

Alteraciones fisicoquímicas de un aceite de oliva empleado en frituras repetidas y su incidencia sobre la lipoproteinemia de ratas

C. Cuesta*, F. J. Sánchez-Muniz, A. Rodríguez y G. Varela

Instituto de Nutrición (CSIC)
Departamento de Fisiología Animal
Facultad de Farmacia
Universidad Complutense
28040 Madrid (España)

(Recibido el 4 de diciembre de 1985)

C. CUESTA, F. J. SANCHEZ-MUNIZ, A. RODRIGUEZ and G. VARELA. *Physicochemical Changes in Olive Oil Used in Repeated Frying and their Effects upon Lipoproteinemia in Rats*. Rev. esp. Fisiol., 51-56, 43 (1), 1987.

The effect of an olive oil used in repeated fryings on certain parameters of lipidic metabolism in rat has been studied. The control animals ingest a diet containing 15% raw olive oil, while in the experimental group the diet contains the same ratio of olive oil but used in repeated fryings. An increase in total esterified cholesterol and in cholesterol bound to HDL was observed in the experimental rats, while the levels of free cholesterol remained constant. Triglycerides decreased significantly. A tendency, non-significant, to decrease the percentage of VLDL was found. The lipidic and proteic composition of VLDL, LDL and HDL is very similar in both groups, although the phospholipid content of VLDL decreased significantly in the experimental group. Results indicate that, in the animals fed fried olive oil, their takes place an adaptation in the mechanisms related to the prevention of a rising of plasmatic cholesterol levels.

Key words: Olive oil, Frying and lipoproteinemia, Lipoproteinemia, Rat.

Son abundantes las publicaciones que tratan de la influencia de la ingesta de grasas crudas sobre el metabolismo lipídico. No obstante, son muy escasos los estudios que se refieren a la incidencia que sobre dicho metabolismo ejerce la ingesta de grasas sometidas a procesos de

calentamiento, circunstancia que habitualmente se produce en el tratamiento de los alimentos (frituras, cocción, horneado, etc.).

En las grasas empleadas en frituras se produce una serie de alteraciones que dependen del grado de saturación que inicialmente posee la grasa cruda (13, 18), las cuales suponen modificaciones de la composición porcentual de los ácidos gra-

* Correspondencia y petición de separatas.

sos* y la aparición de peróxidos y polímeros (4, 19, 27).

El objeto de este trabajo es comparar las variaciones en el porcentaje de los AG, del Índice de yodo, Índice de peróxidos e Índice de refracción del aceite de oliva utilizado en frituras repetidas respecto al mismo aceite crudo y la incidencia de la ingesta de ambos aceites sobre la lipidemia y lipoproteinemia de ratas.

Material y Métodos

Animales y dieta. — Las experiencias se realizaron en ratas Wistar machos al destete, con un peso inicial medio de 45 g, las cuales se alojaron en células de metabolismo individuales (modelo Schiller) en una cámara termorregulada a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, y con iluminación desde las 08,00 a las 20,00 horas.

Durante un período experimental de 10 semanas, los animales distribuidos en dos lotes A y B ingirieron *ad libitum* su dieta correspondiente.

Las dietas que eran isocalóricas entre sí tenían un 10% de proteína (caseína suplementada con D-L-metionina), 15% de aceite de oliva virgen, 8% de fibra bruta (celulosa microcristalina).

El aporte de un 5% de minerales y un 5% de vitaminas hidrosolubles se ajustó mediante la incorporación de correctores adecuados (19). Se añadieron independientemente las vitaminas liposolubles A

y D. El 57% restante de la dieta estuvo integrado por una mezcla de almidón de trigo y sacarosa a partes iguales.

Las dietas diferían únicamente por el tipo de aceite que se añadió. La dieta A (para el lote A) contenía aceite de oliva virgen y la dieta B el mismo aceite de oliva, pero que había sido empleado en 30 frituras sucesivas de patatas. La composición porcentual de los AG de ambas dietas aparece en la tabla I.

Las frituras se realizaron a 180°C durante 5 minutos, utilizando un volumen de 5 l de aceite, adicionando en cada fritura 100 g de patatas (19). El número total de frituras fue de 30 y se dejó que el aceite alcanzase la temperatura ambiente entre cada una de ellas.

Análisis de los aceites. — El índice de yodo se determinó por el método de HANUS (1). El índice de peróxidos por yodometría (1) y el índice de refracción con un refractómetro de ABBE (1).

La composición en AG del aceite crudo y del procedente de las frituras se determinó por cromatografía gaseosa, previa obtención de los ésteres metílicos según se describió con anterioridad (21).

Separación de lipoproteínas (Lp). — La separación de VLDL, LDL y HDL se efectuó en 6 sueros del grupo A y en 5 del grupo B tomados al azar. Se realizó en ultracentrífuga (Model L 5-50, rotor SW-50. 1, Beckman Instruments) a $225.000 \times g$ durante 180 minutos (20).

Análisis del suero y de las Lp séricas. — HDL-C, CT, CL, Tg, FL y AGL se determinaron en plasma según se ha descrito en (21). El contenido proteico, CT, FL y Tg en VLDL, LDL y HDL se evaluaron igualmente según se comentó en (21).

Los porcentajes de VLDL, LDL y HDL en suero se valoraron mediante lipoproteinograma por electroforesis en geles discontinuos de poliacrilamida

* Abreviaciones

ACAT: acil-CoA-colesterol-acil-transferasa; AG: ácidos grasos; AGL: ácidos grasos libres; CE: colesterol esterificado; CL: colesterol libre; CT: colesterol total; FL: fosfolípidos; HDL-C: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; LCAT: lecitín-colesterol-acil-transferasa; LDL: lipoproteínas de baja densidad; Lp: lipoproteínas; PAGE: electroforesis en geles discontinuos de poliacrilamida; Tg: triglicéridos; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

(PAGE) (22). Todas las determinaciones se llevaron a cabo con control de calidad y los datos obtenidos se trataron estadísticamente con el test de *t*-Student.

Resultados y Discusión

Variaciones fisicoquímicas en el aceite de oliva. — En la tabla I se observa que el índice de yodo del aceite de oliva desciende después de 30 frituras repetidas de patatas, esto está de acuerdo con lo descrito por DÍAZ ALONSO (5). Esta bajada del índice de yodo es paralela a la disminución de AG insaturados, como pudo ser comprobado en el estudio de cromatografía gaseosa (tabla I). A resultados equivalentes llegó FIGUEROA (10) en fritura de patatas en freidoras domésticas.

Las modificaciones observadas en el índice de peróxidos (tabla I) del aceite de oliva fueron de un 20,4% (10,84) en la fritura n.º 10 respecto al aceite de oliva crudo, descendiendo a niveles basales en la fritura 30.

GUILLAUMIN (12) y PAQUOT y CUVIER (17) señalan que la temperatura y presencia de oxígeno favorecen la alteración de las grasas por formación de componentes peroxidados.

DÍAZ ALONSO (4, 5) encuentra, para diferentes aceites en el transcurso de frituras sucesivas, un incremento del índice de peróxidos, produciéndose después un descenso. Estos datos concuerdan con lo observado en este estudio y por FIGUEROA (10).

Respecto al índice de refracción (tabla I) se vio un aumento para el aceite de fritura respecto al crudo que se reflejaba en la cuarta decimal, lo cual coincide con los valores dados por TRUYOLS y THOMAS (26). Las variaciones de este índice son paralelas a la formación de polímeros en las grasas calentadas.

DÍAZ ALONSO (4) vio en condiciones similares a las nuestras las variaciones del aceite de oliva en el transcurso de frituras

Tabla I. Variaciones en distintos parámetros de los aceites de las dietas A y B.

	Dieta A	Dieta B
INDICE DE YODO	83,26	72,33
INDICE DE PEROXIDOS	8,63	8,81
INDICE DE REFRACCION	1,4662	1,467
COMPOSICION PORCENTUAL		
Acido palmitico (C _{16:0})	9,52	11,97
Acido palmitoleico (C _{16:1})	0,62	0,85
Acido esteárico (C _{18:0})	3,04	3,89
Acido oleico (C _{18:1})	78,17	78,03
Acido linoleico (C _{18:2})	7,89	3,76
Acido linolénico (C _{18:3})	0,52	0,33
Acido aráquico (C _{20:0})	0,22	0,35
INDICE DE SATURACION	6,82	5,12

con patatas, coincidiendo con los resultados de este estudio en el incremento observado del índice de refracción.

En relación a los cambios de AG del aceite empleado en frituras respecto al basal se observó (tabla I) un descenso porcentual de los AG poliinsaturados, quedando sin modificar los AG monoinsaturados. Estos resultados coinciden con los de GUILLAUMIN (12) y VIGNERON *et al.* (28).

GUILLAUMIN *et al.* (14) indican que los ácidos linoleico y linolénico son los que más se degradan. Este hallazgo coincide con los resultados de la tabla I en los que se observa una disminución del ácido linoleico en el aceite de oliva frito con respecto al crudo de un 52,3%.

Efecto de las dietas conteniendo aceite de oliva crudo y utilizado en frituras sobre el metabolismo lipídico. — En la tabla II están reseñadas las diferencias en la lipidez de ambos lotes, observándose un incremento significativo del CT (21%), CE (33%) y HDL-C (22%) no afectándose los FL, aun cuando éstos tienen tendencia a elevarse (11%). Los AGL no variaron.

En un estudio paralelo a éste (21) en el que era empleado para frituras una grasa

Tabla II. *Lípidos séricos (mg/dl) y distribución de lipoproteínas séricas (%) de ratas alimentadas con dietas conteniendo aceite de oliva crudo (dieta A) o procedente de frituras (dieta B).*
Número de animales por cada dieta, 12. Cada valor representa la media $\pm$ SEM.

	Dieta A	Dieta B
<i>Lípidos séricos</i>		
CT	63,2 $\pm$ 2,3*	76,4 $\pm$ 3,7
CE	39,8 $\pm$ 3,0*	52,9 $\pm$ 3,2
CL	23,4 $\pm$ 1,9*	23,5 $\pm$ 1,4
HDL-C	32,5 $\pm$ 1,1*	39,5 $\pm$ 2,0
Tg	115,1 $\pm$ 7,8*	82,8 $\pm$ 6,3
FL	81,9 $\pm$ 4,2	90,6 $\pm$ 2,9
AGL	10,5 $\pm$ 0,7	9,3 $\pm$ 0,8
<i>Lipoproteínas séricas</i>		
VLDL	20,5 $\pm$ 2,1	15,1 $\pm$ 1,8
LDL	6,1 $\pm$ 1,0	7,4 $\pm$ 0,9
HDL	73,8 $\pm$ 2,0	77,4 $\pm$ 2,3

* $p < 0,05$ vs mismo parámetro dieta B.

vegetal sólida para industria alimentaria más saturada que el aceite de oliva, se observaba una secuencia metabólica similar a ésta. Resultados similares fueron obtenidos por GUILLAUMIN *et al.* (14).

GLOMSET y NORUM (11) han señalado que la rata esterifica su CL como mecanismo que contribuye a controlar la colesteroemia.

Se ha descrito en ratas una intensa esterificación realizada a través de distintos

enzimas: LCAT en plasma (15) y ACAT en hígado (11). Estos autores señalan que la mayoría del CE sería formado por el enzima ACAT en hígado e incorporado a las VLDL sintetizadas en este órgano. Relacionan también la caída en los niveles de Tg con el incremento en las cifras de esterificación, lo cual coincide con nuestros resultados (tabla II).

Los resultados que se observan en las tablas II y III que se refieren respectivamente a las valoraciones de Lp séricas por PAGE y ultracentrifugación, son similares a las obtenidas por diferentes investigadores (2, 6, 21, 25).

La distribución lipoproteica encontrada en ambos lotes responde a las peculiaridades del metabolismo lipídico de esta especie (2, 6-9, 21, 25, 29), por lo que podemos afirmar de una manera general que en la rata la ingesta de aceite de oliva utilizado en frituras repetidas de patatas no afecta más que de forma ligera al metabolismo lipoproteico y composición de las lipoproteínas.

No se observó variación significativa en los porcentajes de VLDL, LDL y HDL (tabla II); no obstante, existe una tendencia a la disminución de las VLDL (26%). La disminución de estas Lp fue significativa (32%) en un trabajo paralelo realizado con otra grasa más saturada en condiciones similares (21).

Las variaciones del contenido lipídico y

Tabla III. *Niveles de lípidos y proteínas (mg/dl) en las lipoproteínas de ratas alimentadas con dietas conteniendo aceite de oliva crudo (Dieta A) o procedente de frituras (Dieta B).*

Entre paréntesis número de animales. Cada valor es la media $\pm$ SE. ND = No determinado.

Lipoproteínas	Dieta	Triglicéridos	Colesterol Total	Fosfolípidos	Proteínas
VLDL	A (6)	49,8 $\pm$ 5,1	6,6 $\pm$ 1,3	9,4 $\pm$ 1,3*	25,1 $\pm$ 4,1
VLDL	B (5)	36,8 $\pm$ 4,6	4,6 $\pm$ 0,4	5,8 $\pm$ 0,5	15,4 $\pm$ 2,1
LDL	A (6)	12,3 $\pm$ 1,7	6,7 $\pm$ 1,2	5,4 $\pm$ 0,8	18,7 $\pm$ 4,9
LDL	B (4)	10,4 $\pm$ 2,5	6,7 $\pm$ 1,7	4,3 $\pm$ 1,0	14,5 $\pm$ 1,5
HDL	A (6)	34,6 $\pm$ 4,7	48,6 $\pm$ 7,0	83,9 $\pm$ 5,4	ND
HDL	B (4)	38,6 $\pm$ 5,3	51,3 $\pm$ 9,4	76,5 $\pm$ 3,9	ND

* $p < 0,05$ vs la misma lipoproteína dieta B.

proteico de las Lp se muestran en la tabla III. Se observa un descenso significativo de los FL de las VLDL del lote B (38%), pero como también existen descensos no significativos del resto de los componentes lipídicos de estas VLDL: CT (30%), Tg (26%) y proteínas (39%), esto supondría que prácticamente la composición relativa de los componentes de las VLDL del lote B son muy similares a las del lote A.

A semejantes consideraciones se llega respecto a LDL y HDL, si bien las variaciones no son tan marcadas ni tan homogéneas (tabla III).

De esto parece deducirse que la tendencia a la disminución en el porcentaje de las VLDL estaría relacionada con un posible descenso del número de partículas VLDL, como consecuencia de la disminución de su síntesis (29) o a un aclaramiento hepático de estas partículas, según señalan (7, 9).

Estos investigadores encuentran que en rata existe una intensa captación de VLDL por el hígado, no sólo como VLDL remanentes (disminuidas en Tg y enriquecidas en CE), sino como VLDL sin modificar (3).

La captación de VLDL es para SHEL-BURNE *et al.* (23) un mecanismo que contribuye a regular la colesterolemia ya que inhibe la síntesis hepática de colesterol. Por otra parte las ratas de este estudio se alejan del modelo de ratas hipercolesterolémicas, cuyas características fundamentales serían la existencia de VLDL muy ricas en ésteres de colesterol y la presencia de una HDL anómala (16) (24).

Aun cuando la ingesta de aceite de oliva utilizado en frituras induce en la rata un incremento del CT a expensas del CE, es de señalar asimismo el incremento significativo de HDL-C.

Esto sería un mecanismo que contribuye a mantener unos niveles fijos de CL. El descenso de VLDL estaría relacionado con un control en la homeostasis del colesterol.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado en parte por El Consejo Oleícola Internacional.

Resumen

Se estudia la influencia de un aceite de oliva utilizado en repetidas frituras, sobre ciertos parámetros del metabolismo lipídico, en ratas. Los animales control ingieren una dieta que contiene 15% de aceite de oliva crudo, mientras que para el grupo experimental, la dieta contiene la misma proporción de aceite de oliva utilizado en repetidas frituras. En las ratas experimentales se observa en suero un incremento de colesterol total esterificado y del colesterol unido a HDL, manteniéndose constantes los niveles de colesterol libre. Los triglicéridos disminuyen significativamente. Existe una tendencia, no significativa, de disminuir el porcentaje de VLDL. La composición lipídica y proteica de VLDL, LDL y HDL es similar en ambos grupos, si bien el contenido de fosfolípidos de las VLDL disminuye significativamente en el grupo experimental. Los resultados indican que, en los animales alimentados con aceite de oliva recalentado, hay una adaptación en los mecanismos relacionados con la prevención de una elevación de los niveles de colesterol plasmático.

Palabras clave: Aceite de oliva, frituras y lipemia, lipoproteinemia, rata.

Bibliografía

1. Casares, R.: Tratado de Análisis Químico. Ed. Casares. Madrid, 1967.
2. Chapman, M. J.: *J. Lipid Res.*, 21, 789-853, 1980.
3. Cooper, A. D.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 488, 464-474, 1977.
4. Díaz-Alonso, A. L.: *Grasas y Aceites*, 28, 235-241, 1977.
5. Díaz-Alonso, A. L.: *Grasas y Aceites*, 28, 319-323, 1977.
6. Dolphin, P. J.: *J. Lipid Res.*, 22, 271-289, 1981.
7. Eisenberg, S. y Levi, R. I.: *Adv. Lipid Res.*, 13, 1-89, 1975.
8. Faergeman, O. y Havel, R. J.: *J. Clin. Invest.*, 55, 1210-1218, 1975.

9. Faegerman, O., Sata, T., Kane, J. P. y Havel, R. J.: *J. Clin. Invest.*, 56, 1396-1403, 1975.
10. Figueroa, B.: Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. 1984.
11. Glomset, J. A. y Norum, K. R.: *Adv. Lipid Res.*, 11, 1-65, 1973.
12. Guillaumin, R.: *Rev. Franç. Corps Gras*, 20, 483-486, 1973.
13. Guillaumin, R., Gente, M. y Desrieux, M.: *Rev. Franç. Corps Gras*, 20, 413-419, 1973.
14. Guillaumin, R., Coquet, B. y Rouand, J. D.: *Ann. Nutr. Alim.*, 32, 467-481, 1978.
15. Lacko, A. G., Rutemberg, A. L. y Soloff, L. A.: *Atherosclerosis*, 19, 297-307, 1974.
16. Mahley, R. W. y Holcombe, K. S.: *J. Lipid Res.*, 18, 314-324, 1977.
17. Paquot, C. y Cuvier, P.: *Rev. Franç. Corps Gras*, 24, 41-45, 1977.
18. Permanyer, J. J. y Boatella, J.: *An. Bromatol.*, 29, 489-496, 1977.
19. Rodríguez, A.: Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. 1982.
20. Sánchez-Muniz, F. J., Cuesta, C., Rodríguez, A., Terpstra, A. H. M., Herrero, R. y Varela, G.: *Rev. esp. Fisiol.*, 38 supl., 281-284, 1982.
21. Sánchez-Muniz, F. J., Cuesta, C., Rodríguez, A. y Varela, G.: *Rev. esp. Fisiol.*, 42, 105-110, 1986.
22. Schaafma, G. y Van Oudheusden, A. P. M.: *Pharmaceutisch. Weekblad*, 109, 713-717, 1974.
23. Shelburne, F., Hanks, J., Meyers, W. y Quarfordt, S.: *J. Clin. Invest.*, 65, 652-658, 1980.
24. Swift, L. L., Soulé, P. D., Gray, M. E. y LeQuire, V. S.: *J. Lipid Res.*, 25, 1-13, 1984.
25. Terpstra, A. H. M., Sánchez-Muniz, F. J., West, C. E. y Woodward, C. J. H.: *Comp. Biochem. Physiol.*, 71B, 669-673, 1982.
26. Truyols, M. y Thomas, J.: *An. Bromatol.*, 18, 5-66, 1968.
27. Varela, G., Moreiras-Varela, O. y Ruiz-Roso, B.: *Grasas y Aceites*, 34, 101-107, 1983.
28. Vigneron, P. Y., Spicht, P. y Audegond, M.: *Rev. Franç. Corps Gras*, 20, 463-469, 1973.
29. Windmueller, H. G. y Spaeth, A. E.: *J. Lipid Res.*, 26, 70-81, 1985.