

# ISOFLAVONAS EM GRÃOS DE SOJA: IMPORTÂNCIA DA ATIVIDADE DE $\beta$ -GLICOSIDASE NA FORMAÇÃO DO SABOR AMARGO E ADSTRINGENTE<sup>1</sup>

ARAÚJO, J. M. A.<sup>2</sup>, CARLOS, J. C. S.<sup>2</sup> & SEDYAMA, C. S.<sup>3</sup>

## RESUMO

As isoflavonas daidzeína e genisteína são responsáveis pelo sabor amargo e adstringente em derivados de soja, as quais aumentam durante a imersão dos grãos em água. A formação dessas substâncias podem ser inibidas pela glicono- $\delta$ -lactona, que atua como inibidor competitivo das  $\beta$ -glicosidases. Conclui-se, portanto, que as  $\beta$ -glicosidases são as responsáveis pela liberação de daidzeína e genisteína em grãos de soja imersos em água. A inibição da atividade das  $\beta$ -glicosidases, pela adição do inibidor (glicono- $\delta$ -lactona), reduziu o aparecimento das isoflavonas agliconas em 33% e 23%, respectivamente, nos cultivares Paraná e UFV-5.

**Palavras-chave:** soja,  $\beta$ -glicosidase, glicono- $\delta$ -lactona, isoflavonas.

## Summary

SOYBEAN SEED ISOFLAVONES:  $\beta$ -GLUCOSIDASE ACTIVITY ON DEVELOPMENT OF UNDESIRABLE BITTER AND OBJECTIVE AFTERTASTE. Daidzein and genistein which are responsible for the undesirable bitterness and astringency of soybean products, increased during soaking of soybean. The production of these substances is inhibited by glucono- $\delta$ -lactone which is a competitive inhibitor of  $\beta$ -glucosidases. The results showed, that  $\beta$ -glucosidases were responsible for the production of daidzein and genistein during soaking. The inhibition of the  $\beta$ -glucosidases activity in two cultivars (Paraná and UFV-5) were examined by adding the inhibitor in the soaking water. The production of isoflavones aglycone on these varieties was reduced 33% and 23%, respectively.

**Key words:** soybean;  $\beta$ -glucosidase; glucono- $\delta$ -lactone; isoflavones.

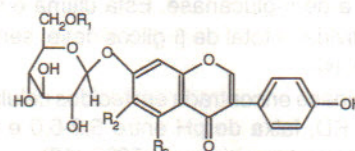
## 1 — INTRODUÇÃO

A soja possui diversos componentes biologicamente ativos. Dentre estes, as isoflavonas, presentes em elevadas concentrações (Figura 1), são de grande interesse, em razão de suas atividades estrogênicas (8,18), anti-hemolíticas e antioxidantes (20), fungistáticas e bactericidas (4,19) e anti-tumores (1,20), além do intenso sabor amargo e adstringente (13,16,17). Os valores, em mM, do limiar de percepção para cada isoflavona (16) foram os seguintes:  $10^{-3}$  mM (daidzeína),  $10^{-2}$  (daidzina), de  $10^{-3}$  a  $10^{-4}$  (derivadas de daidzina),  $10^{-4}$  (gliciteína),  $10^{-3}$  (glicitina) e  $10^{-5}$  (derivados de glicitina). Até o presente, o sabor tem sido o fator limitante mais importante na utilização da soja como alimento.

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 27/5/96. Aceito para publicação em 25/6/97.

<sup>2</sup> Departamento de Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Viçosa, CEP 36571-000, Viçosa-MG.

<sup>3</sup> Departamento de Fitotecnia - Universidade Federal de Viçosa, CEP 36571-000, Viçosa - MG.



COMPOSTO	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
DAIDZINA	—H	—H	—H
GLICITINA	—H	—OCH <sub>3</sub>	—H
GENISTINA	—H	—H	—OH
6-O-MALONILDAIDZINA	—COCH <sub>2</sub> COOH	—H	—H
6-O-MALONILGLICITINA	—COCH <sub>2</sub> COOH	—OCH <sub>3</sub>	—H
6-O-MALONILGENISTINA	—COCH <sub>2</sub> COOH	—H	—OH
6-O-ACETILDAIDZINA	—COCH <sub>3</sub>	—H	—H
6-O-ACETILGLICITINA	—COCH <sub>3</sub>	—OCH <sub>3</sub>	—H
6-O-ACETILGENISTINA	—COCH <sub>3</sub>	—H	—OH

FIGURA 1. Estruturas das isoflavonas em grãos de soja.

Nos diversos produtos (farinha de soja desengordurada, proteína de soja texturizada, extrato hidrossolúvel e isolado protéico), a questão do sabor tem sido negligenciada e subestimada, e futuras utilizações só terão sucesso quando esta questão for devidamente controlada ou até mesmo eliminada visto que, se a aceitabilidade não é boa, o valor nutritivo é de pouca consequência.

Além das isoflavonas, outros compostos responsáveis pelo sabor desagradável da soja são os componentes voláteis, derivados enzimaticamente ou termicamente de precursores não-voláteis, como proteínas, peptídios, aminoácidos, carboidratos, lipídios e vitaminas (5,14,17,22,24). Entretanto, certos compostos não-voláteis estão também associados com o sabor característico de produtos à base de soja, incluindo diversos componentes derivados de lipídios, vários compostos fenólicos e açúcares (2,13,21).

O grão de soja possui em torno de 2% de glicosídeos compostos de diversos tipos de saponinas e isoflavonóides já caracterizados e isolados. A quantidade de isoflavonas varia consideravelmente de acordo com a variedade e com o local e ano de cultivo (7). Estão presentes na forma glicosídica (geralmente 7-monoglicosídica) e, em menor concentração, na forma aglicona. Coletivamente, são responsáveis pelo sabor adstringente e amargo em produtos de soja (13,15,17,21), sendo as principais encontradas a genisteína e daidzina (50 a 90% do total).

A eliminação da lipoxigenase em soja (10,14) contribuiu sensivelmente para a melhoria do sabor de feijão cru, mas outras fontes de sabor desagradável, principalmente adstringência e amargo, ainda persistem (2,13,22). A adstrin-

gência provocada pelas saponinas pode ser reduzida pela remoção mecânica do hipocótilo (17,21).

A presença de isoflavonas agliconas em grãos de soja está relacionada com a atividade de  $\beta$ -glicosidase presente no tecido vegetal. A forma aglicona possui sabor mais intenso e desagradável que a forma glicosídica (2,21). Extratos da parede celular do grão de soja contém pelo menos duas enzimas com atividade de  $\beta$ -glicosidase (6). Uma delas possui somente atividade de  $\beta$ -glicosidase e a outra, além desta, possui a de  $\beta$ -glucanase. Esta última é responsável por 35% da atividade total de  $\beta$ -glicosidase, sendo denominada  $\beta$ -glicosilase.

A  $\beta$ -glicosidase encontrada em tecidos celulares da soja tem PM = 45 KD, faixa de pH entre 5,2-6,0 e pI = 4,2-4,4, sendo sua temperatura ótima em 50°C (12).

A formação de isoflavonas agliconas pode ser reduzida pela utilização de inibidores no controle da atividade de  $\beta$ -glicosidase, esperando-se, conseqüentemente, que o sabor amargo e adstringente nos produtos derivados da soja seja menos intenso. O inibidor competitivo mais potente de  $\beta$ -glicosidase é a d-glicono-1,5-lactona, ou  $\delta$ -lactona (25). Em meio aquoso, 1,5 lactona é convertida em ácido glucônico e 1,4-lactona, sendo esta conversão dependente do pH, da temperatura e do tempo de estocagem da solução (11,23).

O presente trabalho teve como objetivo estudar a ação e o controle da atividade da enzima  $\beta$ -glicosidase na liberação de daidzeína e genisteína em duas cultivares de soja (UFV-5 e Paraná).

## 2 — MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 — Preparo das amostras

Foram utilizadas amostras de grãos de duas cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill): Paraná e UFV-5, safra 89/90. As amostras, fornecidas pelo Departamento de Fito-tecnia da UFV, foram divididas em três tratamentos (Tabela 1).

**TABELA 1.** Tratamentos empregados nas amostras de grãos das cultivares Paraná e UFV-5, para a extração das isoflavonas.

Tratamentos	Soja (g)	1,5-Lactona* (50mg)	H <sub>2</sub> O (50ml)
1	11,3	-	+
2	11,1	+	+
3	11,8	-	-

+ = Presença e - = Ausência.

a = 5,6 mMoles.

Após 12 horas sob os três tratamentos, a soja foi descascada, congelada, liofilizada, moída e desengordurada com hexano, durante 10 horas em extrator Soxhlet. A extração das isoflavonas foi realizada em extrator Soxhlet, com metanol 100%, durante nove horas. O extrato metanólico foi concentrado a vácuo em evaporador rotativo a 60°C, até aproximadamente 20 mL. Este volume foi centrifugado juntamente com mais 10 mL de metanol, resultantes da lava-

gem do balão, e 5,0 mL de acetona, a uma força centrífuga de 986 g por 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido quantitativamente em erlenmeyer de 50 mL.

### 2.2 — Separação e quantificação das isoflavonas

Uma alíquota de 2 mL foi retirada e filtrada em pré-filtro do tipo AP - 250 e filtro HA 0,5  $\mu$ M (Milipore Corp. Bedford, Ma). Em seguida volumes de 10 e 50  $\mu$ l do filtrado foram injetados no cromatógrafo líquido em coluna de fase reversa, conforme técnica descrita por ARAUJO *et al* (3), utilizando-se gradiente linear de 25 a 50% MeOH em 20 minutos, permanecendo constante até o final da eluição.

### 2.3 — Hidrólise do p-nitrofenil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo pelas $\beta$ -glicosidases da soja

Foi utilizado o procedimento modificado proposto por HEYWORTH e WALKER (11), FORD e NUNLEY (9) na determinação da atividade de  $\beta$ -glicosidase (Tabela 2). Após a pesagem de aproximadamente 2g de soja e posterior adição de água, inibidor e indicador (p-NPG), as misturas permaneceram em repouso durante seis horas. Após este tempo, a água foi descartada e os grãos foram pesados e lavados com água destilada. Aos grãos lavados foram adicionados 20 mL de água destilada, sendo então fervidos, neste volume, durante cinco minutos para inativação da enzima. Depois de resfriados foram descascados e colocados em 16 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,25 M, por duas horas, para a extração do p-nitrofenol liberado pela ação das  $\beta$ -glicosidases da soja.

O extrato alcalino amarelo foi filtrado e a transmitância, lida em 420nm, em espectrofotômetro Baush e Lomb, para determinar a quantidade do p-nitrofenol liberado.

**TABELA 2.** Procedimento utilizado na determinação da atividade de  $\beta$ -glicosidase em grãos de soja nas cultivares UFV-5 e Paraná.

Tratamentos <sup>A</sup>	Soja (g)	H <sub>2</sub> O (10ml)	1,5-Lactona (mg)	p-NPG (2,0mg)
1 (branco)	2	+	0	-
2	2	+	0	+
3	2	+	1	+
4	2	+	2	+
5	2	+	5	+
6	2	+	10	+
7	2	+	20	+
8	2	+	30	+
9	2	+	40	+
10	2	+	50	+

<sup>A</sup> = Duplicata

+ = Presença e - = Ausência

p-NPG = p-nitrofenol- $\beta$ -D-glicopiranosídeo

## 3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise quantitativa revelou diferenças significativas nos teores de isoflavonas entre as cultivares Paraná e UFV-5 (Tabela 3). A cultivar UFV-5 apresentou um total de isoflavonas de 409,2 mg /100g e a 'Paraná', de 188,8 mg

/100g. Deste total, 2,7% representa a forma aglicona (genisteína e daidzeína) para a cultivar UFV-5 e 5,1% para a cultivar Paraná.

**TABELA 3.** Teor de isoflavonas (mg/100g de matéria liofilizada) encontradas nos grãos das cultivares UFV-5 e Paraná.

Isoflavonas	UFV-5				Paraná			
	Seca	Água	Água+ Inibidor	C.V. (%)	Seca	Água	Água+ Inibidor	C.V. (%)
Daidzina	159,3a	116,0c	137,9b	3,1	67,7a	57,2b	61,1ab	4,5
Genistina	239,0a	192,3c	218,9b	3,1	111,5b	115,4ab	118,5a	10,7
Daidzeína	2,2c	11,5a	9,0b	5,6	2,6c	4,3a	3,5b	3,5
Genisteína	8,7c	24,1a	18,5b	6,0	7,0c	15,6a	9,9b	8,7
Total	409,2	343,9	384,3		188,8	191,5	193,0	

Em trabalho citado na literatura (19), para farinha de soja desengordurada, variedade Amsoy, foram encontradas 99% das isoflavonas como glicosídeos. No presente trabalho, os valores encontrados foram 97,3% e 94,9% para os glicosídeos, nas variedades UFV-5 e Paraná, respectivamente. Entretanto, o teor de isoflavonas obtidas no tratamento 1 (Soja + Água) diminuiu consideravelmente. Portanto, esses resultados indicam que os glicosídeos presentes originalmente nos grãos foram hidrolisados durante imersão em água.

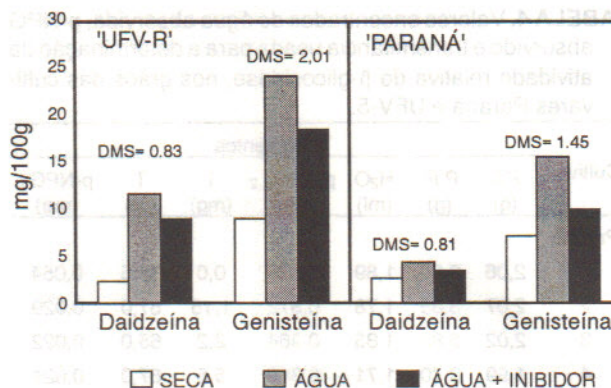
A partir das estruturas químicas (Figura 1), presume-se que as  $\beta$ -glicosidases hidrolisam as isoflavonas glicosídicas durante imersão em água, aumentando a quantidade de daidzeína e genisteína. Para verificar a ação de  $\beta$ -glicosidases em grãos de soja durante a imersão em água, adicionou-se o substrato sintético específico (p-NPG).

A ação de  $\beta$ -glicosidase sobre o p-NPG durante a imersão da soja em água pode ser verificada, medindo-se o p-nitrofenol liberado (Tabela 4). A partir desses resultados, conclui-se que a daidzeína e genisteína foram formadas a partir da hidrólise das isoflavonas glicosídicas pelas  $\beta$ -glicosidases durante a imersão dos grãos em água.

Para controlar a hidrólise das isoflavonas glicosídicas durante a imersão em água, foi adicionado o inibidor competitivo de  $\beta$ -glicosidases, a glicono- $\delta$ -lactona. A formação de daidzeína e genisteína, que aumentaram durante a imersão em água, foi inibida pela adição de glicono- $\delta$ -lactona (Tabela 3).

Na horizontal, para cada cultivar, as médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

As isoflavonas daidzeína e genisteína aumentaram 5,23 e 2,77 vezes na cultivar UFV-5 e 1,65 e 2,22 vezes na 'Paraná', do tratamento 1 (Seco) para o tratamento 2 (Água), respectivamente. A ação da glicono-1,5-lactona no tratamento 3 (Água + Inibidor) reduziu a concentração de daidzeína e genisteína na cultivar Paraná em 19 e 36% e, na cultivar UFV-5, em 22 e 23%, respectivamente. O total das duas isoflavonas agliconas é reduzido em 33 e 23% nas cultivares Paraná e UFV-5, respectivamente (Figura 2).



**FIGURA 2.** Efeito dos tratamentos sobre a quantidade de isoflavonas daidzeína e genisteína nos grãos de soja. DMS = Diferença mínima significativa.

A presença de isoflavonas livres no tratamento 1 (Seco) pode ser explicada, possivelmente, pela ação das enzimas  $\beta$ -glicosidases durante o armazenamento e processamento, como resposta à infecção por patógenos (4,6,19), ou pela indução por *Bradyrhizobium* (15).

### 3.1 – Atividade de $\beta$ -glicosidase

Os resultados obtidos para a atividade de  $\beta$ -glicosidase nas cultivares de soja UFV-5 e Paraná constam da Tabela 4.

A quantidade necessária para inibir 50% da atividade de  $\beta$ -glicosidase foi calculada pela relação entre a atividade relativa e os níveis de inibição usados (Figura 3). A equação melhor ajustada aos pontos, para a cultivar Paraná, ( $Y = 96,8 - 34,96X^{0,5} + 7,36X - 0,496X^{1,5}$ ,  $R^2 = 0,9528$  e  $p < 0,05$ ) em que X é miligrama de glicona e Y é a porcentagem de atividade residual, forneceu o valor de 4,94 mg de glicona (2,77 mMoles) como suficiente para reduzir em 50% a atividade de  $\beta$ -glicosidase, nessa cultivar, sendo este valor muito próximo à metade do utilizado no presente trabalho. O resultado obtido aproxima-se ao de BODENMANN *et al.* (4), que encontrou o valor de 2,9 mMoles, usando enzima purificada.

A curva obtida para a cultivar UFV-5 não atinge um patamar de equilíbrio, ou melhor, a curva ( $Y = 1 / 0,011056 + 0,00004873X$ ,  $R^2 = 0,6515$  e  $p < 0,01$ ) não fica paralela ao eixo X. Para esta cultivar, a inibição de 50% de atividade não foi atingida dentro dos limites utilizados para a determinação da curva, possivelmente, em virtude de a enzima  $\beta$ -glicosidase não ter sido afetada pelo inibidor de modo significativo. Outra explicação seria a baixa absorção de água pela 'UFV-5' (Tabela 4), em comparação à 'Paraná', conseqüentemente, a quantidade de inibidor levada pela água ao interior da semente foi insuficiente para promover maior inibição. A quantidade de água absorvida de cada cultivar foi diferente entre si, a 5% de probabilidade. Segundo HOSSEL e TODENHAGEM (12) existe comportamento diferente da enzima pelo substrato, mesmo quando se utilizam cultivares semelhantes, o que pode também explicar a diferença de atividade enzimática neste trabalho.

**TABELA 4.** Valores encontrados de água absorvida, p-NPG absorvido e transmitância usada para a determinação da atividade relativa de  $\beta$ -glicosidase, nos grãos das cultivares Paraná e UFV-5.

Cultivar	Tratamentos						
	P.I. (g)	P.F. (g)	H <sub>2</sub> O (ml)	p-NPG <sub>1,2</sub> (mg)	I (mg)	T (%)	p-NPG <sub>3</sub> (mg)
<b>Paraná</b>							
1	2,06	3,95	1,89	0,376	0,0	35,5	0,054
2	2,07	3,85	1,78	0,372	1,15	57,0	0,029
3	2,02	3,85	1,83	0,364	2,2	65,0	0,022
4	1,99	3,70	1,71	0,340	5,5	67,0	0,021
5	2,04	3,85	1,81	0,360	10,2	74,5	0,015
6	2,03	3,90	1,87	0,372	20,25	78,5	0,013
7	2,01	3,80	1,79	0,356	30,4	85,5	0,008
8	2,03	3,85	1,82	0,362	40,55	82,0	0,010
9	2,06	3,90	1,84	0,366	50,25	77,8	0,013
Média	2,03	3,85	1,81*	0,363			
<b>UFV-5</b>							
1	2,04	3,75	1,72	0,34	0,0	69,5	0,019
2	2,05	3,70	1,65	0,33	1,0	70,6	0,018
3	2,01	3,74	1,73	0,34	2,2	83,5	0,009
4	2,02	3,58	1,56	0,31	5,25	81,5	0,011
5	2,04	3,76	1,72	0,34	11,05	87,0	0,007
6	2,08	3,80	1,72	0,34	20,65	86,5	0,008
7	2,00	3,70	1,70	0,34	30,90	87,5	0,007
8	2,05	3,74	1,69	0,33	40,25	89,3	0,006
9	2,07	3,85	1,78	0,35	50,0	92,5	0,004
Média	2,04	3,74	1,69	0,34			

\* = Média de duas repetições

P.I. = Peso inicial, P.F. = Peso final, H<sub>2</sub>O = água absorvida, p-NPG = p-NPG absorvido

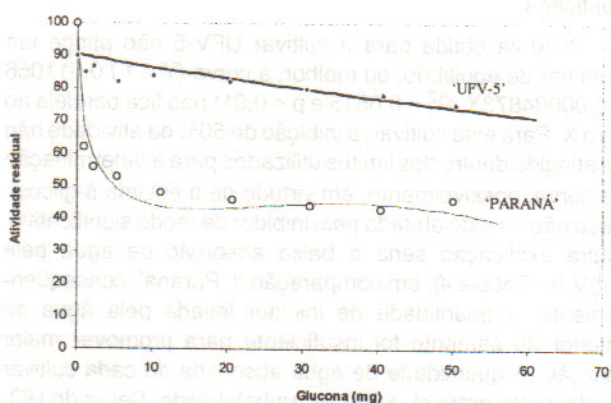
I = Glicona-1,5-lactona, T = transmitância a 420nm e p-NP = p-nitrofenol liberado.

1 = Concentração de p-NPG usada para a cultivar Paraná (0,199 mg / mL).

2 = Concentração de p-NPG usada para a cultivar UFV-5 (0,20 mg / mL).

3 = Calculado: Abs = Ebc: E = 18700, b = 1,0cm e c = mol / l, volume = 0,016 l e PM = 139,11

+ = Diferença entre médias das variedades significativas a 5% de probabilidade pelo teste F



**FIGURA 3.** Atividade residual de  $\beta$ -glicosidase em função da concentração de inibidor nas cultivares Paraná e UFV-5.

#### 4 — CONCLUSÕES

- A quantidade de isoflavonas agliconas na cultivar UFV-5 variou entre 10,9 e 35,6 mg/100g de matéria seca de soja, apresentando teor elevado de genisteína e daidzeína, muito superior ao encontrado na cultivar Paraná, cujo total ficou entre 9,6 a 19,9 mg/100g de matéria seca.
- A utilização da glicona- $\delta$ -lactona sobre as cultivares estudadas reduziu o aparecimento das isoflavonas agliconas em 33 e 23%, nas cultivares Paraná e UFV-5, respectivamente.
- A enzima  $\beta$ -glicosidase foi inibida à metade de sua atividade original pela glicona- $\delta$ -lactona na cultivar Paraná com 2,77 mmoles, enquanto na 'UFV-5', a quantidade de glicona para causar essa mesma redução na atividade da enzima não pôde ser determinada pela resposta linear encontrada, em razão da pouca afinidade pelo substrato usado, p-nitrofenil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo, e, ou, em razão da menor absorção de água, visto que esta cultivar liberou quantidade de p-nitrofenol muito inferior à 'Paraná'.

#### 5 — REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) AKIYAMA, T., ISHIDA, J., NAKAGAWA, S., & OGAWARA, H. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v. 262(12), p. 5592 - 5595, 1987.
- (2) ARAI, S., SUSUKI, H., FUJIMAKI, M. & SAKURAI, Y. Studies on flavor components in soybean. Part 2. Phenolic acids in defatted soybean flour. *Agric. Biol. Chem.*, v. 30, p. 263-267, 1966.
- (3) ARAÚJO, J. M. A., SANTOS, C., J. & MOREIRA, M. A. Teores de isoflavonas em cultivares de soja. *Arq. Biol. Tecnol.*, Curitiba, v. 38 (3), p.725-730, 1995.
- (4) BODENMANN, J.; HUNIGER, U. & HOHL, H. R. Extracellular enzymes of *Phytophthora infestans*: endo-cellulase, beta-glucosidases and 1,3-beta-glucanases. *Can. J. Microbiol.*, Ottawa, v. 31 (1), p.75-82, 1985.
- (5) CHANG, S. S. Flavor and flavor stability on foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v. 56, p. 908-910, 1979.
- (6) CLINE, K. & ALBERSHEIM, P. Host-pathogen interactions. Purification and characterization of a  $\beta$ -glucosyl hydrolase/transferase present in the walls of soybean cells. *Plant Physiol.*, v. 68(2), p. 207-220, 1981a.
- (7) ELDRIDGE, A., C. & KWOLEK, W., F. Soybean isoflavones: effect of environment and variety on composition. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, DC, v. 31, p.394-396, 1983.
- (8) FARMAKALIDIS, E.; HATHCOCK, J. N. & MURPHY, P. A. Oestrogenic potency of genistin and daidzin in mice. *Food Chem. Toxicol.* v. 23, p. 741 - 745, 1985.
- (9) FORD, J. R., & NUNLEY, J. A. A continuously monitored spectrophotometric assay of glycosidases with nitrophenyl glycosidases. *Anal. Biochem.*, Washington, v. 54 (1), p. 120-128, 1973.
- (10) HAJIKA, M., IGITA, K., & KITAMURA, K. A line lacking all the seed lipoxigenase isoenzymes in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Japan. J. Breed.* v. 41, p.507-509, 1991.
- (11) HEYWORTH, R. & WALKER, P. G. Almond-emulsin  $\beta$ -glucosidase and  $\beta$ -D-galactosidase. *Biochem. J.*, London, v. 83, p.331-333, 1962.

- (12) HOSEL, W. & TODENHAGEM, R. Characterization of a beta-glucosidase from *Glycine max* which hydrolases coniferin and syringin. **Phytochemistry**, v. 19(7), p. 1349-1353, 1980.
- (13) HUANG, A. S., HSIEH, A. L. & CHANG, S.S. Characterization of the nonvolatile minor constituents responsible for the objectionable taste of defatted soybean flour. **J. Food Sci., Chicago**, v.47, p.19-23, 1981.
- (14) KITAMURA, K. Breeding trials for improving the food-processing quality of soybeans. **Trends In Food Sci. Technol.** London, v. 4, p.64-67, 1995.
- (15) KITAMURA, K., IGITA, K., KIKUCHI, A., KUDOU, S., & OKUBO, K. Low isoflavone content in some early cultivars, so-called "Summer-type Soybeans" (*Glycine max* (L) Merrill). **Japan. J. Breed.**, Tokio, v. 41, p. 651-654, 1991.
- (16) KUDOU, S.; FLEURY, Y.; WELTI, D. & KITAMURA, K. Malonyl isoflavone glycosides in soybean seeds. **Agric. Biol. Chem.**, v. 55, p. 2227 - 2233, 1991.
- (17) McLEOD, G. & AMES, J. Soy flavor and its improvement. **CRC Critical Rev. Food Sci. Nutr.** West Palm Beach, v. 27 (4), p. 218-401, 1988.
- (18) MURPHY, P. A. Phytoestrogen content of processed soybean products. **Food Technol.**, Chicago, v. 36, p. 60-64, 1982.
- (19) NAIM, M., GESTETNER, B., ZILKAH, S. BIRKY, Y. & BONDI, A. Soybean isoflavones characterization, determination, and antifungal activity. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, DC, v. 22, p.806, 1974.
- (20) NAIM, M., GESTETNER, B., BONDI, A. & BIRK, Y. Antioxidative and antihemolytic activities of soybean isoflavones. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, DC, v. 24, p. 1174 - 1177, 1976.
- (21) OKUBO, K., KOBAYASHI, K. & TAKAHASHI, K. Improvement of soy milk and tofu process on the behavior of undesirable taste component such as glucosides. **Up-To-Date Food Process. (Japan)**, v. 18, p. 16-22, 1983.
- (22) RACKIS, J. J.; SESSA, D. J. & HONING, D.H. Flavor problems of vegetable food proteins. **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, Champaign, v. 56, p. 262-267, 1979.
- (23) REESE, E. T., & PARRISH, F. H. Nojirinyacin and D-glucono-1,5-lactone as inhibitors of carbohydrases. **Carbohydrate Res.**, v. 18 (6), p. 381-388, 1971.
- (24) SESSA, D. J., WARNER, K., & RACKIS, J. J. Oxidized phosphatidylcholines from defatted soybean flakes taste bitter. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, DC, v. 24, p.16, 1976.
- (25) TAKAHASHI, T. & MITSUMOTO, M. Transformation and hydrolysis of D-glucono- $\gamma$  and  $\delta$ -lactone. **Nature**, London, v.199, p. 765-767, 1963.

SUMMARY

The effect of the addition of a small amount of soybean isoflavone to a milk protein concentrate (MPC) on the stability of the emulsion during storage was studied. The emulsion was prepared by the addition of 0.5% of the MPC to a 10% solution of soybean isoflavone in water. The emulsion was stored at 4°C for 12 days. The results showed that the addition of soybean isoflavone to the MPC significantly improved the stability of the emulsion during storage. The emulsion containing soybean isoflavone showed a higher percentage of intact particles after 12 days of storage compared to the control emulsion. This suggests that soybean isoflavone acts as a stabilizer for the emulsion.

— INTRODUÇÃO

O efeito da adição de uma pequena quantidade de isoflavona de soja a um concentrado de proteína de leite (CPL) na estabilidade da emulsão durante o armazenamento foi estudado. A emulsão foi preparada pela adição de 0,5% do CPL a uma solução de 10% de isoflavona de soja em água. A emulsão foi armazenada a 4°C por 12 dias. Os resultados mostraram que a adição de isoflavona de soja ao CPL melhorou significativamente a estabilidade da emulsão durante o armazenamento. A emulsão contendo isoflavona de soja mostrou uma maior porcentagem de partículas intactas após 12 dias de armazenamento em comparação com a emulsão controle. Isso sugere que a isoflavona de soja atua como estabilizante para a emulsão.