

## Effect of pulses electric fields technology on phytochemical extraction from radish sprouts

## Efecto de la tecnología de pulsos eléctricos sobre la extracción de fitoquímicos en brotes de rábano

A. Abellán<sup>1\*</sup>, G. Dimopoulos<sup>2</sup>, E. Dermesonluoglu<sup>2</sup>, P. Taoukis<sup>2</sup>, D.A. Moreno<sup>1</sup>, C. García-Viguera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fitoquímica y Alimentos Saludables, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100 Espinardo, Murcia. Spain.

<sup>2</sup>Laboratory of Food Chemistry and Technology, School of Chemical Engineering, National Technical University of Athens, Iroon Polytechniou, 9, 15780 Zografou, Athens. Greece.

\*avictorio@cebas.csic.es

### **Abstract**

**Pulsed Electric Fields (PEF) is a promising emerging technology, used in the field of food engineering. This treatment can improve the extraction of bioactive compounds from food matrixes among the effect of the electroporation phenomenon. On the other hand, cruciferous sprouts, such as radish (*Raphanus sativus*), are rich in secondary metabolites with interest for the human health (glucosinolates and degradation metabolites: isothiocyanates, as well as phenolic compounds). Due to all the previously mentioned, pulsed electric fields could be a promising extraction technique for such bioactive compounds from radish sprouts.**

**Keywords:** Radish sprouts; bioactive compounds; extraction.

### **Resumen**

**Los pulsos eléctricos (PE) son una tecnología emergente muy prometedora, cada vez más empleada en el campo de la industria alimentaria. En este sentido, este tratamiento puede mejorar la extracción de compuestos bioactivos de diferentes matrices alimentarias, mediante el efecto del fenómeno de electroporación. Por otro lado, los brotes de crucíferas como el rábano (*Raphanus sativus*), son ricos en metabolitos secundarios con un gran interés en la salud humana (glucosinolatos y sus productos de degradación: isotiocianatos, así como compuestos fenólicos). Debido a todo ello, los PE podrían ser una tecnología prometedora para la mejora de la extracción de fitoquímicos como los GLS en brotes de rábano.**

**Palabras clave:** Brotes de rábano; compuestos bioactivos; extracción.

## **1. INTRODUCCIÓN**

Las tendencias nutricionales de los consumidores se han ido transformando con el paso de los años. Cada vez más, la alimentación se ha dirigido hacia una preocupación por la salud, la dieta equilibrada y la elección de alimentos más naturales. Todo esto ha impulsado el consumo de alimentos de origen vegetal, así como de nuevos productos como por ejemplo los brotes, entre ellos los de rábano. Estos alimentos son fuentes importantes de macronutrientes (bajo contenido en hidratos de carbono y alto contenido en fibra, ácidos grasos insaturados y proteínas), así como de micronutrientes (vitaminas y minerales) y compuestos fitoquímicos (compuestos fenólicos y glucosinolatos) (1). Los glucosinolatos (GLS) son tiohidroximatos unidos a una  $\beta$ -D-tioglucofosa y una cadena lateral derivada de R-aminoácido, que definirá la clasificación del GLS (alifático,

indólico o aromático), siendo la glucorafenina (GRE), el glucosinolato (alifático) predominante en los brotes de rábano y responsable de gran parte su bioactividad (2-4). En este sentido, cuando la planta es sometida a un daño, libera al medio celular una enzima denominada mirosinasa, para emplear los GLS como sustrato y generar los isotiocianatos, compuestos bioactivos de gran interés nutricional

En la actualidad, algunas tecnologías emergentes como los pulsos eléctricos (PE) se están aplicando para mejorar la extracción de compuestos fitoquímicos. En referencia a lo anterior, los PE permiten mejorar la transmisión célula-extractante, mediante el fenómeno de electroporación, permitiendo reducir el tiempo de extracción o la cantidad de solvente empleado (5). Durante este estudio, se investigaron los efectos de los PE sobre los GLS de brotes de rábano, tratados con luces LED, con el fin de optimizar el método original de extracción hidrometanólica empleado hasta el momento, que se caracterizaba por la aplicación de altas temperaturas y tiempos elevados, con el fin de acelerar la actividad de la mirosinasa (6).

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 Germinación y almacenamiento de los brotes

Las semillas de rábano (*R. sativus*) se obtuvieron de la empresa Intersemillas S.A. (Valencia, España). Los brotes se desarrollaron de acuerdo con las condiciones de crecimiento definidas por Baenas *et al.* (7). Todas las muestras se conservaron liofilizadas a temperatura ambiente. Los tratamientos, con luces LED (3 pantallas experimentales de 95,1 W), se realizaron en una cámara de cultivo con condiciones ambientales controladas (humedad 60 % a 25 °C de luz y humedad 80 % a 20 °C, en ciclo de oscuridad. Ciclos de 16 h de luz/8 h de oscuridad) (Equitec, Madrid, España).

### 2.2 Aplicación de PE

Las muestras liofilizadas y molidas se sometieron a un tratamiento de PE en un sistema a escala piloto (Elcrack-kW, DIL, Quakenbruck, Alemania), establecido en la National Technical University of Athens. Para ello, se empleó una celda (4 cm x 5 cm x 5 cm) con un volumen de 3 mL. Los pulsos se llevaron a cabo con una fuerza de campo eléctrico de 1 a 6,5 kV/cm, y se aplicaron frecuencias de 200 y 500 pulsos eléctricos en 10 s.

### 2.3 Extracción y análisis de los brotes

Tras la aplicación de los PE, se extrajeron las muestras mediante el método establecido por Baenas *et al.* (6), con modificaciones. El análisis cromatográfico de glucosinolatos se llevó a cabo en un HPLC-DAD Agilent 1269 Infinity equipado con una bomba binaria (modelo G 1312 B), un desgasificador (modelo G 1379 B), un autoinyector (modelo G 131-44510) y un detector de red de diodos, DAD (modelo G 4212 B), controlado por el software Agilent B.02. 02. Para la cuantificación de GLS se empleó la glucorafenina (GRE) como compuesto representativo, empleándose un patrón de sinigrina (empleada para glucosinolatos indólicos) a 227 nm.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, con las condiciones establecidas en la extracción (70 °C, 30 min.), no mostraron diferencias entre los brotes tratados con PE y el control. Estos parámetros de temperatura y tiempo, aplicados con el fin de desactivar la actividad de la mirosinasa, pueden provocar una rápida saturación del extractante que explicaría la ineficacia del tratamiento con PE. Por otro lado, el estado de la muestra (polvo liofilizado) también puede influir en estos resultados, ya que el material fresco permitiría una mayor facilidad para la transmisión de los PE a través de los tejidos, debido a su contenido en agua, potenciando la electroporación y el efecto del tratamiento (8).

Tras la reducción de la temperatura (25 °C), se logró observar diferencias entre las distintas cinéticas de extracción. De este modo, el tratamiento de los brotes con PE a 500 pulsos permitió obtener una mayor concentración de GRE, y alcanzar el pico máximo significativamente más rápido, en comparación con el control. Por el contrario, no se observaron diferencias significativas al comparar los brotes tratados con PE a 200 pulsos en 10 s y el control, debido, posiblemente, a una falta de intensidad en el tratamiento (Fig. 1).

Por último, el estudio de las diferentes curvas de extracción permitió acortar el método original establecido (30 min, con una reducción de 10 min) (Fig. 2).

#### 4. CONCLUSIONES

El tratamiento de PE a 500 pulsos en 10 s puede resultar efectivo para evitar altas temperaturas en la extracción de GLS, facilitando así el procesado de muestras. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la mirosinasa puede seguir teniendo actividad enzimática, lo que podría degradar los GLS. Es necesario más investigación para estudiar la actividad enzimática de la mirosinasa y su comportamiento ante los tratamientos de PE a temperaturas relativamente bajas.

Adicionalmente, estos resultados permiten la optimización del tiempo de extracción de GLS establecido en el método original.

Estudios futuros podrían demostrar que la aplicación de esta tecnología sobre el material fresco, permitirían ahorrar los pasos de congelación, liofilización y molienda, previos a la extracción.

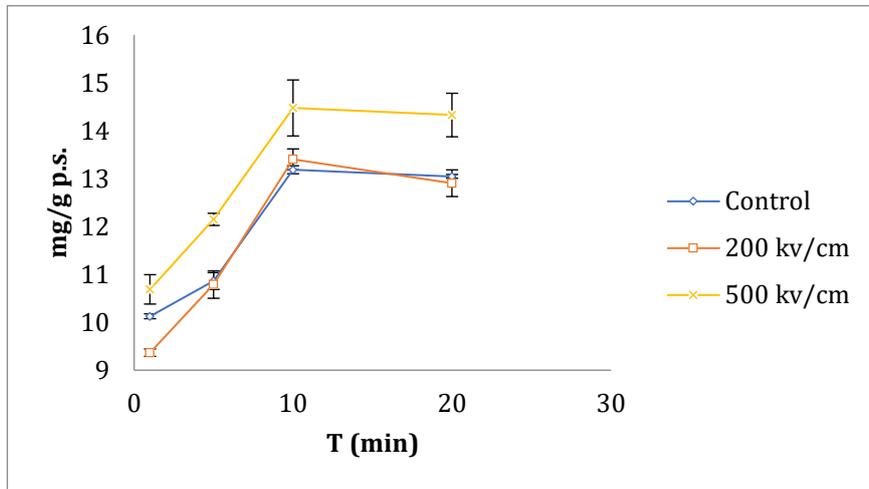
#### 5. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido posible gracias al programa SUIT4FOOD, perteneciente al proyecto europeo ERASMUS +, y al laboratorio de Ciencia y Tecnología Alimentaria de la Universidad Tecnológica de Atenas.

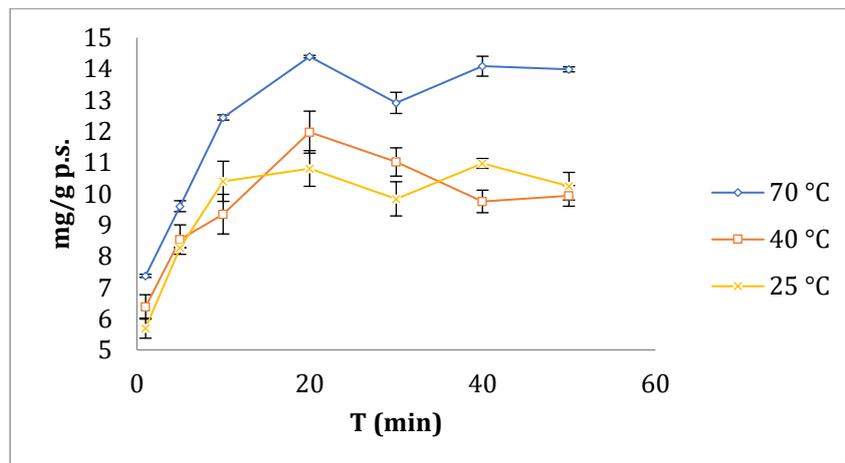
#### 6. REFERENCIAS

1. Abellán Á, Domínguez-Perles R, Moreno DA, García-Viguera C. Sorting out the Value of Cruciferous Sprouts as Sources of Bioactive Compounds for Nutrition and Health. *Nutrients*. 2019;11:429. doi:10.3390/nu11020429.
2. Ramirez D, Abellán-Victorio A, Beretta V, Camargo A, Moreno DA. Functional Ingredients From Brassicaceae Species: Overview and Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2020;21:1998, doi:10.3390/ijms21061998.
3. Pagnotta E, Montaut S, Matteo R, Rollin P, Nuzillard JM, Lazzeri L, Bagatta M. Glucosinolates in *Reseda lutea* L.: Distribution in plant tissues during flowering time. *Biochem Syst Ecol*. 2020;90: 104043. doi:https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104043.
4. Li R, Song D, Vriesekoop F, Cheng L, Yuan Q, Liang H. Glucoraphenin, sulforaphene, and antiproliferative capacity of radish sprouts in germinating and thermal processes. *Eur Food Res Technol*. 2017;243:547-54. doi:10.1007/s00217-016-2764-3.
5. Andreou V, Psarianos M, Dimopoulos G, Tsimogiannis D, Taoukis P. Effect of pulsed electric fields and high pressure on improved recovery of high-added-value compounds from olive pomace. *J Food Sci*. 2020;85:1500-12. doi:10.1111/1750-3841.15122.
6. Baenas N, Gómez-Jodar I, Moreno DA, García-Viguera C, Periago PM. Broccoli and radish sprouts are safe and rich in bioactive phytochemicals. *Postharvest Biol Technol*. 2017;127:60-7. doi:https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.010.
7. Baenas N, Villaño D, García-Viguera C, Moreno DA. Optimizing elicitation and seed priming to enrich broccoli and radish sprouts in glucosinolates. *Food Chem*. 2016;204:314-19. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.144.

8. Dermesonlouoglou E, Chalkia A, Dimopoulos G, Taoukis P. Combined effect of pulsed electric field and osmotic dehydration pre-treatments on mass transfer and quality of air dried goji berry. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2018;49:106-15. doi:10.1016/j.ifset.2018.08.003.



**Figura 1.** Comparación del Efecto de los PE sobre la extracción de glucorafenina en brotes de rábano a temperatura constante (25 °C) y diferentes tiempos de extracción (1, 5, 10, 15 y 20 min.)



**Figura 2.** Comparación de diferentes curvas de extracción de glucorafenina a diferentes temperaturas (70, 40 and 25 °C) y tiempos (2, 5, 10, 15, 20, 30, 40 and 50 min.)