

Fitoesteroides en semillas y aceites de girasol: Aspectos genéticos y tecnológicos

INSTITUTO DE AGRICULTURA SOSTENIBLE (CSIC)- Córdoba

INSTITUTO DE LA GRASA (CSIC)-SEVILLA



Los fitoesteroles en la mejora de calidad de aceite en girasol



- La mejora para caracteres de calidad de aceite en girasol ha tenido un notable éxito
- Se han obtenido mutantes con perfiles modificados de ácidos grasos (e.g. alto oleico, alto esteárico y bajos saturados) así como perfiles modificados de tocoferoles (diferentes proporciones tocoferoles alfa-, beta-, gamma y delta-) obtenidos mediante mutagenesis y evaluación de colecciones de germoplasma
- Existen pocos estudios sobre variación de contenido y perfil de fitoesteroles en girasol

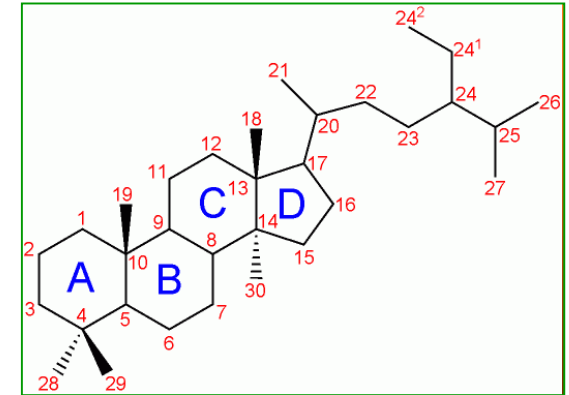


Fitoesteroles

-Los esteroides vegetales o fitoesteroides son compuestos naturales presentes principalmente en semillas y frutos secos que han despertado un gran interés en los últimos años debido a que su presencia en la dieta contribuye a reducir el colesterol-LDL y la mortalidad causada por enfermedades coronarias

ESTRUCTURA QUÍMICA

-Los fitoesteroles o esteroides vegetales pertenecen al grupo de compuestos isoprenoides. Tienen una alta similitud química y funcional con el colesterol

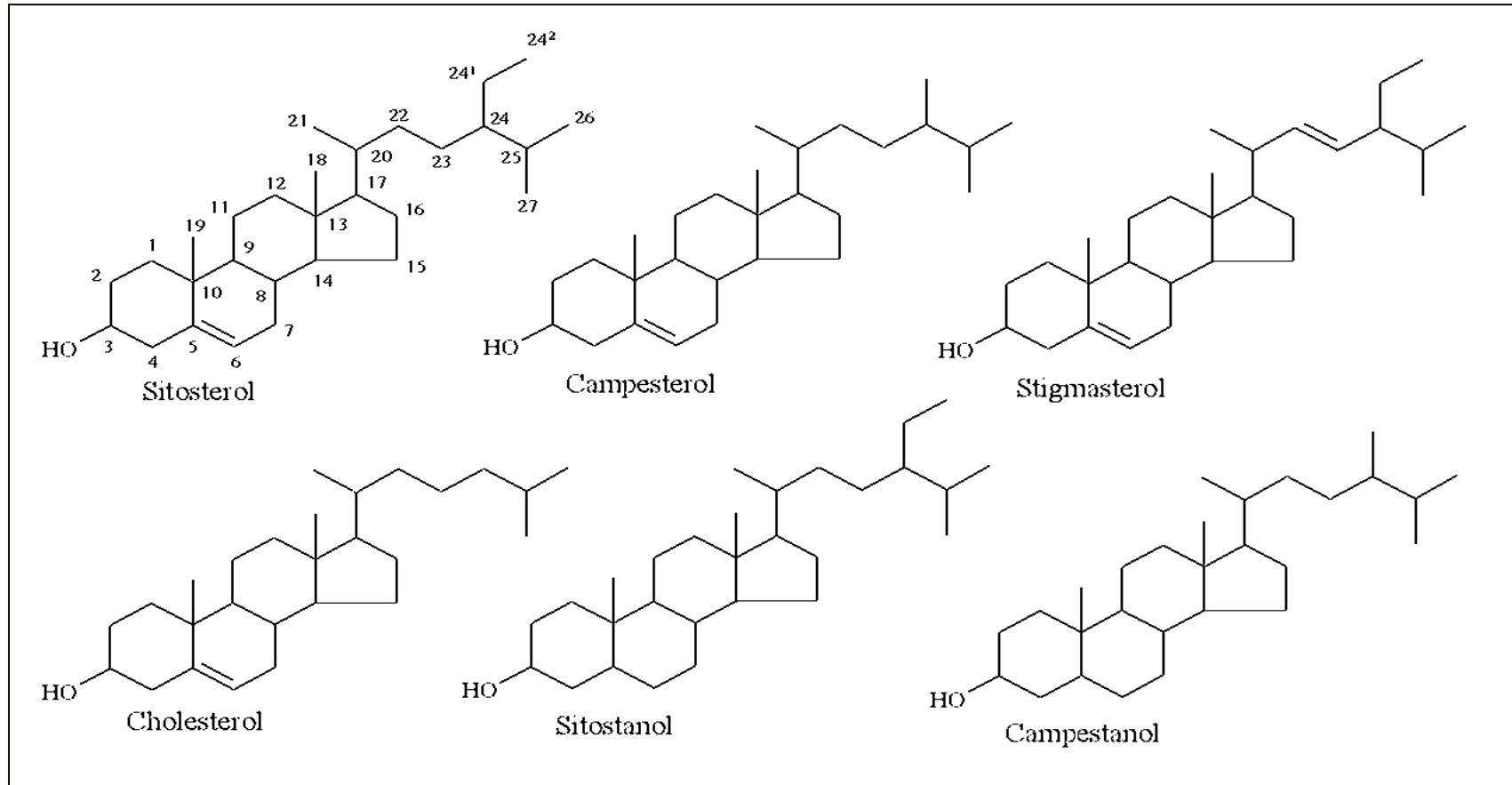


-En ambos casos, las moléculas constan de un anillo tetracíclico y una cadena lateral en el carbono C17

-Como el colesterol, gran parte de los fitoesteroles tienen un doble enlace entre los carbonos C5 and C6 del anillo tetracíclico y se denominan delta 5 esteroides. En este grupo se incluyen los esteroides vegetales mas comunes sitosterol, campesterol, estigmasterol y delta-5-avenasterol

-Otro grupo tiene un doble enlace entre los carbonos C7 y C8 y se denominan delta-7 esteroides. Este grupo incluye delta-7-avenasterol y delta-7-estigmastanol

FITOESTEROLES



Los fitoesteroides tienen múltiples usos en la industria alimentaria y no alimentaria:

- Propiedades de reducción de colesterol: La ingestión of fitoesteroides impide la absorción intestinal de colesterol in humanos lo que da lugar a una reducción del colesterol LDL
- Los aceites vegetales y frutos secos fuente natural de fitoesteroides
- Interés en el uso de fitoesteroides para enriquecimiento de productos, alimentarios como margarinas y producto lácteos
- Usos en la industria cosmética como emulsionantes
- Usos en la industria farmacéutica para obtención de hormonas
- Usos como aditivos o componentes en resinas termoplásticas en la fabricación de ruedas

FITOESTEROLES

Table 1. Fitoesteroles (mg kg⁻¹) en aceites vegetales

	Maiz	Algodón	Oliva	Palma	Canola	Cártamo	Soja	Girasol
Sitosterol	7722	3960	1310	1894	3549	1810	1908	2352
Campesterol	2691	170	28	358	1530	450	720	313
Stigmasterol	702	40	14	204	0	310	720	313
Delta-5-avenasterol	468	90	29	51	122	40	108	156
Delta-7-avenasterol	0,00	0,00	0	0	0	100	36	160
Delta-7-stigmastenol	0,12	0,00	58	25	306	700	108	588
Brassicasterol	0,00	0,00	0	0	612	0	0	0
Otros	0,00	0,00	0	0	0	70	0	39
Total	11700	4260	1439	2280	6119	3480	3600	3917

CONTENIDO TOTAL DE FITOESTEROLES EN GIRASOL RELATIVAMENTE BAJO EN COMPARACIÓN CON OTROS ACEITES
BETA-SITOSTEROL LA FRACCIÓN MÁS ALTA (60%) SEGUIDA POR DELTA-7-ESTIGMASTENOL (15%)



Proyecto excelencia Junta Andalucía

**Fitoesteroides en semillas y aceites de girasol:
Aspectos genéticos y tecnológicos**

Participantes:

Instituto de Agricultura Sostenible

Instituto de la Grasa

Objetivos generales



-Desarrollo germoplasma de girasol con mayor contenido de fitoesteroles en semillas y/o con nuevos perfiles de estos compuestos

-Estudio y optimización de los procesos de extracción y refinado de aceite de girasol para minimizar la pérdida de fitoesteroles y, en consecuencia, conseguir aceites más saludables.





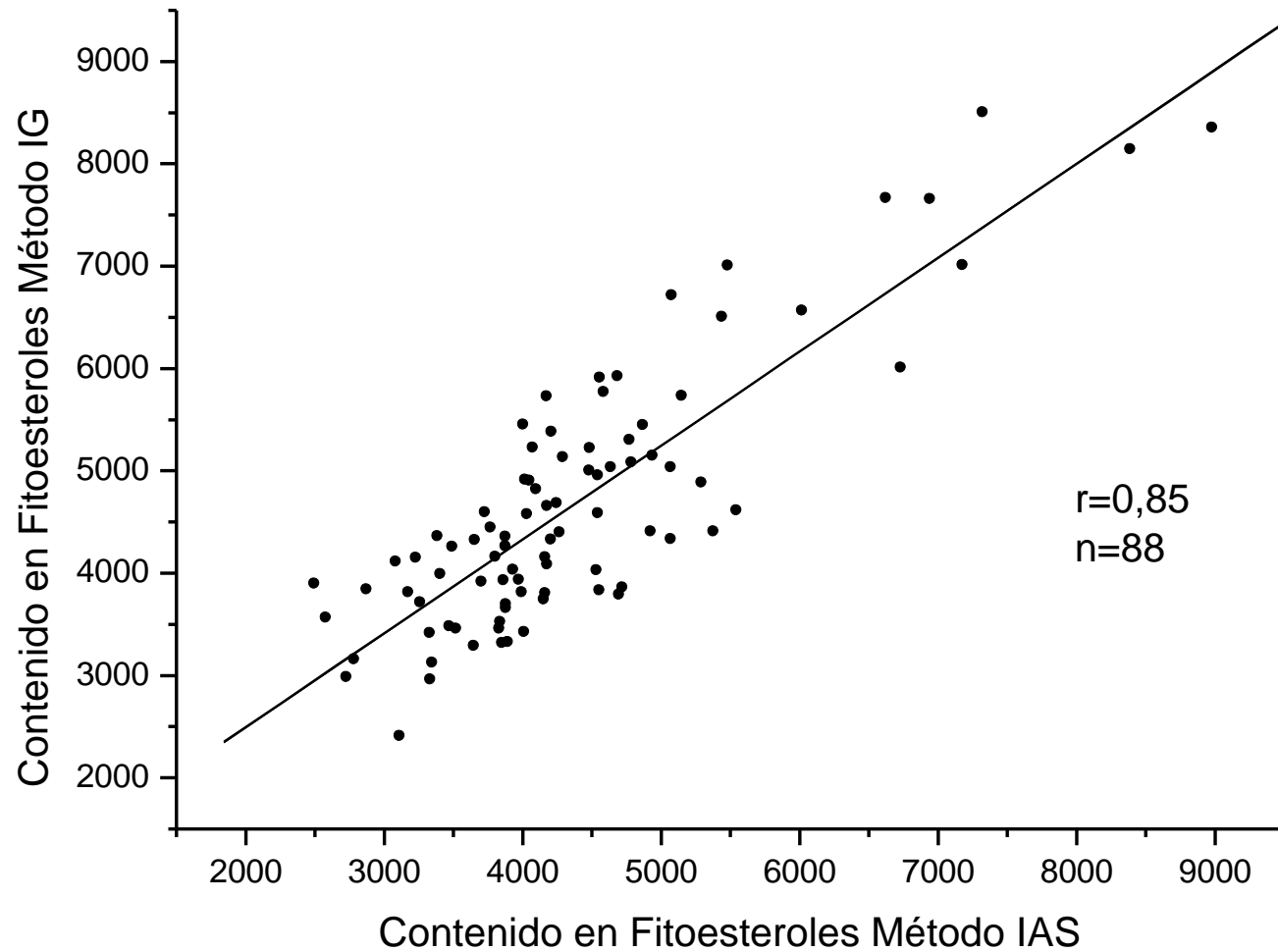
Objetivos específicos: Mejora genética

- Optimización de un método de análisis de fitoesteroles para la evaluación de un elevado número de muestras de semillas.
- Evaluación de una amplia colección de germoplasma de girasol y material derivado de mutagénesis para contenido total y perfil de fitoesteroles en semillas.
- Selección y fijación de genotipos con contenidos y perfiles específicos de fitoesteroles.
- Estudio de la estabilidad y control genético de los nuevos caracteres identificados
- Producción de aceite para ensayos tecnológicos a partir de mutantes con niveles modificados de fitoesteroles

Requisitos para mejora caracteres de calidad

- La mejora para caracteres de calidad requiere el análisis de un gran número de muestras de pequeño tamaño (semillas individuales o medias semillas)
- El desarrollo de métodos de análisis rápidos y fiables de pequeñas muestras de semillas permitió la identificación de gran variabilidad para perfiles de ácidos grasos y tocoferoles en girasol. Al comienzo del proyecto no existía un método similar para el análisis de fitoesteroles en semillas de girasol (el análisis estándar se basa en el aceite extraído)
- Hemos desarrollado un método de análisis de fitoesteroles en pequeñas muestras de semillas. Actualmente lo estamos aplicando al análisis cuantitativo de 6 medias semillas por planta. Una vez que hemos identificado variabilidad para el perfil de fitoesteroles, estamos adaptando el método al análisis de medias semillas individuales (esperamos mostrar los resultados en el congreso de Argentina)

Validación método de análisis



Evaluación de variabilidad

-47 especies silvestres del género *Helianthus* de la colección USDA-ARS



-21 especies y subespecies anuales y 41 perennes

-Un total de 464 entradas evaluadas

-985 entradas de la colección USDA-ARS

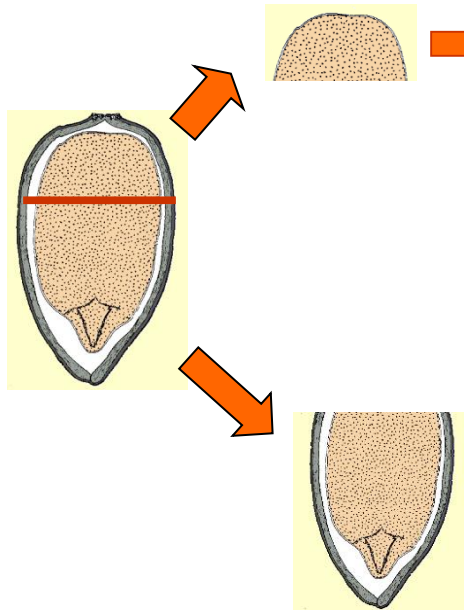
de material cultivado, sembradas en dos ambientes



Metodología

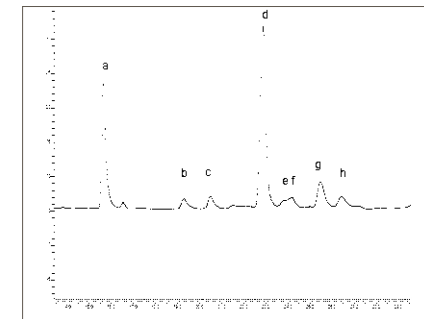
Análisis de contenido y perfil de fitosteroles

Muestras de 6 medias semillas



Extracción and preparación de fitoesteroles for el GC directamente en semillas: (hidrólisis alcalina, extracción y derivatización de los fitoesteroles) sin previa extracción de la fracción lipídica (Fernández-Cuesta et al., 2011)

GLC: Contenido y perfil de fitoesteroles
Contenido total suma de fitoesteroles individuales en base a un patrón interno



Resultados

Contenido total de fitoesteroles en semilla y perfil de los mismos (media y rango de variación) en una colección de germoplasma de 464 entradas de girasol silvestre

Parámetro	Media	Min	Max
Total (mg kg ⁻¹)	2337	1017	4308
Campesterol (%)	9.8	5.1	16.3
Estigmasterol (%)	13.2	3.1	23.9
Beta-sitosterol (%)	56.2	35.0	72.3
Delta-5-avenasterol (%)	8.9	1.9	20.5
Delta-7-estigmastenol (%)	6.4	1.1	20.3
Delta-7-avenasterol (%)	4.2	0.3	10.6

Testigos: 2247 mg kg⁻¹ Total Pytost.; 8.0 % Camp; 8.1 % Stigm; 56.7 % beta-sit; 1.5 % delta-5 ave; 17.6 % delta7 stig ;3.5 % delta 7 ave.

Resultados

Contenido total de fitoesteroles en semilla y perfil de los mismos (media y rango de variación) en una colección de germoplasma de 985 entradas de girasol cultivado

Parámetro	Media	Min	Max
Total (mg kg ⁻¹)	2614	1385	5007
Campesterol (%)	9.7	0.5	23.1
Estigmasterol (%)	8.6	0.2	13.1
Beta-sitosterol (%)	57.7	41.8	77.0
Delta-5-avenasterol (%)	6.1	0.2	19.5
Delta-7-estigmastenol (%)	10.5	0.5	28.9
Delta-7-avenasterol (%)	4.0	0.2	10.9

Testigos: 2247 mg kg⁻¹ Total fitoes.; 8.0 % Camp; 8.1 % Estigm; 56.7 % beta-sit; 1.5 % delta-5-ave; 17.6 % delta-7-stig ;3.5 % delta-7-ave.

Resultados

- Con pocas excepciones los valores medios de estigmasterol fueron significativamente más altos en las especies silvestres que en el material cultivado. Una entrada de *H. floridanus* con 23.9% de estigmasterol vs 8.6 % del testigo cultivado mostró el valor más alto
- Las especies anuales mostraron valores mucho más altos que las perennes para Δ^7 estigmastenol and Δ^7 avenasterol
- H. praecox* mostró los valores más altos para contenido total (4308 mg kg⁻¹ semilla vs 2614 mg kg⁻¹ del testigo cultivado y porcentajes de varios fitoesteroles individuales



Resultados

Se encontraron valores muy altos en la colección de germoplasma cultivado para contenido total en la semilla (5007 mg kg^{-1}) frente a 2614 mg kg^{-1} en los testigos. Algunas entradas mostraron valores muy altos de beta-sitosterol (77% vs 57% del testigo) y delta-7-estimastenol (28% vs 17 % del testigo)



Resultados

Los máximos valores observados para contenido total de fitoesteroles en semilla, 4308 mg kg^{-1} en especies silvestres y 5007 mg kg^{-1} en girasol cultivado, son equivalentes, teniendo en cuenta el contenido de aceite, a más de 12000 mg kg^{-1} en el aceite, tres veces más altos que los valores estandar publicados para el aceite en el girasol



Resultados

-Se ha llevado a cabo una selección de las entradas con los mejores valores de contenido total y perfiles de interés. Algunas de las selecciones están fijadas y en otras se continúa la selección

Se ha solicitado en junio de 2011 la patente "Aceite de girasol con elevado contenido en fitoesteroles" para aceites con contenido en fitoesteroles superior a 7660 mg kg⁻¹ y distintas combinaciones de perfil de fitoesteroles



Resultados

- Si bien está clara la ventaja desde el punto de vista nutricional de aceites con niveles elevados de fitoesteroles, no se ha investigado el valor nutricional asociado a niveles modificados de fitoesteroles, principalmente por la no existencia de variabilidad hasta la fecha
- En algunas de las líneas que estamos terminando de fijar, beta-sitosterol no es ya el fitoesterol mayoritario. Estas líneas serán de gran interés para los citados estudios



Resultados

-Algunos esteroides como delta-5-avenasterol y delta-7-avenasterol tienen importantes propiedades antioxidantes a elevadas temperaturas (fritura) y una gran sinergia con tocoferoles. La combinación de niveles elevados de estos esteroides con perfiles del tipo gamma- y delta-tocoferol y con alto oleico pueden dar lugar a aceites con mucha mayor termoestabilidad que ningún otro aceite del mercado.