

27 - Agroalimentos

EMPLEO PROMISORIO DE SEMILLAS DE RÚCULA COMO FUENTE DIETARIA DE ERUCINA

Torres-Palazzolo, Carolina; Camargo, Alejandra

ctorrespalazzolo@gmail.com; alebcamargo@gmail.com;

IBAM, UNCuyo, CONICET, Facultad de Ciencias Agrarias. Laboratorio de Cromatografía para Agroalimentos. Almirante Brown 500, M5528AHB, Chacras de Coria, Argentina.

Resumen

Se ha postulado que el isotiocianato (ITC) erucina (ER) podría ayudar a prevenir enfermedades como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas como así también ejercer actividades anti-inflamatorias y anti-adipogénicas. Este compuesto ha sido encontrado en tejidos de rúcula principalmente, junto con otros ITCs bioactivos, como su análogo oxidado el sulforafano (SF). Las últimas investigaciones en el área de los nutraceuticos indican que para que el consumo de un fitoquímico resulte bioeficaz, la matriz alimentaria que lo contenga debe liberarlo al tracto gastrointestinal durante la digestión (bioaccesibilidad) y de esta manera pueda ser absorbido y distribuido por el organismo. Todavía no se conoce si el consumo de rúcula aporta cantidades apreciables de ER bioaccesible. El presente trabajo busca determinar el contenido y la bioaccesibilidad de ER en semillas y hojas de rúcula. Con este fin, se realizó protocolo de digestión gastrointestinal *in-vitro* con las muestras y se analizó su contenido de ITCs mediante HPLC-DAD. Los resultados obtenidos demuestran que los niveles de ER no solo se mantuvieron sino que aumentaron luego del proceso digestivo. Esto permitió hipotetizar que la bioaccesibilidad de ER se vería favorecida por la presencia concomitante de su análogo oxidado sulforafano, que por medio de una reacción de interconversión favorecería a la especie reducida ER. Con respecto a las muestras de rúcula analizadas, las semillas se posicionaron como una promisorio fuente dietaria de erucina, debido a que su contenido fue 150 veces mayor que el de las hojas.

Palabras clave: rúcula, semillas, erucina, bioaccesibilidad.

1. Introducción

Existe una tendencia de los consumidores a incluir mayor cantidad y variedad de alimentos “saludables” en su régimen alimentario. Esto se fundamenta por la correlación existente entre un mayor consumo de frutas y hortalizas con la disminución del riesgo a padecer ciertas enfermedades crónicas. Más precisamente, el Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer ha estimado que las dietas basadas en alimentos de origen vegetal reducirían el riesgo de padecer cáncer en un 30-40% (Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer/Instituto Estadounidense de Investigación sobre el Cáncer., 2007; Vermeulen, 2009).

En este contexto, un importante esfuerzo de investigación está orientado hacia el desarrollo de alimentos funcionales que promuevan la salud. Estos estudios se basan en componentes dietéticos menores, como vitaminas, oligoelementos y fitoquímicos. Estos últimos son metabolitos secundarios de las plantas, que pueden no ser micronutrientes esenciales para la vida y/o no causar deficiencias que se manifiesten clínicamente, sin embargo, son esenciales para mantener y mejorar la salud y el bienestar, sobre todo en los adultos y los ancianos (Holst & Williamson, 2008).

Estudios científicos han asociado el consumo de vegetales de la familia de las crucíferas (brócoli, repollo, rabanito,

rúcula, etc.) con una reducción del riesgo a padecer enfermedades crónicas, principalmente cáncer (Melchini & Traka, 2010; Vermeulen, 2009). Estos beneficios para la salud han sido atribuidos, principalmente, a un grupo característico de compuestos azufrados llamados isotiocianatos (ITCs). Estos fitoquímicos son generados mediante una hidrólisis enzimática que se produce luego de una disrupción tisular del vegetal, lo que permite que entren en contacto los glucosinolatos (GLS) presentes en el citoplasma con la enzima tioglucósido glucohidrolasa (mirosinasa) contenida en las vacuolas celulares (Gründemann & Huber, 2018).

Recientemente, se ha demostrado que el compuesto 4-(metiltio) butil isotiocianato (erucina o ER) es un ITC bioactivo que podría ayudar a prevenir el cáncer (Gründemann & Huber, 2018; Melchini & Traka, 2010), retrasar la progresión de la enfermedad de Parkinson (Morrone et al., 2018), ejercer actividades anti-inflamatorias y anti-adipogénicas (Chae et al., 2015; Cho, Lee, & Yoon Park, 2013), entre otras (Cavaiuolo & Ferrante, 2014; Kala, Ali, Ahmad, Gilani, & Khan, 2018). Lo que es más, este fitoquímico ha despertado un gran interés no sólo por su probada bioactividad, sino también por su prometedora biodisponibilidad (fracción del compuesto que es capaz de llegar al torrente sanguíneo luego de su

administración oral) y también la de sus conjugados metabólicos que rondaría el 94% (Melchini & Traka, 2010; Platz et al., 2015; Triggle, 2006).

La erucina es un ITC que proviene de la hidrólisis del GLS denominado glucoerucina, compuesto que ha sido identificado previamente como el GLS mayoritario en semillas y brotes de *Eruca sativa* Mill. "rúcula". (Pasini, Verardo, Caboni, & D'Antuono, 2012; Robin, Arora, Arora, & Vig, 2018). Cabe destacar que este compuesto posee numerosos efectos bioactivos pero además, ejerce actividad antioxidante directa convirtiéndose en 4(metilsulfinil) butil-isotiocianato (sulforafano o SF), el cual también está presente naturalmente en los tejidos de la rúcula (Barillari et al., 2005; Pasini et al., 2012; Vaughn & Berhow, 2005). Se podría suponer que al contener fitoquímicos bioactivos, la ingesta de rúcula es benéfica para la salud de sus consumidores. Sin embargo, para que el consumo de un fitoquímico resulte bioeficaz, la matriz alimentaria que lo contenga debe poder liberarlo a la luz del tracto gastrointestinal (GI) durante la digestión. De esta manera, el compuesto quedará disponible para ser asimilado, es decir será bioaccesible (Barba et al., 2017; Holst & Williamson, 2008). En este sentido, todavía faltan estudios que evalúen si el consumo de rúcula aporta cantidades apreciables de ER

bioaccesible. El presente trabajo busca determinar el contenido y la bioaccesibilidad de ER en semillas y hojas de rúcula. Con este fin, se realizó protocolo de digestión gastrointestinal *in-vitro* con las muestras y se analizó su contenido de ITCs mediante HPLC-DAD.

2. Objetivos

Evaluar el contenido y bioaccesibilidad de erucina en muestras de hojas y semillas de rúcula aptas para consumo.

3. Materiales y métodos

3.1 Reactivos y estándares analíticos

Los solventes acetonitrilo (ACN) y metanol (MeOH) grado cromatográfico eran de J.T.Baker, (EE.UU.). El diclorometano (DCM) grado cromatográfico Merck (Kenilworth, NJ, EE. UU.). El agua ultrapura (18 MΩcm) se obtuvo a partir de un sistema de purificación de agua Milli-Q (Millipore, Molsheim, Francia). El Sulforafano (pureza > 97%) de LKT Laboratories (Minnesota, EE.UU.). El aceite de rúcula con contenido de erucina estandarizado, obtenido en el laboratorio siguiendo el procedimiento publicado por Vaughn & Berhow, 2005. Las enzimas pepsina porcina (P7000) y pancreatina porcina (P7545), las sales biliares porcinas (B8756), el clorhidrato de sodio (S7653) y el bicarbonato de sodio (S5761) se obtuvieron de Sigma-Aldrich (Saint Louis, EE. UU.).

3.2 Preparación de muestras

Semillas y hojas de rúcula, *Eruca sativa* Mill., fueron provistas por un agricultor local. Las plantas fueron cultivadas en Mendoza, Argentina.

En el caso de las hojas de rúcula, se realizó un homogenato licuando 70 g de vegetal por cada 100 mL de agua durante 9 minutos (licuadora modelo HR2030/10, PHILLIPS, Buenos Aires, Argentina). Este paso causó una profusa disrupción tisular que permitiría una mayor síntesis de ITCs (Verkerk et al., 2009). El homogenato resultante se mantuvo en agitación a 250 rpm y 37°C durante 2 horas para permitir la hidrólisis de los GLS.

En el caso de las semillas, inicialmente fueron molidas en mortero, se pesaron 2 g y se adicionó 10 mL de solución tampón NaHCO₃ 0,1 M / NaCl 0,15 M pH 8,4. Esta mezcla dejó reposar al abrigo de la luz en un frasco cerrado durante 18 horas para su posterior uso.

3.3 Digestión *in-vitro*

La digestión gastrointestinal *in-vitro* se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito por Torres-Palazzolo et al., 2018.

La bioaccesibilidad porcentual (%) se calculó como el cociente entre la cantidad de analito determinada en los fluidos gastrointestinales luego del proceso de digestión *in-vitro*, y la cantidad inicial en la muestra.

3.4 Análisis del contenido de ITCs: erucina y sulforafano

Las semillas de rúcula hidratadas fueron extraídas según el procedimiento descrito por Vaughn & Berhow, 2005. Por otro lado, todas las muestras de la digestión gastrointestinal *in-vitro* y el homogenato de las hojas de rúcula fueron centrifugadas a 10000 g durante 20 min y se recuperó el sobrenadante para la posterior extracción. Luego se realizó una microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) que consistió en la adición rápida de un mililitro de ACN (disolvente dispersivo) con 700 µL de DCM (disolvente de extracción) utilizando una jeringa. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 2000 rpm durante 2 minutos (Gelec, G142, Buenos Aires, Argentina). La gota de DCM se recuperó, se secó bajo corriente de nitrógeno, se redisolvió en 500 µl de MeOH y finalmente se filtró a través de membranas de nylon de 0,22 µm.

Finalmente, la determinación de ER se realizó mediante un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC, modelo LC-20AT) con detector de arreglo de diodos (DAD, modelo SPD-M20A) marca Shimadzu (Shimadzu Corporation, Japón). La columna empleada fue una ODS Waters RP-C18 (150 mm x 4,6 mm x 5 µm) (Waters Corporation, EE.UU.). Para la fase móvil se empleó MeOH (A) y agua miliQ (B); el programa en gradiente lineal

fue: 0 min 50% A, 20 min 80% A, 30 min 80% A. El flujo fue de 0,6 mL min⁻¹, y la duración de cada corrida cromatográfica fue de 30 min. La longitud de onda de trabajo fue 241 nm. Los datos fueron procesados con el software LabSolutions 5.82 (Shimadzu Corporation, Japón). La identificación de los picos se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención y los espectros UV con los de los estándares analíticos de referencia. Finalmente, el análisis de los resultados se realizó con el software estadístico INFOSTAT.

4. Resultados y discusión

Los isotiocianatos ER y SF fueron cuantificados en hojas y semillas de rúcula

antes y después de ser sometidas a un proceso de digestión gastrointestinal *in-vitro*. Además, para evaluar el efecto de diferentes matrices vegetales sobre la bioaccesibilidad de ER y SF, se sometió a digestión GI *in-vitro* el aceite estandarizado de rúcula. En la figura 1, se presentan los resultados obtenidos. Allí se evidencia que en todas las muestras bajo estudio, SF fue 10-25% bioaccesible. Mientras que por otro lado, ER supera el 100%. Comparando las muestras, las semillas se diferenciaron significativamente del aceite estandarizado y las hojas de rúcula, presentando porcentajes de bioaccesibilidad menores.

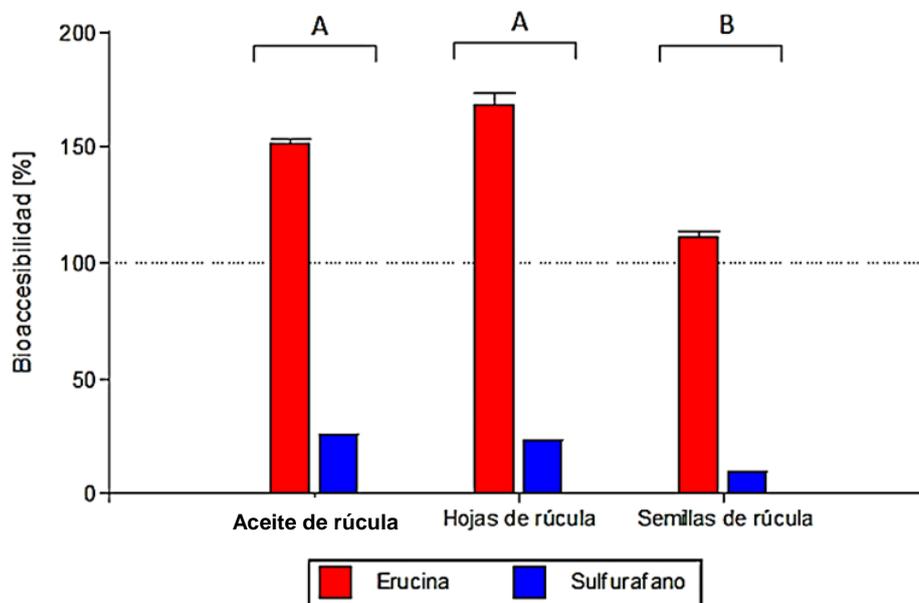


Figura 1 – Bioaccesibilidad de erucina y sulfurafano en preparaciones digeridas de rúcula.

A, B - letras diferentes corresponden con diferencias significativas en la bioaccesibilidad de las muestras (MANOVA con Test de Hotelling, $p \leq 0,05$).

Para conocimiento del autor, este es el primer trabajo que evalúa la bioaccesibilidad de ER en matrices vegetales; actualmente no existe información bibliográfica que describa cómo se comporta ER durante los procesos digestivos. Los resultados del presente trabajo muestran que la bioaccesibilidad de ER superó el 100%. Esto indicaría que la misma se mantiene estable durante el proceso digestivo, y lo que es más aumenta respecto de las concentraciones iniciales. En relación a estos resultados, es esperable que una elevada bioaccesibilidad de ER concuerde, a posteriori, con una elevada biodisponibilidad plasmática. Al respecto, Melchini & Traka, (2010) observaron que los conjugados metabólicos del par ER-SF tenían elevada biodisponibilidad plasmática (94%), cuando los estándares puros eran administrados por gavaje a ratas.

Por otro lado, se realizó un análisis de correlación entre las cantidades de ER y SF bioaccesibles, allí se vio una relación entre el aumento de los niveles de ER y la disminución de las concentraciones SF (coeficiente de correlación de Pearson 0,98). Como resultado de este análisis, se sugiere la existencia de una interconversión ER-SF en los fluidos digestivos, la cual favorecería a la especie reducida ER. Esta hipótesis está fundada en bibliografía previa, donde se describe

la interconversión reversible entre ER y su forma oxidada SF en otros medios biológicos, y donde se ha observado que el equilibrio de la interconversión es tejido-dependiente (Abbaoui et al., 2012; Bricker et al., 2014; Clarke et al., 2011; Melchini & Traka, 2010; Saha et al., 2012).

Por otro lado, las semillas presentaron una bioaccesibilidad de ER menor al de las muestras de extracto y hoja de rúcula (alrededor de un 50% menos). Esto podría deberse a una interacción de ER con compuestos de la matriz que disminuiría la liberación del fitoquímico hacia los fluidos gastrointestinales. En este sentido, las semillas de rúcula poseen elevada cantidad de fibras solubles que forman una densa capa de mucílago en su superficie cuando son hidratadas (Koocheki, Razavi, & Hesarinejad, 2012). Varios trabajos han informado que las interacciones moleculares con ciertos componentes de la matriz alimentaria, como fibras dietéticas podrían afectar negativamente la bioaccesibilidad, ya que los fitoquímicos que quedan atrapados o unidos a la fibra son escasamente extraídos por los fluidos gastrointestinales (Alminger et al., 2014; Lucas-gonzález, Viuda-martos, Pérez-Alvarez, & Fernández-lópez, 2018). Además, las semillas de rúcula poseen 25-40% de materia grasa (Moser, Winkler-Moser, Shah, & Vaughn, 2010) y ER es un compuesto de carácter lipofílico

(coeficiente de partición 1-octanol/agua, Log_p 3.09 - ACD/Labs - Módulo PhysChem). Otros trabajos han demostrado que la presencia de aceite en ciertas semillas disminuye la bioaccesibilidad digestiva de los fitoquímicos lipofílicos provocando su retención en la matriz digerida (Pellegrini et al., 2018).

Respecto a la cantidad de ER, que aportaría el consumo de hojas y/o semillas de rúcula, la figura 2, muestra claramente que las semillas contribuirían a la dieta con una cantidad significativamente mayor de ER por gramo consumido, tanto antes como después de la digestión. Los datos de contenido inicial de ER coinciden con fuentes bibliográficas que determinaron que ER era el ITC mayoritario en semillas, raíces y brotes de rúcula, por el contrario en las hojas sólo se encontró como un componente minoritario (Barillari et al., 2005; Fechner, Kaufmann, Herz, Eisenschmidt, & Lamy, 2018; Pasini et al., 2012; Robin et al., 2018; Vaughn & Berhow, 2005). El incremento que se observa en la cantidad de ER luego de la

digestión, estaría causada por el efecto conjunto de la estabilidad digestiva de ER y la interconversión SF-ER.

5. Conclusiones

Se demostró que ER es un ITC completamente bioaccesible en rúcula. A su vez, su bioaccesibilidad se vería favorecida en detrimento de la de su análogo oxidado, sulforafano, por medio de una reacción de interconversión que favorece a la especie reducida (ER). Con respecto a las muestras de rúcula analizadas, las semillas se posicionaron como una promisorio fuente dietaria de erucina, debido a que su contenido fue 150 veces mayor que el de las hojas. Se necesitarán estudios adicionales que determinen la seguridad toxicológica y la aceptabilidad sensorial de las semillas acondicionadas, a su vez, se deberían evaluar los efectos benéficos producidos por ER cuando es consumida por este medio.

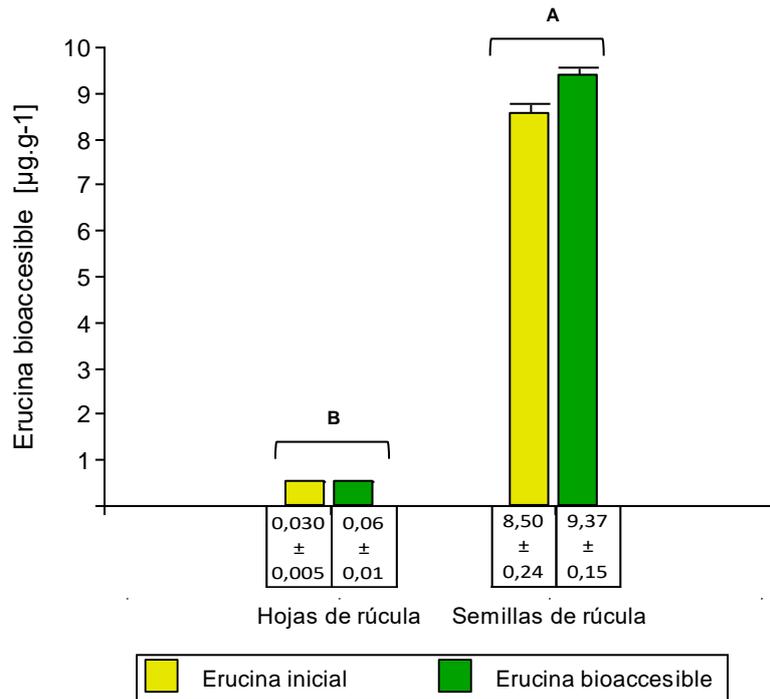


Figura 2 – Cantidad de erucina bioaccessible por gramo de rúcula digerida [µg.g⁻¹].

A, B - letras diferentes corresponden con diferencias significativas en la cantidad de ER de las muestras (MANOVA con Test de Hotelling, $p \leq 0,05$).

Bibliografía

- Abbaoui, B., Riedl, K. M., Ralston, R. A., Thomas-Ahner, J. M., Schwartz, S. J., Clinton, S. K., & Mortazavi, A. (2012). Inhibition of bladder cancer by broccoli isothiocyanates sulforaphane and erucin: Characterization, metabolism, and interconversion. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56(11), 1675–1687. <http://doi.org/10.1002/mnfr.201200276>
- Alminger, M., Aura, a. M., Bohn, T., Dufour, C., El, S. N., Gomes, A., ... Santos, C. N. (2014). In vitro models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 413–436. <http://doi.org/10.1111/1541-4337.12081>
- Barba, F. J., Mariutti, L. R. B., Bragagnolo, N., Mercadante, A. Z., Barbosa-Cánovas, G. V., & Orlén, V. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends in Food Science and Technology*, 67, 195–206. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.006>
- Barillari, J., Canistro, D., Paolini, M., Ferroni, F., Pedulli, G. F., Iori, R., & Valgimigli, L. (2005). Direct antioxidant activity of purified glucoerucin, the dietary secondary metabolite contained in rocket (*Eruca sativa* Mill.) seeds and sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2475–2482. <http://doi.org/10.1021/jf047945a>
- Bricker, G. V., Riedl, K. M., Ralston, R. A., Tober, K. L., Oberyszyn, T. M., & Schwartz, S. J. (2014). Isothiocyanate metabolism,

- distribution, and interconversion in mice following consumption of thermally processed broccoli sprouts or purified sulforaphane. *Molecular Nutrition and Food Research*, 58(10), 1991–2000.
<http://doi.org/10.1002/mnfr.201400104>
- Cavaiuolo, M., & Ferrante, A. (2014). Nitrates and glucosinolates as strong determinants of the nutritional quality in rocket leafy salads. *Nutrients*, 6(4), 1519–1538.
<http://doi.org/10.3390/nu6041519>
- Chae, S. Y., Seo, S. G., Yang, H., Yu, J. G., Suk, S. J., Jung, E. S., ... Lee, K. W. (2015). Anti-adipogenic effect of erucin in early stage of adipogenesis by regulating Ras activity in 3T3-L1 preadipocytes. *Journal of Functional Foods*, 19, 700–709.
<http://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.060>
- Cho, H. J., Lee, K. W., & Yoon Park, J. H. (2013). Erucin exerts anti-inflammatory properties in murine macrophages and mouse skin: Possible mediation through the inhibition of NFκB signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), 20564–20577.
<http://doi.org/10.3390/ijms141020564>
- Clarke, J. D., Hsu, A., Riedl, K., Bella, D., Schwartz, S. J., Stevens, J. F., & Ho, E. (2011). Bioavailability and interconversion of sulforaphane and erucin in human subjects consuming broccoli sprouts or broccoli supplement in a cross-over study design. *Pharmacological Research*, 64(5), 456–463.
<http://doi.org/10.1016/j.phrs.2011.07.005>
- Fechner, J., Kaufmann, M., Herz, C., Eisenschmidt, D., & Lamy, E. (2018). The major glucosinolate hydrolysis product in rocket (*Eruca sativa* L.), sativin, is 1, 3-thiazepane-2-thione: Elucidation of structure, bioactivity, and stability compared to other rocket isothiocyanates. *Food Chemistry*, 261(April), 57–65.
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.023>
- Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer/Instituto Estadounidense de Investigación sobre el Cáncer. (2007). Alimentos, nutrición, actividad física y prevención del Cáncer: una perspectiva mundial. *Instituto Estadounidense de Investigación Sobre El Cáncer*. Washington. Retrieved from http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&id=13330&Itemid
- Gründemann, C., & Huber, R. (2018). Chemoprevention with isothiocyanates – From bench to bedside. *Cancer Letters*, 414, 26–33.
<http://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.10.033>
- Holst, B., & Williamson, G. (2008). Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(2), 73–82.
- Kala, C., Ali, S. S., Ahmad, N., Gilani, S. J., & Khan, N. A. (2018). Isothiocyanates: a Review, 5(2), 71–89.
<http://doi.org/10.22127/RJP.2018.58511>
- Koocheki, A., Razavi, S. M. A., & Hesarinejad, M. A. (2012). Effect of Extraction Procedures on Functional Properties of *Eruca sativa* Seed Mucilage. *Food Biophysics*, 7(1), 84–92. <http://doi.org/10.1007/s11483-011-9245-9>
- Lucas-gonzález, R., Viuda-martos, M., Pérez-Alvarez, J., & Fernández-lópez, J. (2018). In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. *Food Research International*, 107(May

- 2018), 423–436.
<http://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.055>
- Melchini, A., & Traka, M. H. (2010). Biological profile of erucin: A new promising anticancer agent from cruciferous vegetables. *Toxins*, 2(4), 593–612.
<http://doi.org/10.3390/toxins2040593>
- Morrone, F., Sita, G., Djemil, A., D'Amico, M., Prucoli, L., Cantelli-Forti, G., ... Tarozzi, A. (2018). Comparison of Adaptive Neuroprotective Mechanisms of Sulforaphane and its Interconversion Product Erucin in in Vitro and in Vivo Models of Parkinson's Disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(4), 856–865.
<http://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04641>
- Moser, B. R., Winkler-Moser, J. K., Shah, S. N., & Vaughn, S. F. (2010). Composition and physical properties of arugula, shepherd's purse, and upland cress oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(7), 734–740.
<http://doi.org/10.1002/ejlt.200900219>
- Pasini, F., Verardo, V., Caboni, M. F., & D'Antuono, L. F. (2012). Determination of glucosinolates and phenolic compounds in rocket salad by HPLC-DAD-MS: Evaluation of *Eruca sativa* Mill. and *Diplotaxis tenuifolia* L. genetic resources. *Food Chemistry*, 133(3), 1025–1033.
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.021>
- Pellegrini, M., Lucas-Gonzalez, R., Sayas-Barberá, E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2018). Bioaccessibility of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(1), 47–53.
<http://doi.org/10.1007/s11130-017-0649-7>
- Platz, S., Piberger, A. L., Budnowski, J., Herz, C., Schreiner, M., Blaut, M., ... Rohn, S. (2015). Bioavailability and biotransformation of sulforaphane and erucin metabolites in different biological matrices determined by LC-MS-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(7), 1819–1829.
<http://doi.org/10.1007/s00216-015-8482-z>
- Robin, Arora, R., Arora, S., & Vig, A. P. (2018). Development of validated high-temperature reverse-phase UHPLC-PDA analytical method for simultaneous analysis of five natural isothiocyanates in cruciferous vegetables. *Food Chemistry*, 239, 1085–1089.
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.059>
- Saha, S., Hollands, W., Teucher, B., Needs, P. W., Narbad, A., Ortori, C. A., ... Kroon, P. A. (2012). Isothiocyanate concentrations and interconversion of sulforaphane to erucin in human subjects after consumption of commercial frozen broccoli compared to fresh broccoli. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56(12), 1906–1916.
<http://doi.org/10.1002/mnfr.201200225>
- Torres-Palazzolo, C., Ramirez, D., Locatelli, D., Manucha, W., Castro, C., Camargo, A., ... Camargo, A. (2018). Bioaccessibility and permeability of bioactive compounds in raw and cooked garlic. *Journal of Food Composition and Analysis*, 70(March), 49–53.
<http://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.03.008>
- Triggle, D. J. (2006). *Comprehensive Medicinal Chemistry II Volume 5: ADME-Tox Approaches. Medicinal Chemistry* (Vol. 5).
- Vaughn, S. F., & Berhow, M. A. (2005). Glucosinolate hydrolysis products from various plant sources: pH

effects, isolation, and purification.
Industrial Crops and Products, 21(2),
193–202.
<http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.03.004>

Verkerk, R., Schreiner, M., Krumbein, A.,
Ciska, E., Holst, B., Rowland, I., ...
Dekker, M. (2009). Glucosinolates in
Brassica vegetables: The influence of
the food supply chain on intake,
bioavailability and human health.
*Molecular Nutrition and Food
Research*, 53(SUPPL. 2), 219–265.
<http://doi.org/10.1002/mnfr.200800065>

Vermeulen, M. (2009). *Isothiocyanates
from Cruciferous Vegetables :
Kinetics , Biomarkers and Effects*.
Wageningen University.

Financiamiento

Este trabajo fue apoyado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), la Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo) y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica.

Agradecimientos

Este trabajo no hubiera sido posible sin el trabajo de la Dra. Cecilia Fusari y la colaboración de la Lic. Daniela Ramírez.