácido oleico (18:1). Las líneas de girasol denominadas "alto oleico" utilizadas presentan entre el 85% y el 95% de los

12

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

8

ácidos grasos en el aceite de sus semillas en forma de ácido oleico. El contenido en ácido linoleico (18:2) se encuentra entre el 2% y el 10% del total de ácidos grasos en el aceite de sus semillas.

5 c) Alto contenido en la suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol. Este carácter está presente en diversas líneas de girasol, en los que la suma de ambos tocoferoles representa más del 85% del total de tocoferoles presentes en las semillas. Se emplearon dos tipos de líneas: 1) alto gamma-tocoferol, en las que el contenido en gamma-tocoferol representa más del 85% del total de tocoferoles en las semillas, pudiendo alcanzar un valor de hasta el 99% del total
10 de tocoferoles en las semillas, y 2) alto delta-tocoferol, en las que el contenido en delta-tocoferol representa más del 65% del total de tocoferoles en las semillas y el contenido en gamma-tocoferol representa más del 20% del total de tocoferoles en las semillas, siendo la suma de delta-tocoferol y gamma-tocoferol superior al 85% del total de tocoferoles en las semillas, pudiendo alcanzar un
15 valor de hasta el 99% del total de tocoferoles en las semillas. Las semillas de ambos tipos de líneas dan lugar a un aceite cuyo contenido total en tocoferoles se encuentra entre 500 y 1500 mg por kg de aceite, con los perfiles de tocoferoles antes mencionados.

20 Al tratarse de caracteres de gran complejidad genética, la recombinación se realizó en dos etapas que se describen a continuación:

1) Recombinación de los caracteres "alto contenido en ácidos grasos saturados" y "alto contenido en ácido oleico".

25 Se realizaron cruzamientos controlados entre las líneas con alto contenido en ácidos grasos saturados (ácido palmítico y ácido esteárico) y la línea con alto contenido en ácido oleico, se obtuvo la semilla híbrida F₁. Esta semilla se germinó y las correspondientes plantas se autofecundaron para obtener la semilla F₂, que presentó segregación para ambos caracteres. Debido
30 a que cada uno de los caracteres individuales está controlado por 1-3 genes, la mayoría de ellos recesivos, fue necesario analizar una media de 100 semillas F₂ de cada uno de los cruzamientos para obtener una semilla que presentara la combinación de los caracteres buscados, es decir, alto contenido en ácidos

M

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

9

grasos saturados y alto contenido en ácido oleico. La baja frecuencia de
ocurrencia de semillas que combinaran los dos caracteres hizo necesario el
análisis de un promedio de 2.000 semillas de cada uno de los cruzamientos
para obtener un número suficiente de semillas con los dos caracteres
5 combinados.

Para que la combinación de caracteres modificados del perfil de ácidos
grasos resulte de utilidad comercial, los caracteres deben ser heredables y
deben expresarse con independencia de las condiciones ambientales en las
que se cultivan las plantas. Por este motivo, se realizó un proceso de selección
10 conducente a fijar los caracteres y a verificar su estabilidad bajo diferentes
condiciones ambientales. Para ello, se sembraron las semillas F_2 seleccionadas
y la estabilidad genética de los caracteres combinados se confirmó mediante el
análisis de las semillas F_3 procedentes de la autofecundación de cada una de
las plantas F_2 , y de semillas F_4 procedentes de un elevado número de plantas
15 F_3 cultivadas en varios ambientes.

Como resultado de esta primera etapa se obtuvieron plantas cuyas
semillas contienen un elevado contenido en ácidos grasos saturados, entre el
15% y el 45% del total de ácidos grasos presentes en el aceite, un elevado
contenido en ácido oleico, entre el 45% y el 75% del total de ácidos grasos, y un
20 bajo contenido en ácido linoleico, inferior al 10% del total de ácidos grasos.

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

25 En esta segunda etapa, se emplearon plantas obtenidas en la etapa
anterior 1) que combinaban un alto contenido en ácidos grasos saturados (15-
45% del total de ácidos grasos presentes en el aceite) y alto contenido en ácido
oleico (45-75% del total de ácidos grasos presentes en el aceite), así como
plantas con alto contenido de la suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol
30 (más del 85% del total de tocoferoles presentes en las semillas).

Tras realizar cruzamientos controlados entre las líneas con alto contenido
de la suma de gamma- y delta-tocoferol con plantas F_3 con alto contenido en
ácidos grasos saturados y alto contenido en ácido oleico, se obtuvo la semilla

14

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

10

híbrida F₁. Esta semilla se germinó y las correspondientes plantas se autofecundaron para obtener la semilla F₂, que presentó segregación para los tres caracteres objeto de la recombinación, es decir, alto contenido en ácidos grasos saturados (ácido palmítico y ácido esteárico), alto contenido en ácido oleico, y alto contenido en la suma de gamma- y delta-tocoferol. Debido a que el perfil buscado de ácidos grasos está controlado por 4-6 genes, y el perfil buscado de tocoferoles está controlado por 1-3 genes, en general de carácter recesivo, fue necesario analizar una media de 400 semillas F₂ de cada uno de los cruzamientos para obtener una semilla que presentara la combinación de los caracteres buscados, es decir, alto contenido en ácidos grasos saturados, alto contenido en ácido oleico, y alto contenido de la suma de gamma- y delta-tocoferol. La baja frecuencia de ocurrencia de semillas que combinaran los dos caracteres hizo necesario el análisis de un promedio de 5.000 semillas de cada uno de los cruzamientos para obtener un número suficiente de semillas con los dos caracteres combinados.

Para que la combinación de caracteres modificados del perfil de ácidos grasos resulten de utilidad comercial, deben ser heredables y deben expresarse con independencia de las condiciones ambientales en las que se cultivan las plantas. Por este motivo, se realizó un proceso de selección conducente a fijar los caracteres y a verificar su estabilidad bajo diferentes condiciones ambientales. Para ello, se sembraron las semillas F₂ seleccionadas se sembraron y la estabilidad genética de los caracteres combinados se confirmó mediante el análisis de las semillas F₃ de cada una de las plantas F₂, y de semillas F₄ procedentes de un elevado número de plantas F₃. Estas plantas se cultivaron en diferentes ambientes, lo que sirvió para confirmar que la expresión simultánea de alto contenido en ácidos grasos saturados, alto contenido en ácido oleico, y alto contenido de la suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol es el resultado de una herencia genética fijada y estable, que se expresa con independencia de las condiciones de cultivo de las plantas.

Como resultado de esta segunda etapa se obtuvieron plantas cuyas semillas contienen un elevado contenido en ácidos grasos saturados, entre el 15% y el 45% del total de ácidos grasos presentes en el aceite, un elevado contenido en ácido oleico, entre el 45% y el 75% del total de ácidos grasos, un

15

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

11

5 contenido en la suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol superior al 85% del total de tocoferoles presentes en el aceite. Cuando la fuente de ácidos grasos saturados fue una línea con alto contenido en ácido palmítico (15-45% del total de ácidos grasos en el aceite), se observó asimismo la presencia de un contenido en ácido palmitoleico superior al 5% del total de ácidos grasos en el aceite.

10 Teniendo en cuenta el rango en el contenido de ácidos grasos (ácido palmítico, esteárico, y oleico) y tocoferoles de las líneas de girasol utilizadas en las distintas etapas de recombinación, las realizaciones particulares de la invención obtenidas incluyen aceites con un contenido en ácido esteárico superior al 15%, superior al 25% y superior al 35% del total de ácidos grasos presentes en el aceite. Otras realizaciones particulares de la invención presentan un contenido en ácido palmítico superior al 15%, superior al 25% y superior al 35% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

15 En otras dos realizaciones particulares de la invención el aceite de la invención presenta un contenido en gamma-tocoferol superior al 85% y superior al 95% del total de los tocoferoles presentes en el aceite.

20 Y en otras realizaciones particulares de la invención, el aceite presenta un contenido en delta-tocoferol superior al 25%, superior al 55% y superior al 75% del total de los tocoferoles presentes en el aceite.

25 Debido al perfil de ácidos grasos con un bajo nivel de insaturación, que es la principal causa de la oxidación y baja termoestabilidad de los aceites vegetales, y a la presencia de una elevada proporción de tocoferoles con fuerte acción protectora frente a la oxidación y el efecto de la elevada temperatura, el aceite extraído de las semillas producidas por las plantas arriba descritas presenta una termoestabilidad excepcional, muy superior a la que presenta cualquier aceite de girasol convencional, y también superior a la que presenta cualquier otro aceite de girasol que presente únicamente modificado el perfil de ácidos grasos o el perfil de tocoferoles.

30 El Índice de Estabilidad Oxidativa (Oil Stability Index; OSI) del aceite objeto de la presente invención, medido en un aparato Rancimat modelo 743 (Metrohm AG, Herisau, Suiza) tras un período de inducción de 10 horas a una temperatura de 110°C sobre el aceite sin refinar oscila entre 35 y 120 horas.

16

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

12

La degradación termooxidativa de un aceite se evalúa estudiando la degradación de los tocoferoles presentes en dicho aceite y la aparición de compuestos polares y polímeros durante el calentamiento. El aceite objeto de la presente invención presenta una degradación termooxidativa menor que el
5 aceite obtenido de las semillas utilizadas como parentales, presentando un porcentaje menor (la mitad) de formación de polímeros y de compuestos polares.

Dadas estas características técnicas del aceite de la invención, con una alta estabilidad oxidativa y alta resistencia a la degradación termooxidativa, este
10 aceite puede ser utilizado de forma idónea en alimentación humana y/o animal. Igualmente el aceite de la invención puede ser utilizado en la elaboración de biolubricantes y/o biocombustibles.

En una realización particular de la invención, el aceite de la invención es obtenible a partir de la extracción de semillas de girasol de la línea de semillas
15 IAS-1265, depositada el 20 de marzo de 2007 en el NCIMB (National Collection of Industrial, Marine and Food Bacteria) Ltd., Aberdeen, Escocia, con número de acceso NCIMB-41477.

Las mezclas de aceites que contienen el aceite de la invención también constituyen un objeto de la presente invención, así como la harina obtenida
20 como el residuo del proceso de extracción del aceite a partir de las semillas de girasol.

Constituyen otro objeto de la presente invención las semillas de girasol que contienen un aceite con las características del aceite de la invención. Se trata de semillas que dan lugar a plantas que tras su germinación contienen en
25 sus semillas, al ser autofecundadas, un aceite con las características del aceite de la invención, con independencia de las condiciones de cultivo de las plantas. En una realización particular las semillas de la invención proceden de la línea de girasol IAS-1265, depositada con fecha 20 de Marzo de 2007 en el banco de semillas de NCIMB Ltd., Aberdeen, Escocia, con el número de acceso NCIMB-
30 41477. Las semillas objeto de la presente invención pueden ser utilizadas para la obtención del aceite de la invención.

17

Asimismo las plantas de girasol (*Helianthus annuus* L.) que al ser autofecundadas producen semillas que contienen el aceite de la invención también constituyen otro objeto de la presente invención.

5 **EJEMPLOS DE REALIZACIÓN**

Obtención de las semillas

5.1. Recombinación de los caracteres “alto contenido en ácidos grasos saturados” y “alto contenido en ácido oleico”

10 Cuarenta y ocho semillas de cada una de las líneas de girasol NP-40, con alto contenido en ácido palmítico en el aceite (superior al 15% del total de ácidos grasos), desarrollada mediante mutagénesis química, y BSD-2-423, con alto contenido en ácido oleico en el aceite (superior al 85% del total de ácidos grasos), se tomaron al azar y se analizó la composición o perfil de ácidos en el aceite de cada una de las semillas individuales. Debido a que el análisis de las
15 semillas no puede ser destructivo, pues tras el análisis las semillas deben poder germinarse, éste se realizó mediante el procedimiento de la media semilla. Éste consiste en cortar un pequeño trozo de la semilla distal al embrión, de forma que el corte no afecta a la capacidad germinativa de la semilla. La porción cortada es entonces analizada para su perfil de ácidos grasos mediante
20 cromatografía gaseosa de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (R. Garcés y M. Mancha, One-step 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, es guardada en condiciones óptimas para proceder a su germinación en función de los resultados analíticos.

25 Una vez confirmado el perfil de ácidos grasos de cada una de las semillas, éstas se germinaron y las correspondientes plantas se cultivaron en invernadero y se realizaron cruzamientos controlados entre plantas de NP-40 y plantas de BSD-2-423. Éstos consisten en eliminar los estambres u órganos masculinos de las flores a primera hora de la mañana, antes de que las anteras
30 se abran para liberar el polen, en las plantas que se van a emplear como parentales femeninos, seguido de la polinización artificial empleando polen de las plantas que se van a emplear como parentales masculinos. En este ejemplo, las plantas de BSD-2-423 se emplearon como parental femenino y las plantas

18

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

14

de NP-40 se emplearon como parental masculino, aunque igual resultado se obtiene empleando los parentales en el sentido inverso.

Las semillas híbridas resultantes de los cruzamientos, denominadas semillas F_1 , se analizaron para su perfil de ácidos grasos mediante el procedimiento de la media semilla explicado anteriormente. El contenido medio en ácido palmítico en las semillas F_1 fue de 7.3% del total de ácidos grasos en el aceite, frente a 30.0% en las semillas de las plantas de NP-40 y 3.5% en las semillas de las plantas de BSD-2-423. El contenido medio en ácido oleico de las semillas F_1 fue de 69.8% del total de ácidos grasos en el aceite, comparado con 8.0% en las semillas de NP-40 y 89.6% en las semillas de BSD-2-423.

Se germinaron 150 semillas F_1 y las correspondientes plantas se autofecundaron para obtener las semillas F_2 , que fueron analizadas para perfil de ácidos grasos. Se analizaron 2.348 semillas F_2 , observándose segregación para los contenidos en ácido palmítico y en ácido oleico. El contenido en ácido palmítico en las semillas F_2 varió entre el 3.1% y el 37.8% del total de ácidos grasos en el aceite. El contenido en ácido oleico en semillas F_2 mostró un rango de variación entre el 6.9% y el 92.2% del total de ácidos grasos en el aceite. De las 2.348 semillas analizadas, 104 de ellas mostraron una combinación de alto contenido en ácido palmítico, superior a 15% del total de ácidos grasos, y alto contenido en ácido oleico, superior a 45% del total de ácidos grasos en el aceite. De estas 104 semillas, aquella con mayor contenido en ácido palmítico presentó un contenido de ácido palmítico de 34% y un contenido de ácido oleico de 55% del total de ácidos grasos, mientras que aquella con mayor contenido en ácido oleico presentó un contenido de ácido palmítico de 18% y un contenido de ácido oleico de 73% del total de ácidos grasos.

Las semillas F_2 seleccionadas se sembraron y la estabilidad genética de los caracteres combinados se confirmó mediante el análisis de las semillas F_3 de cada una de las plantas F_2 . El análisis de un total de 3.744 semillas F_3 dio como resultado una composición en ácidos grasos del aceite de las semillas constituida por un contenido medio de $27.7\% \pm 3.4\%$ (media $\pm$ desviación estándar) 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 “alto contenido en ácidos grasos saturados y alto contenido en ácido oleico” con el carácter “alto contenido en la suma de gamma- y delta-tocoferol”

5 Se tomaron cuarenta y ocho semillas F_3 obtenidas en la etapa anterior, que combinaban un alto contenido en ácido palmítico (mayor de 15%) y un alto contenido en ácido oleico (mayor de 45%), y 48 semillas de la línea T2100, con alto contenido de gamma-tocoferol (mayor de 85%), y se analizó para cada semilla tanto la composición o perfil de ácidos en el aceite como la composición
10 o perfil de tocoferoles de cada una de las semillas individuales. Este análisis se realizó mediante el procedimiento de la media semilla, descrito anteriormente. La porción cortada de la semilla se dividió en dos mitades y en una mitad se analizó el perfil de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (R. Garcés y M. Mancha, 1993, obra
15 citada) y en la otra mitad se analizó el perfil de tocoferoles mediante cromatografía líquida de alta eficiencia – HPLC (F. Goffman y col., Quantitative determination of tocopherols in single seeds of rapeseed, *Brassica napus* L., *Fett/Lipid* 101:142-145, 1999).

20 Una vez confirmado el perfil de ácidos grasos y de tocoferoles de cada una de las semillas, éstas se germinaron y las correspondientes plantas se cultivaron en invernadero y se realizaron cruzamientos controlados entre plantas procedentes de semillas F_3 y plantas de T2100, de modo similar a como se describió en el apartado 5.1. Las semillas F_1 se analizaron para sus perfiles de ácidos grasos y tocoferoles. El contenido medio en ácido palmítico en las
25 semillas F_1 fue de 6.8% del total de ácidos grasos en el aceite, frente a 28.9% en las semillas de las plantas de NP-40 y 3.2% en las semillas de las plantas de T2100. El contenido en ácido oleico de las semillas F_1 fue de 72.6.8% del total de ácidos grasos en el aceite, comparado con 90.3% en las semillas de BSD-2-423 y 12.1% en las semillas de T2100. El contenido en gamma-tocoferol de las
30 semillas F_1 fue de 1.2% del total de tocoferoles, comparado con 0.0% en las semillas de NP-40 y BSD-2-423 empleadas como control, y 99.2% en las semillas de T2100.

20

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

16

Se germinaron 100 semillas F_1 y las correspondientes plantas se autofecundaron para obtener las semillas F_2 , que fueron analizadas para perfil de ácidos grasos. Se analizaron 8.952 semillas F_2 , observándose segregación para los contenidos en ácido palmítico, en ácido oleico, y en gamma-tocoferol.

5 El contenido en ácido palmítico en las semillas F_2 varió entre el 2.2% y el 37.6% del total de ácidos grasos en el aceite. El contenido en ácido oleico en semillas F_2 mostró un rango de variación entre el 5.8% y el 94.2% del total de ácidos grasos en el aceite. El contenido en gamma-tocoferol mostró una variación entre el 0.0% y el 99.6% del total de tocoferoles en la semillas De las 8.952
10 semillas analizadas, 51 de ellas mostraron una combinación de alto contenido en ácido palmítico, superior a 15% del total de ácidos grasos, alto contenido en ácido oleico, superior a 45% del total de ácidos grasos en el aceite, y alto contenido en gamma-tocoferol, superior a 85% del total de tocoferoles en la semilla.

15 Las semillas F_2 seleccionadas se sembraron y la estabilidad genética de los caracteres combinados se confirmó mediante el análisis de las semillas F_3 de cada una de las plantas F_2 . El análisis de un total de 3.204 semillas F_3 dio como resultado una composición en ácidos grasos del aceite de las semillas constituida por un contenido medio de $28.9\% \pm 3.3\%$ (media $\pm$ desviación estándar) de ácido palmítico, $7.3\% \pm 1.1\%$ de ácido palmitoleico, $1.6\% \pm 0.5\%$
20 de ácido esteárico, $52.5\% \pm 3.9\%$ de ácido oleico, y $4.2\% \pm 0.7\%$ de ácido linoleico, y una composición de la fracción de tocoferoles formada por $2.8\% \pm 1.3\%$ de alfa-tocoferol, $96.6\% \pm 1.8\%$ de gamma-tocoferol, y $0.6\% \pm 0.2\%$ de delta-tocoferol.

25

Extracción del aceite

Un lote de 150 g de semillas F_3 se empleó para extracción de aceite empleando éter de petróleo (punto ebullición 40-60 °C) y un sistema extractor Soxhlet, siguiendo el procedimiento de la Asociación Española de
30 Normalización (Catálogo de normas UNE. Madrid, 1991). El aceite fue analizado para composición en ácidos grasos y en tocoferoles, dando como resultado una composición en ácidos grasos constituida por 29.2% de ácido palmítico, 7.5% de ácido palmitoleico, 1.7% de ácido esteárico, 52.4% de ácido oleico, y 4.2%

21

de ácido linoleico, y una composición de la fracción de tocoferoles formada por 2.4% de alfa-tocoferol, 96.4% de gamma-tocoferol, y 1.2% de delta-tocoferol.

Características técnicas del aceite obtenido

5 a) Estudio del Índice de Estabilidad Oxidativa (Oil Stability Index; OSI) en diferentes tipos de aceites de girasol

Se midió el índice de estabilidad oxidativa (OSI) tras calentamiento a 110°C durante 10 horas, siguiendo el protocolo estándar de la American Oil Chemists' Society (Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 4ª edición, AOCS, Champaign, IL, EE.UU., 1994) en los siguientes tipos de aceite de girasol:

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

15 **Aceite 2:** Aceite con alto contenido en ácido oleico y perfil estándar de tocoferoles

Aceite 3: Aceite con alto contenido en ácido palmítico, alto contenido en ácido oleico, y perfil estándar de tocoferoles

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

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

Tabla 2. Composición en ácidos grasos y tocoferoles y valores de su OSI tras calentamiento 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

N
N

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

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

Para estudiar el efecto sinérgico de la modificación del perfil de tocoferoles sobre perfiles ya modificados de ácidos grasos en el aceite, se procedió a someter a los aceites 3 y 4 descritos en el apartado a), a una elevada temperatura (180 °C) durante un período prolongado de tiempo (25 h), y se midieron los siguientes parámetros directamente relacionados con la degradación termooxidativa del aceite:

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

- Formación de compuestos polares, expresados como % del peso total del aceite, medidos según el método descrito por M.C. Dobarganes y col. (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, expresados como % del peso total del aceite, medidos según según el método estándar de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC, 1992, obra citada).

Los resultados se muestran en la Tabla 3.

21

Tabla 3. Contenido total en tocoferoles (mg kg^{-1}), contenido en compuestos polares (%) y en polímeros (%) de dos tipos de aceite tras calentamiento 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

^bIndican los niveles iniciales (0) y los obtenidos tras 25 horas de calentamiento (25) en las condiciones arriba indicadas

24

REIVINDICACIONES

5 1.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad con un contenido en ácidos grasos saturados (ácido palmítico y ácido esteárico) entre el 15% y el 45% del total de ácidos grasos presentes en el aceite, un contenido en ácido oleico entre el 45% y el 75% del total de ácidos grasos presentes en el aceite, y un contenido en la suma de gamma-tocoferol y delta-tocoferol superior al 85% del total de tocoferoles presentes en el
10 aceite.

15 2.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en alfa-tocoferol es inferior al 15% del total de tocoferoles presentes en el aceite

3.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en ácido esteárico es superior al 15% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

20 4.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en ácido esteárico es superior al 25% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

25 5.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en ácido esteárico es superior al 35% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

30 6.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en ácido palmítico es superior al 15% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

25

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

21

7.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad, según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en ácido palmítico es superior al 25% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

5 8.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en ácido palmítico es superior al 35% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

10 9.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en gamma-tocoferol es superior al 85% del total de tocoferoles presentes en el aceite.

15 10.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en gamma-tocoferol es superior al 95% del total de tocoferoles presentes en el aceite.

20 11.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en delta-tocoferol es superior al 25% del total de tocoferoles presentes en el aceite.

12.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en delta-tocoferol es superior al 55% del total de tocoferoles presentes en el aceite.

25 13.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en delta-tocoferol es superior al 75% del total de tocoferoles presentes en el aceite.

30 14.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en ácido

26

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

22

palmitoleico es superior al 5% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

5 15.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en ácido palmitoleico es superior al 10% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

10 16.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según la reivindicación 1, caracterizado porque el contenido en ácido linoleico es inferior al 10% del total de ácidos grasos presentes en el aceite, preferentemente inferior al 5% del total de ácidos grasos presentes en el aceite.

15 17.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 caracterizado porque el contenido total en tocoferoles es superior a 500 mg por kg de aceite, preferentemente superior a 750 mg por kg de aceite y más preferentemente superior a 1250 mg por kg de aceite.

20 18.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, caracterizado porque el índice de estabilidad oxidativa medido en un aparato Rancimat modelo 743 (Metrohm AG, Herisau, Suiza) tras un período de inducción de 10 horas a
25 una temperatura de 110 °C sobre el aceite sin refinar es superior a 35 horas, preferentemente superior a 50 horas y más preferentemente superior a 75 horas.

30 19.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que el índice de estabilidad oxidativa medido en un aparato Rancimat modelo 743

(Metrohm AG, Herisau, Suiza) tras un período de inducción de 10 horas a una temperatura de 110 °C sobre el aceite sin refinar es superior a 100 horas, preferentemente superior a 120 horas.

5 20.- Aceite de semilla de girasol con elevada termoestabilidad según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 caracterizado porque es obtenible a partir de la extracción de semillas de girasol de la línea de semillas IAS-1265, depositada el 20 de marzo de 2007 en el NCIMB (National Collection of Industrial, Marine and Food Bacteria) Ltd.,
10 Aberdeen, Escocia, con número de acceso NCIMB-41477.

21. Mezclas de aceites que contienen un aceite de semilla de girasol según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20.

15 22. Harina obtenida como el residuo del proceso de extracción de un aceite de semilla de girasol según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20..

20 23. Semillas de girasol caracterizadas porque contienen un aceite con las características de ácidos grasos y tocoferoles descritas en las reivindicaciones 1 a 20.

24.- Semillas de girasol según la reivindicación 23, caracterizadas porque las plantas a las que dan lugar tras su germinación contienen en
25 sus semillas, al ser autofecundadas, un aceite con las características de ácidos grasos y tocoferoles descritas en las reivindicaciones 1 a 20, con independencia de las condiciones de cultivo de las plantas.

25.- Semillas de girasol según la reivindicación 23 caracterizadas
30 porque la línea de la que proceden es la línea de girasol es IAS-1265,

26

WO 2009/080858

PCT/ES2008/070220

24

depositada con fecha 20 de Marzo de 2007 en el banco de semillas de NCIMB Ltd., Aberdeen, Escocia, con el número de acceso NCIMB-41477.

5 26.- Plantas de girasol (*Helianthus annuus* L.) que al ser autofecundadas producen semillas que contienen un aceite con las características de ácidos grasos y tocoferoles descritas en las reivindicaciones 1 a 20.

10 27. Utilización de semillas de girasol según las reivindicaciones 23 a 25 para la obtención de aceite descrito en las reivindicaciones 1 a 20.

28. Utilización de aceite de girasol según las reivindicaciones 1 a 20 para la alimentación humana y animal.

15 29. Utilización de aceite de girasol según las reivindicaciones 1 a 20 para la elaboración de biolubricantes y biocombustibles.

20

25

30



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-074436- -00000-0000
Fecha: 2010-06-21 16:46:06 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 29

30

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☒	Indicación que se solicita una patente.
☒	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☒	Descripción de la invención
☒	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
CASTILLO GIBSON LUIS FELIPE
Apoderado(a) y/o Representante de
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

REFERENCIA	Radicación No.	10 074436
	Solicitud internacional	PCT/ES2008/070220
	Fecha inicio fase nacional	21/07/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	10530

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

20 AGO. 2010

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.
adpa11



Bogotá D.C.,
2020

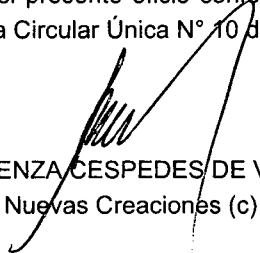
Doctor(a)
CASTILLO GIBSON LUIS FELIPE
Apoderado(a) y/o Representante de
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

REFERENCIA	Radicación No.	10 074436
	Solicitud internacional	PCT/ES2008/070220
	Fecha inicio fase nacional	21/07/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	Nº 1053.1

Teniendo en cuenta que el capítulo reivindicatorio presentado excede de diez reivindicaciones, es necesario que cancele la tasa establecida por cada reivindicación adicional presentada, de conformidad con lo dispuesto en la resolución de tasas vigente para la fecha de presentación de la solicitud, so pena de que no sean tenidas en cuenta dentro del presente trámite administrativo.

En consecuencia, con fundamento en lo previsto por el artículo 12 del Código Contencioso Administrativo, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio atienda el requerimiento aquí señalado. Lo anterior, con el alcance que para tal efecto establece el artículo 13 de la misma codificación, respecto de las reivindicaciones adicionales.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

20 AGO. 2010

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.
adpa11