**Optimización multivariada del proceso de extracción de aminoácidos libres en distintas variedades de lechuga**

Quintas PY (1), Fiorentini EF (1), Wuilloud RG (1), Gonzaléz RE (2)

(1) Instituto Interdisciplinario de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Cuyo, CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Mendoza, Mendoza, Argentina.

(2) EEA La Consulta, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Ex Ruta 40 Km 96, La Consulta, Mendoza, Argentina.

Dirección de e-mail: pamequintas@gmail.com; emifranfiorentini@gmail.com; rwuilloud@mendoza-conicet.gob.ar; gonzalez.roxana@inta.gob.ar

Los aminoácidos (AAs), como componentes de péptidos, hormonas peptídicas, proteínas estructurales e inmunitarias, son los biorreguladores más importantes involucrados en los procesos de la vida junto con los ácidos nucleicos, carbohidratos y lípidos. Debido a su actividad biológica y su distribución como biomoléculas naturales son componentes esenciales de nuestra dieta. Las hortalizas por sus efectos benéficos para la salud, desempeñan un rol primordial como componentes de la dieta diaria y fuente de AAs. Como estimulantes naturales del crecimiento de las plantas, los AAs se utilizan para mejorar la disponibilidad de los nutrientes, el rendimiento y la calidad de las hortalizas. El objetivo del presente trabajo fue determinar a través de un método rápido, sencillo y eficiente la concentración de AAs en muestras de lechuga mediante cromatografía de fase reversa a partir de una microextracción en fase sólida y posterior derivatización. Para ello, se optimizó el método de extracción y cuantificación de AAs mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución con detección UV-Vis (UHPLC-UV-Vis). Los AAs (fenilalanina histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, prolina, treonina, triptófano, valina) fueron derivatizados con cloruro de 9-fluorenil-metoxicarbonilo (FMOC-Cl) en medio básico. Los derivados formados se cuantificaron mediante UHPLC- UV-Vis empleando una columna C18; un flujo de 0,40 mL/min en modo gradiente entre solvente A (ácido trifluoroacético 0,01 %v/v) y solvente B (acetonitrilo). La temperatura de trabajo fue de 40 °C. La longitud de onda de detección de 265 nm. Para la selección de los factores estadísticamente significativos involucrados en el proceso de extracción se utilizó un diseño de Placket Burman. Las condiciones evaluadas fueron las siguientes: 1) solventes de extracción: metanol y buffer de borato de sodio; 2) proporción de metanol: 50-80% (v/v); 3) tiempo de agitación en ultrasonido (UTS): 2-8 min.; 4) volumen de solvente extractante: 3-7 mL; 5) velocidad de centrifugación: 10.000-14.000 rpm; 6) temperatura de centrifugación: 4-20 °C; 7) tiempo de centrifugación: 5-15 min. De estos 15 experimentos resultaron significativos las variables proporción y volumen de solventes extractantes. Las variables no significativas se ajustaron a valores convenientes, esto es, tiempo de agitación en UTS: 2 min; velocidad de centrifugación: 10.000 rpm; temperatura de centrifugación: 20 °C y tiempo de centrifugación: 5 min. Posteriormente, las variables significativas fueron optimizadas mediante un diseño central compuesto: 1) proporción de metanol: 50-80% (v/v) y 2) volumen de solvente extractante: 3-7 mL. Finalmente, se evaluó la deseabilidad del sistema, es decir una función de compromiso que permite establecer las condiciones óptimas para todas los AAs evaluados. Con este criterio se logró maximizar la deseabilidad a un valor de 0,978. Las condiciones óptimas de extracción establecidas fueron: 50% (v/v) de metanol y 3 mL como volumen de extracción. Una vez optimizadas las condiciones de extracción se cuantificaron diferentes muestras de lechuga. Los niveles de AAs variaron significativamente entre los distintas cultivares evaluadas.

Los autores agradecen el apoyo financiero de PICT-2019-2572-BID y Proyecto institucional: INTA-2019-PD-E7-I152 y INTA-2019-PE-E7-I517.

Palabras Clave: *Lactuca sativa L*, diseño experimental multivariado, HPLC, compuestos bioactivos