**Contenido de coumestrol en cultivares de alfalfa**

Silva, M (1)\*; Martinez, MJ (1); Aguilar, R (1); Arolfo, V (2).

(1) Laboratorio Calidad de Granos INTA, EEA Manfredi, Córdoba, Argentina.

(2) Mejoramiento genético de Alfalfa INTA, EEA Manfredi, Córdoba, Argentina.

\* silva.mercedes@inta.gob.ar

 Los extractos vegetales proporcionan una plataforma valiosa como fuente de metabolitos secundarios de interés comercial. Entre los compuestos bioactivos presentes en las leguminosas se encuentran los fitoestrógenos, grupo de compuestos no esteroideos que comprende a los isoflavonoides, cumestanos y lignanos. En alfalfa (*Medicago sativa)* se hallan en mayor proporción los cumestranos y los isoflavonoides en menor proporción. La importancia de estos compuestos reside en su semejanza con la hormona sexual estradiol de los mamíferos, siendo el coumestrol el de mayor actividad estrogénica. Estos compuestos en las plantas se hallan conjugados a un glúcido o en forma libre (aglicona). El objetivo de este trabajo fue evaluar el contenido total y la proporción libre de coumestrol presente en el cultivo de alfalfa. Para ello se trabajó con los cultivares: Monarca SP INTA, Pro INTA Luján, Tequilla y Barpal 290 y los materiales pre-comerciales CS-02 y CS-05, sembrados en la EEA Manfredi en otoño de 2018. La recolección de muestras se realizó en marzo de 2020 y marzo de 2021cuando las plantas alcanzaron el 10% de floración, luego se secaron a menos de 60ºC durante 72 h. Se determinó el contenido de coumestrol total (COU-total) en todos los materiales, mientras que el coumestrol libre (COU-libre) únicamente en Monarca SP INTA, Barpal 290 y CS-02, las muestras se realizaron por triplicado. Se pesaron 0.5 g de muestra, se agregó 8 ml de etanol y 2 ml de HCl 3.5 M para el tratamiento COU-total, mientras que para el tratamiento COU-libre se agregó 10 ml de etanol al 80%. Las muestras se calentaron a 83ºC durante 30 min, posteriormente, se sónico por 10 min. Se tomaron 0,5 ml del líquido sobrenadante al que se agregaron 0,5 ml de agua y 0,5 ml de MeOH (ambos calidad HPLC), y se centrifugaron a 10000 rpm por 10 min. a 4°C. Previo a la inyección al HPLC, los sobrenadantes se filtraron con filtro de 0,45 μm. La identificación y cuantificación se realizó por HPLC (Agilent 1100 series). Los resultados para el COU-total mostraron valores entre 458.33 ± 82.74 y 690 ± 72.13 ppm sin diferencias significativas entre los materiales analizados. Los resultados para el COU-libre fueron de 53,5 ppm para Monarca SP INTA y CS-02 y de 46,3 ppm para Barpal 290. La proporción COU-libre en relación al COU- total fue de 7,75%, 8,25% y 7,47% para Monarca SP INTA, CS-02 y Barpal 290 respectivamente. Los resultados proporcionan información importante para el cultivo de alfalfa, siendo una alternativa para transferir estos compuestos bioactivos (fitoquímicos) a la alimentación humana, sea en forma directa o indirecta a través de los productos pecuarios como la leche y sus derivados.

Palabras claves: *Medicago sativa*, metabolitos secundarios, fitoestrógenos.

Agradecimientos: Proyecto subsidiado por INTA: P152; P147, REDALFA SE 18