

Determinação de isoflavonas e antocianinas em soja preta

RESUMO

Daiana Rosso Ferreira Leithardt

dairosso@gmail.com

<http://orcid.org/0000-0002-4514-1371>

Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

Aline Naomi Yamashita

aline_yama@hotmail.com

Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

Adelaide Del Pino Beléia

beleia@uel.br

Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

A soja preta [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma variedade de soja pouco conhecida no Brasil, que além de possuir os benefícios relacionados ao consumo da soja, apresenta antocianinas na casca, auxiliando na atividade antioxidante. Grande parte da literatura científica refere-se à soja amarela, enquanto estudos sobre a soja preta ainda são escassos. O objetivo desse estudo foi analisar grãos de soja preta e amarela, crus e cozidos, quanto ao teor dos principais compostos bioativos, isoflavonas e antocianinas. A identificação e quantificação de isoflavonas por CLUE, e antocianinas pelo método do pH diferencial. Os teores de antocianinas totais nos grãos de soja preta sofreram uma redução de 83% após o cozimento. Cinco das doze formas químicas de isoflavonas foram detectadas e quantificadas nos grãos de soja preta e amarela, crus e cozidos. A forma malonilglicosídica apresentou a maior concentração nas duas cultivares, e após o cozimento houve um acréscimo da forma aglicona nas cultivares de soja preta e amarela. Portanto, a soja e seus derivados constituem matérias-primas altamente promissoras para uso na indústria de alimentos, sobretudo a soja preta, proporcionando maiores benefícios à saúde, devido a presença de antocianinas na sua casca.

PALAVRAS-CHAVE: Compostos bioativos; fenólicos; antocianinas.

INTRODUÇÃO

Hoje, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja. Na safra 2017/2018, a cultura ocupou uma área de 35,100 milhões de hectares, o que totalizou uma produção de 116,996 milhões de toneladas. A produtividade média da soja brasileira foi de 3.333 kg/ha (EMBRAPA, 2019).

A soja preta é uma variedade de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], e é considerada um alimento funcional, pois contém uma grande variedade de compostos bioativos, como isoflavonas, carotenóides, tocoferóis, ácido fenólico e antocianinas (YOUNG *et al.*, 2018), e constitui uma fonte abundante e barata de proteínas e calorias (HUANG; CHOU, 2009).

As antocianinas são pigmentos naturais solúveis em água, pertencem a classe dos flavonoides e ao grande subgrupo dos polifenóis, e são comumente encontradas nas flores e nos frutos de muitas plantas (KHOO *et al.*, 2017). Estão associadas a uma vasta gama de atividades biológicas incluindo, antioxidante (WANG; CAO; PRIOR, 1997; TSUDA; HORIO; OSAWA, 2003), antiinflamatória (WANG; MAZZA, 2002; YOUNG *et al.*, 2002), anticarcinogênica (BOMSER *et al.*, 1996; HOU, 2003) antidiabético e antimicrobiano (HRIBAR; ULRIH, 2014; JENG *et al.*, 2010).

Segundo Lee *et al.* (2009) as três principais antocianinas isoladas e identificadas a partir do tegumento da soja preta são: delfinidina-3-O-glicosídeo, cianidina-3-O-glicosídeo e petudinina-3-O-glicosídeo, sendo a cianidina-3-O-glicosídeo presente em maior quantidade.

As isoflavonas são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonoides encontrados quase que exclusivamente nas leguminosas e fabáceas (TAPIERO; NGUYENBA; TEW, 2002). Na soja podem existir em quatro formas químicas, β -glicosídeos (daidzina, genistina e glicitina), agliconas (genisteína, daidzeína e gliciteína) e conjugadas malonilglicosídeo (6''O-malonil-daidzina, 6''O-malonil-genistina e 6''O-malonil-glicitina) e acetilglicosídeo (6''O-acetil-daidzina, 6''O-acetil-genistina e 6''O-acetil-glicitina) (LIU, 1997).

O teor de isoflavonas nas cultivares é influenciado por diversos fatores, que incluem condições ambientais e genéticas, além do processamento, os quais determinam a concentração e o perfil das isoflavonas nos produtos derivados de soja e nos alimentos que a contém como ingrediente (GENOVESE; LAJOLO, 2002).

A soja deve ser processada antes do consumo, e a sua capacidade de promoção de saúde é dependente do tipo de processamento. O processamento da família Fabaceae não só melhora o sabor e a palatabilidade, mas também aumenta a biodisponibilidade de nutrientes, pela inativação de fatores antinutricionais, como inibidores de tripsina e aglutininas heme. O cozimento da soja é um dos métodos mais tradicionais para o consumo humano nos países do Leste Asiático. Antes da cocção, a imersão em água é um passo importante, pois ajuda a suavizar a textura e reduz o tempo de cozimento; cozinhar sob pressão também pode ser usado para esta finalidade (XU; CHANG, 2008b). Entretanto, o processamento de alimentos, especialmente o processamento térmico, pode facilmente resultar em perdas significativas de isoflavonas e antocianinas (TORSKANGER POLL; ANDERSEN, 2005; XIONG *et al.*, 2006).

O objetivo desse estudo foi analisar o teor e o perfil das isoflavonas e quantificar a principal antocianina (cianidina-3-O-glicosídeo) presente nos grãos

de soja preta crus e cozidos. Os resultados das análises foram comparados aos obtidos com uma cultivar de soja amarela (BRS 216) destinada ao consumo humano.

MATERIAIS E MÉTODOS

AMOSTRAS

Para as análises nos grãos de soja preta, crus e cozidos foram utilizados grãos fornecidos pela Naturalle (Uberlândia-MG), cultivar NT 7001, e para as análises comparativas foi utilizada a soja amarela destinada ao consumo humano, BRS 216, fornecido pela EMBRAPA–Soja (Londrina–PR).

OBTENÇÃO DOS GRÃOS HIDRATADOS

A hidratação dos grãos de soja preta e amarela foi realizada com um conteúdo de água destilada 2,2 vezes o peso da amostra por 16 horas a 25 °C. A hidratação com teor reduzido de água evita a perda de substâncias solúveis para o meio e o possível descarte das substâncias antes da cocção.

OBTENÇÃO DOS GRÃOS COZIDOS

Após serem hidratados, os grãos de soja preta e amarela passaram pelo processo de cocção, para o qual foi utilizado uma panela de pressão de volume 4,5 L, o tempo de cocção foi de 10 minutos e a temperatura de aproximadamente 120°C, a água destilada usada para a hidratação dos grãos foi mantida, e adicionou-se mais 500 mL de água destilada. Depois do processo de cocção, os grãos de soja de ambas cultivares foram drenados, congelados e liofilizados; e na sequência os grãos foram triturados em liquidificador e um moinho analítico de bancada; a farinha resultante foi passada por peneira Tamis de 40 mesh, e armazenada em recipiente adequado sobre refrigeração, para as análises posteriores.

TEOR DE ANTOCIANINAS TOTAIS E MONOMÉRICAS

O teor de antocianinas totais (AT) e monoméricas (AM) foi determinado segundo metodologia descrita por Giusti e Wrolstad (2001). Para antocianinas totais, 1 g de amostra foi extraído com 50 mL de solução de cloreto de potássio (KCl) 0,025 M, pH 1, sendo agitado e deixado em repouso por 25 minutos em ambiente escuro. Em seguida, as amostras foram filtradas e realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-VIS a 510 e 700 nm (Libra S22 Single Beam UV/Vis Spectrophotometer). O teor de AT foi calculado conforme a Lei de Beer (Equação 1), e o resultado expresso em mg eq. de antocianina predominante (cianidina-3-O-glucosídeo) em 100 g de amostra em base seca ou mg CyE 100 g⁻¹ b.s.

$$AT = (A \times PM \times FD \times 10^3 / \epsilon \times b) \times 100$$

(Equação 1)

Onde: AT = Antocianinas Totais; A = Absorbância a 510 e 700 nm [$(A_{510} - A_{700})_{pH1}$]; PM = massa molecular Cianidina-3-O-glicosídeo (449,2 g mol⁻¹); FD = Fator de diluição (0,05); ϵ = Coeficiente de extinção Molar (26.900 mol L cm⁻¹); b = caminho óptico (1 cm).

Para AM, 1 g da amostra foi extraído com 50 mL de solução de acetato de sódio 0,4 M, pH 4,5 sendo agitado e deixado em repouso por 25 minutos em ambiente escuro. Em seguida filtraram-se as amostras e realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-VIS a 510 e 700 nm (Libra S22 Single Beam UV/Vis Spectrophotometer). A quantificação foi feita através da equação descrita abaixo (Equação 2), e o resultado das AM expresso em mg eq. de cianidina-3-O-glucosídeo, antocianina majoritária, presentes em 100 g de amostra em base seca ou mg CyE 100 g⁻¹ b.s.

$$AM = (A \times PM \times FD \times 10^3 / \epsilon \times b) \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde: AM = Antocianinas Monoméricas; A = Absorbância a 510 e 700 nm [$(A_{510} - A_{700})_{pH1} - (A_{510} - A_{700})_{pH4,5}$]; PM = massa molecular Cianidina-3-O-glicosídeo (449,2 g mol⁻¹); FD = Fator de diluição (0,05); ϵ = Coeficiente de extinção Molar (26.900 mol L cm⁻¹); b = caminho óptico (1 cm) .

IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ISOFLAVONAS POR CLUE (CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA)

Os grãos de soja preta e amarela, crus e cozidos, foram liofilizados, moídos e desengordurados com hexano (1:10, m/v) por 30 minutos a 25 °C com agitação rotativa contínua, e após as amostras foram filtradas à vácuo. A extração de isoflavonas foi realizada com uma mistura de solventes orgânicos contendo água ultrapura, acetona e etanol (1:1:1, v/v/v), conforme descrito por Yoshiara *et al.* (2012). As extrações foram realizadas em triplicata utilizando-se 0,3 g das amostras com 6 mL de solvente extrator e agitação em vortex a cada 15 minutos por 1 hora a 25°C, centrifugadas (2500 x g a 4 °C e 15 minutos) (Centrifuge 5804R – Eppendorf, Hamburg, GE) e filtradas (Millex filter – LH, 0,22 µm). Alíquotas de 1,4 µL em triplicatas dos filtrados foram injetadas automaticamente no cromatógrafo líquido UPLC® Waters (Shimadzu, model LC-10AP VP, Kyoto, Japan). A coluna foi de fase reversa (modelo ACQUITY–UPLC BEH C18, Waters) com dimensão de 2,1 mm x 50 mm e tamanho de partícula de 1,7 µm. A eluição foi realizada com gradiente não linear, utilizando-se como fase móvel A água acidificada em pH 3,0 ajustado com ácido acético glacial e B acetonitrila com fluxo de 0,7 mL por minuto a 35°C. O gradiente foi iniciado com 90% de eluente A e 10% de eluente B e em 8 minutos de eluição, o gradiente atingiu proporção de 0% de A e 100% de B e as condições iniciais retornaram em 9 minutos. O tempo total de corrida foi de 10 minutos. O detector utilizado foi arranjo de diodos Waters (Shimadzu, model SPD-M20A) com comprimento de onda ajustado para 260 nm. As soluções padrão para a construção das curvas de calibração (área do pico x teor de isoflavonas) foram daidzina, genistina, glicitina, malonil daidzina, malonil genistina, malonil glicitina, acetil daidzina, acetil genistina, acetil glicitina, gliciteína e genisteína (0,1; 0,025; 0,006 e 0,002 mg mL⁻¹) e daidzeína (0,1; 0,025;

0,006; 0,002 e 0,001 mg mL⁻¹). Os padrões foram injetados em triplicatas originando os cromatogramas correspondentes, com os respectivos tempos de retenção correspondentes a cada forma química das isoflavonas. Os picos de cada forma de isoflavonas foram identificados por comparação dos tempos de retenção e espectros na região do UV dos respectivos padrões de referência. O aplicativo acoplado no cromatógrafo gerou as curvas de calibração e as concentrações de isoflavonas foram calculadas e expressas em µg de isoflavonas por g de amostra liofilizada e desengordurada. O total de isoflavonas foi expresso como a soma dos componentes depois da normalização das diferenças de pesos moleculares das formas glicosiladas.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados com o auxílio do programa Statistica 7.0, aplicando-se análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey (significância de 5%), para a comparação das médias dos resultados das amostras. As análises foram realizadas em triplicatas genuínas. Os resultados encontrados na soja preta foram comparados com os resultados de uma variedade de soja amarela destinada ao consumo humano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

TEOR DE ANTOCIANINAS TOTAIS E MONOMÉRICAS

A soja preta apresentou teor de antocianinas totais de 67,0 mg CyE 100 g⁻¹ b.s. e sofreu uma redução de 83%, após o processo de cocção, restando apenas 11,1 mg CyE 100 g⁻¹ b.s. O mesmo pode ser observado em relação às antocianinas monoméricas que passaram de 57,4 mg CyE 100 g⁻¹ b.s. para 7,9 mg CyE 100 g⁻¹ b.s. após o processo de cocção, e sofrendo uma redução de 86% (Tabela 1), o que era esperado, pois segundo a literatura o processamento térmico reduz significativamente o teor de antocianinas. Na soja amarela não foram detectadas antocianinas, assim como demonstrado por outros autores (KIM *et al.*, 2006; XU; CHANG, 2008b; MALENCIC; CVEJIC; MILADINOVIC, 2012), pois a soja amarela não possui antocianinas na sua casca.

Malencic, Cvejic e Miladinovic (2012) ao avaliarem a quantidade de AT em sementes de soja preta cruas obtiveram um teor médio de 61 mg CyE 100 g⁻¹ de AT, o resultado mostrou-se semelhante ao obtido neste estudo. Xu e Chang (2008b) após estudarem os efeitos do processamento térmico na atividade antioxidante dos grãos de soja preta, observaram reduções significativas no teor de antocianinas totais, obtendo um teor médio de 0,43 mg CyE 100 g⁻¹ de AT após o processamento térmico dos grãos. Ao avaliarem 127 genótipos de soja preta crua, cultivada na China, Xu *et al.* (2007) relataram uma faixa de variação de 22 a 187 mg CyE 100 g⁻¹ de AT.

Jeng *et al.* (2010) encontraram valores de 723, 1881 e 2025 mg 100 g⁻¹ de AT na casca de três variedades de soja preta analisadas. Em outro estudo realizado com 60 variedades de soja preta na China, analisou-se o perfil de antocianinas na casca dos grãos, onde 6 antocianinas foram detectadas por HPLC, os teores de AT foram de 98,8 a 2132,5 mg 100 g⁻¹ de AT, com uma média de 770 mg 100 g⁻¹ de

AT, cianidin-3-glicosídeo foi a antocianina mais abundante em todas as variedades, com uma distribuição de 48,8-94,1% do teor de AT (ZHANG *et al.*, 2011).

Tabela 1 – Teores de Antocianinas Totais (AT) e Antocianinas Monoméricas (AM) nos grãos de soja preta e amarela, crus e cozidos

Amostras	AT (mg CyE 100 g ⁻¹)	AM (mg CyE 100 g ⁻¹)
SP1	67,0 ± 3,3 ^a	57,4 ± 4,1 ^a
SP2	11,1 ± 1,0 ^b	7,9 ± 0,4 ^b
SA1	ND	ND
SA2	ND	ND

NOTA: Valores médios ± DP de triplicatas. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$). SP1: soja preta crua; SP2: soja preta cozida; SA1: soja amarela crua; SA2: soja amarela cozida. ND: não detectado.

Xu e Chang (2008a) relataram que a casca representa 10,3% da massa do grão de soja preta. Yao *et al.* (2010) também apresentaram uma porcentagem semelhante de 11,3%, após encontrarem 655 mg 100 g⁻¹ de antocianinas na casca de soja preta e 74 mg 100 g⁻¹ no grão inteiro.

Quanto ao processo de cozimento, Xu e Chang (2008b) observaram uma redução de 93% do teor de antocianinas da soja preta crua, após 120 minutos de cocção a pressão ambiente, observando uma redução no teor de antocianinas totais de 43 para 3 mg CyE 100 g⁻¹. Constatando que o processamento térmico causou reduções significativas ($p < 0,05$) de cianidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo nos grãos soja preta. A diminuição no teor de cianidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo deve-se provavelmente à degradação das antocianinas devido à alta temperatura aplicada durante o tratamento térmico (MARTINS *et al.*, 2018).

TEORES DE ISOFLAVONAS

Cinco das doze formas químicas de isoflavonas foram detectadas e quantificadas nos grãos de soja preta e amarela, crus e cozidos (Tabela 2).

Em relação ao conteúdo, em base seca de isoflavonas β -glicosídicas, daidzina apresentou o maior valor nos grãos de soja amarela crus 226,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ de amostra desengordurada, e a forma química genistina não apresentou diferença significativa entre os grãos de soja preta e amarela crus 410,5 e 382,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente (Tabela 2). Após o processo de cocção dos grãos, ambas as cultivares sofreram redução nos teores de β -glicosídica, sendo mais expressiva na forma química daidzina, com uma redução de 65% nas duas cultivares, resultados diferentes dos relatados na literatura.

Os maiores teores de malonilglicosídeos foram verificados nos grãos de soja preta crus, e os valores mais expressivos foram da fração malonil-genistina 1466,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ de amostra desengordurada. As cultivares de soja preta e amarela sofreram uma redução drástica na concentração de malonilglicosídeos após a cocção dos grãos, sendo mais significativo na cultivar amarela com uma redução de 71% na forma química malonil-daidzina, no entanto observou-se o aumento

significativo no teor de agliconas. Xu e Chang (2008b) após o processamento térmico dos grãos de soja preta e amarela sob pressão, também observaram uma redução no teor de malonilglicosídeos, e uma acréscimo significativo nos teores de β -glicosídeos e agliconas. Segundo Carrão-Panizzi, Simão e Kikuchi (2003) o cozimento promove a redução nos teores de malonilglicosídeos devido à clivagem dos grupos ésteres malonil para as formas daidzina e genistina, por ações do calor durante o tratamento e de outros mecanismos presentes nas etapas posteriores de moagem e secagem dos grãos.

Tabela 2 – Teores de isoflavonas nos grãos de soja preta e amarela, crus e cozidos

Amostras	Aglicona ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Malonilglicosídeos ($\mu\text{g g}^{-1}$)			β -Glicosídeos ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
	GEN	MDAI	MGEN	DAÍ	GEN	TOTAL
SP1	33,9 \pm 0,03 ^c	428,9 \pm 0,03 ^b	1466,7 \pm 0,03 ^a	77,3 \pm 0,02 ^b	410,5 \pm 0,03 ^a	1316
SP2	264,4 \pm 0,87 ^a	157,9 \pm 0,86 ^d	627,4 \pm 0,28 ^c	27,7 \pm 0,12 ^c	285,2 \pm 0,08 ^b	863
SA1	87,6 \pm 0,01 ^b	590,6 \pm 0,08 ^a	955,7 \pm 0,17 ^b	226,7 \pm 0,02 ^a	382,2 \pm 0,05 ^a	1261
SA2	261,4 \pm 0,90 ^a	171,2 \pm 0,25 ^c	374,7 \pm 0,86 ^d	78,5 \pm 0,17 ^b	211,1 \pm 0,22 ^c	721

NOTA: Valores médios \pm DP de triplicatas. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$). SP1: soja preta crua; SP2: soja preta cozida; SA1: soja amarela crua; SA2: soja amarela cozida. GEN: genisteína; MDAI: 6''-O-malonildaidzina; MGEN: 6''-O-malonilgenistina; DAÍ: daidzina; GEN: genistina.

Xu e Chang (2008a) apresentaram no seu estudo concentrações de isoflavonas malonilglicosídeos, para os grãos de soja preta e amarela crus nas frações daidzina e genistina iguais a 656,5 e 340,6 $\mu\text{g g}^{-1}$, 712,1 e 1980 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Lin e Lai (2006) observaram para as quatro cultivares de soja preta estudadas concentrações de malonilglicosídeos nas formas químicas malonil-daizina de 88,7 a 839,1 $\mu\text{g g}^{-1}$, e malonil-genistina de 785,2 a 911,5 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Quanto ao conteúdo de agliconas foram verificadas diferenças entre as duas cultivares de soja preta e amarela cruas, sendo superior na cultivar amarela crua 87,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ de amostra desengordurada, em relação a cultivar de soja preta crua 33,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ de amostra desengordurada. Após o processo de cocção os teores de agliconas da fração genisteína das cultivaras de soja preta e amarela cozidas aumentaram e não difeririam, sendo 264,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ de amostra desengordurada e 261,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ de amostra desengordurada, respectivamente, podendo-se assim garantir a produção de alimentos de soja com maior valor funcional, sendo estes uma excelente fonte de consumo direto das formas de isoflavonas biologicamente mais ativas para o organismo humano.

Xu e Chang (2008b) relataram um aumento nos teores de agliconas após o processo de cocção da soja sob pressão por 15 minutos, das formas químicas daidzeína e genisteína de 4,91 para 8,75 $\mu\text{g g}^{-1}$ e de 3,26 para 6,83 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, e após 60 minutos nas mesmas condições iniciais para 15,20 e 14,22 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

As isoflavonas agliconas nas formas daidzeína e gliciteína não foram detectas e quantificadas neste trabalho, assim como as acetilglicosídeos (acetildaidzina, acetilgenistina, acetilglicitina), pois não houve um processo de torra dos grãos. Vários estudos afirmam que as formas acetil de isoflavonas se formam apenas

após o tratamento térmico mais brusco dos grãos de soja (Lima e Ida, 2014; Silva *et al.*, 2012). Lin e Lai (2006) em seu trabalho com quatro cultivares de soja preta obtiveram apenas traços de isoflavonas agliconas, e não detectaram acetilglicosídeos nas formas químicas acetildaidzina e acetilgenistina. Xu e Chang (2008b) em seu estudo não detectaram antes e após a cocção dos grãos de soja preta e amarela a isoflavona acetilgenistina.

Estas diferenças podem ser explicadas, pelo fato de que os teores de isoflavonas nos grãos de soja variam em função das diferenças genéticas entre as cultivares e podem sofrer influência da temperatura do ambiente durante o desenvolvimento, por exemplo, climas mais frios favorecem o acúmulo de isoflavonas, e de tempo e temperatura de cocção dos grãos (CARRÃO-PANIZZI, 1996; LEE; AHN; CHUNG, 2003).

CONCLUSÕES

O estudo demonstrou que o teor médio de antocianinas nos grãos de soja preta foi de 67,0 mg eq. cianidina-3-O-glicosídeo por 100 g de amostra em base seca, com uma redução de 83% após a cocção dos grãos.

Com relação as isoflavonas, cinco das doze formas químicas foram detectadas e quantificadas nos grãos de soja preta e amarela, crus e cozidos. A forma malonilglicosídeo apresentou a maior concentração nas duas cultivares de soja, e após o cozimento houve um acréscimo da forma aglicona nas cultivares de soja preta e amarela.

Portanto, o estudo demonstrou que embora a soja preta possui um diferencial em relação a soja tradicional amarela, pela presença de um composto bioativo na casca, as antocianinas, após o processamento térmico dos grãos há uma significativa redução no teor de antocianinas totais. Entretanto, a soja preta, assim como a soja amarela, é considerada um excelente alimento funcional, pois é fonte de isoflavonas e antocianinas, proteínas de excelente qualidade e calorias, sendo usada na preparação e formulação de diversos produtos alimentícios.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos fornecida. À EMBRAPA SOJA - Londrina e a Naturalle pelas amostras de soja fornecidas.

Determination of isoflavones and anthocyanins in black soybeans

ABSTRACT

Black soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] is a little-known variety in Brazil, which also has the benefits related to soy consumption, anthocyanins presents in your seed coat, aiding in antioxidant activity. Most of the scientific literature refers to yellow soybeans, while studies on black soybeans are still scarce. The aim of this study was to analyze soybeans black and yellow, raw and cooked, the contents of the main bioactive compounds, isoflavones and anthocyanins. The identification and quantification of isoflavones by HPLC, and anthocyanins by the method of differential pH. The total anthocyanins in black soybean were reduced by 83% after cooking. Five of the twelve chemical forms of isoflavones were detected and quantified in soybeans black and yellow, raw and cooked. The way malonylglucosides showed the highest concentration in both cultivars and after cooking was an increase in the aglucones form in soybean cultivars black and yellow. Therefore, soy and its derivatives are highly promising raw materials for use in the food industry, especially black soybeans, providing greater health benefits due to the presence of anthocyanins in their shell.

KEYWORDS: Bioactive compounds; phenolic; anthocyanins.

REFERÊNCIAS

- BOMSER, J.; MADHAVI, D. L.; SINGLETARY, K.; SMITH, M. A. L. In vitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species. **Planta Med**, v. 62, n. 3, p. 212–216, 1996.
- CARRÃO-PANIZZI, M. C. **Isoflavonóides em soja (*Glycine max* (L.) Merrill): Variabilidade genética e ambiental de cultivares e efeitos no processamento de extrato solúvel de soja**. 122 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil, 1996.
- CARRÃO-PANIZZI, M. C.; SIMÃO, A. S.; KIKUCHI, A. Efeitos de genótipos, ambientes e de tratamentos hidrotérmicos na concentração de isoflavonas agliconas em grãos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 8, p. 897-902, 2003.
- EMBRAPA, 2019. **Soja em números** (safra 2017/2018). Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 28 mai. 2019.
- GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Isoflavones in Soy-Based Consumed in Brasil: Levels, Distribution, and Estimate Intake. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5987-5993, 2002.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R.E. (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- HRIBAR, U.; ULRIH, N. P. The metabolism of anthocyanins. **Current Drug Metabolism**, v. 15, p. 3–13, 2014.
- HOU, D. X. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins. **Current Molecular Medicine**, v. 3, p. 149–159, 2003.
- HUANG, R. Y.; CHOU, C. C. Stability of isoflavone isomers in steamed black soybeans and black soybean koji stored under different conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1927–1932, 2009.
- JENG, T. L.; YI, J. S.; WU, M. T.; SUNG, J. M. Comparisons of flavonoids and anti-oxidative activities in seed coat, embryonic axis and cotyledon of black soybeans. **Food Chemistry**, v. 123, p. 1112-1116, 2010.

KIM, J. A.; JUNG, W. S.; CHUN, S. C.; YU, C. Y.; MA, K. H.; GWAG, J. G.; CHUNG, I. M. Correlation between the level of phenolic compounds and the antioxidant capacity in cooked-with-rice and vegetable soybean varieties. **European Food Research and Technology**, v. 224, n.2, p. 259-270, 2006.

KHOO, H. E.; AZLAN, A.; TANG, S. T.; LIM, S. M. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food & Nutrition Research**, v. 61, 1361779, 2017.

LEE, J. H.; KANG, N. S.; SHIN, S. O.; SHIN, S. H.; LIM, S. G.; SUH, D. Y.; BAEK, I. Y.; PARK, K. Y.; HÁ, T. J. Characterization of anthocyanins in the black soybean (*Glycine max L.*) by HPLC-DAD-ESI/MS analysis. **Food Chemistry**, v. 112, n. 1, p. 226-231, 2009.

LEE, W. Y.; AHN, J. K.; CHUNG, J. M. Effects of year, site, genotype and their interactions on various soybean isoflavones. **Field Crops Research**, v. 81, p. 181-192, 2003.

LIN, P. Y.; LAI, H. M. Bioactive compounds in legumes and their germinated products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 11, p. 3807-3814, 2006.

LIU, K. Soybeans: Chemistry, technology, and utilization. **New York: Chapman & Hall**, 1997, 537 p.

LIMA, F. S.; IDA E. I. Optimization of soybean hydrothermal treatment for the conversion of b-glucoside isoflavones to aglycones. **LWT -Food Science and Technology**, v. 56, p.232-239, 2014.

MALENCIC, D.; CVEJIC, J.; MILADINOVIC, J. Polyphenol content and antioxidant properties of colored soybean seeds from Central Europe. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, n. 1, p. 89-95, 2012.

MARTINS, L. M.; CARLOS, L.A.; GONÇALVES, A.A.; OLIVEIRA, K.G.; PAIVA, C.L. Tratamento térmico no teor de antocianinas e características sensoriais de bebida não alcoólica de vinagreira. *Perspectivas Online: Biológicas & Saúde*, v. 8, n. 27, p.27-37, 2018.

SILVA, C. E.; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; MANDARINO, J. M. G.; LEITE R. S.; MÔNACO, A. P. A. Teores de isoflavonas em grãos inteiros e nos componentes dos grãos de diferentes cultivares de soja (*Glycine max (L.) Merrill*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15, n. 2, 150-156, 2012.

TAPIERO, H.; NGUYENBA, G.; TEW, K. D. Estrogens and environmental estrogens. **Biomedical and Pharmacotherapy**, v. 56, p. 36-44, 2002.

TORSKANGERPOLL, K.; ANDERSEN, ØYVIND M. Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. **Food Chemistry**, 89, 427–440, 2005

TSUDA, T.; HORIO, F.; OSAWA, T. Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 2125–2130, 2003.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 304–309, 1997.

WANG, H-J.; MAZZA, G. Effects of anthocyanin and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4183–4189, 2002.

XIONG, S.; MELTON, L. D.; EASTEAL, A. J.; SIEW, D. Stability and antioxidant activity of black currant anthocyanins in solution and encapsulated in glucan gel. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, v. 54, p. 6201–6208, 2006.

XU, B.; CHANG, S. K. C. Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins and isoflavones, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8365-8373, 2008a.

XU, B.; CHANG, S. K. C. Total phenolics, phenolic acids, isoflavones, and anthocyanins and antioxidant properties of yellow and black soybeans as affected by thermal processing, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 7165-7175, 2008b.

XU, J-R.; ZHANG, M-W.; LIU, X-H.; ZHANG, R-F.; SUN, L.; QIU, L-J. Correlation between antioxidation and the content of total phenolics and anthocyanin in black soybean accessions. **Agricultural Science in China**, v. 6, n. 2, p. 150-158, 2007.

YAO, Y.; SANG, W.; ZHOU, M.; REN, G. Antioxidant and alpha-glucosidase inhibitory activity of colored grains in China. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 770-774, 2010.

YOSHIARA, L. Y.; MADEIRA, T. B.; DELAROZA, F.; DA SILVA, J. B.; IDA, E. I. Optimization of soy isoflavone extraction with different solvents using simplex-centroid mixture design. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 63, p. 978-986, 2012.

YOU DIM, K. A.; Mc DONALD, J.; KALT, W.; JOSEPH, J. A. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, n. 5, p. 282–288, 2002.

YOUNG YOON; YOON-MI LEE; SOOJI SONG; YU YOUNG LEE; KYUNG-JIN YEUM. Black soybeans protect human keratinocytes from oxidative stress-induced cell death. **Food Science & Nutrition**, v. 6, p. 2423-2430, 2018.

ZHANG, R. F.; ZHANG, F. X.; ZHANG, M. W.; WEI, Z. C.; YANG, C. Y.; ZHANG, Y.; TANG, X. J.; DENG, Y. Y.; CHI, J. W. Phenolic composition and antioxidant activity in seed coats of 60 Chinese black soybean varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n. 11, p. 5935-5944, 2011.

Recebido: 24 mai. 2017.

Aprovado: 29 jul. 2019.

DOI: 10.3895/rebrapa.v9n3.5929

Como citar:

LEITHARDT, D. R. F.; YAMASHITA, A. N.; BELÉIA, A. D. Determinação de isoflavonas e antocianinas em soja preta. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 9, n. 3, p. 112-124, jul./set. 2018. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa>

Correspondência:

Daiana Rosso Ferreira Leithardt

Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid (PR 445), Km 380, Caixa Postal 10.011, CEP 86057-970, Londrina, Paraná, Brasil.

Direito autorial: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

