**Efecto de distintos tratamientos de cocción en la relación enantiomérica de tirosina y triptófano en muestras de calabaza**

Botella MB (1), Gonzaléz RE (2), Wuilloud RG (1), Quintas PY (1)

(1) Instituto Interdisciplinario de Ciencias Básicas (ICB-CONICET), Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Jorge Padre Contreras 1300, Mendoza, Mendoza, Argentina.

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

Direcciones de e-mail: Botella (marenas@mendoza-conicet.gob.ar); Gonzaléz (gonzalez.roxana@inta.gob.ar); Wuilloud (rwuilloud@mendoza-conicet.gob.ar), Quintas (pquintas@mendoza-conicet.gob.ar)

Las calabazas son frutos de diferentes especies del género *Cucurbita*, cultivadas en todo el mundo por su pulpa, semillas e incluso las flores, las cuales también se destinan para el consumo humano. Una de las especies que más se cultiva a nivel mundial es *Cucúrbita moschata*. Su composición nutricional comprende la presencia de diversos compuestos fenólicos, vitaminas, aminoácidos (AAs), carbohidratos y minerales. Normalmente, los vegetales se cocinan mediante un proceso de ebullición, cocción al vapor, horneado o microondas antes de ser consumidos. Estos métodos conllevan tanto cambios en las características físicas como en la composición química de los vegetales. Por esta razón, es fundamental la determinación de las concentraciones de los diferentes compuestos antes y después de un proceso de cocción. Particularmente, los L-AAs existen predominantemente como componentes básicos de péptidos/proteínas o en forma libre, y desempeñan funciones críticas en los sistemas biológicos. Por el contrario, aunque numerosos estudios informaron la presencia de D-AAs en diversos alimentos y bebidas, su concentración es comparativamente más baja. Los D-AAs pueden estar presentes de forma natural o generarse durante las técnicas de procesamiento de alimentos, incluida la exposición a tratamientos alcalinos o ácidos y el calentamiento a largo plazo. Es sabido, que los enantiómeros difieren entre sí en bioactividad y comportamiento, y desempeñan diferentes funciones en el sistema vivo. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar métodos analíticos fiables capaces de determinar las distintas formas enantioméricas. Particularmente, el interés en las formas L de los AAs triptófano (Trp) y tirosina (Tyr) se relaciona con su papel como precursores de varios neurotransmisores que tienen una función antidepresiva. Por su parte, ambos D-enantiómeros son importantes en la industria farmacéutica, siendo intermediarios para generar antibióticos peptídicos sintéticos y agentes inmunosupresores para el tratamiento de diversas enfermedades. Por tanto, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de distintos tratamientos de cocción en la relación enantiomérica de Trp y Tyr en muestras de distintas variedades de calabazas oriundas de la provincia de Mendoza. Los analitos fueron determinados mediante cromatografía líquida acoplada a detección UV-Vis (HPLC/UV-Vis). Para la separación enantiomérica se utilizó una columna quiral (S,S) Whelk-O 2 (4,6 mm x 25 cm: 10µm) con 3,5-dinitro-N-(1,2,3,4-tetrahidrofenantren-1-il)benzamida como selector quiral. El caudal fue de 0,5 mL/min en modo gradiente lineal durante 25 min, comenzando con una proporción 10:90 y finalizando con 70:30 metanol (MeOH): agua ultrapura. El volumen de inyección fue de 100 µL. La longitud de onda de trabajo fue 265 nm. Las variables que afectan el proceso de extracción de los AAs se optimizaron a través de un estudio multivariado: masa de la muestra (50-150 mg), proporción de MeOH (70-100%), volumen de MeOH (2-4 mL), tiempo de agitación (15-25 min), tiempo de centrifugación (10-15 min), temperatura de secado (40-50 °C) y volumen de HCl 0,1 M (2-4 mL). El extracto recuperado bajo condiciones óptimas fue tratado con resina de intercambio catiónico (DOWEX 50wx8 200) y eluído con una mezcla de hidróxido de amonio y MeOH. El rango lineal evaluado fue: 1-500 nmol/mL. Los límites de detección y cuantificación fueron mayores para Trp que para Tyr. Las muestras evidenciaron contenido de ambos AAs y se observaron cambios en los niveles de sus enantiómeros en función del tipo de cocción.

Palabras Claves: Aminoácidos, separación quiral, vegetales, HPLC-UV/Vis.