

CONVERSÃO DE MALONIL- β -GLICOSIL ISOFLAVONAS EM ISOFLAVONAS GLICOSILADAS PRESENTES EM ALGUNS CULTIVARES DE SOJA BRASILEIRA¹

Yong Kun PARK^{2,*}, Cláudio Lima AGUIAR², Severino Matias ALENCAR²,

Hipólito Antonio A. MASCARENHAS³, Adilma Regina Pippa SCAMPARINI²

RESUMO

Sendo o Brasil um grande produtor mundial de soja, torna-se necessário uma avaliação do teor de isoflavonas naqueles cultivares de maior importância para o setor agrícola e a verificação do efeito da temperatura na composição destas isoflavonas na soja. Neste trabalho pode-se observar que na temperatura de 25°C, o cultivar IAC Foscarin 31-1 apresentou teor médio de isoflavonas de 1405 μ g/g, enquanto que o cultivar IAC 15-1 apresentou cerca de 3008 μ g/g. O aquecimento a 121°C durante 40 minutos promoveu uma redução de até 17,6 vezes no teor de malonil isoflavonas e um aumento de aproximadamente 2,6 vezes na concentração de glicosil isoflavonas.

Palavras-chave: conversão; glicosilada; isoflavona; malonil; soja; temperatura.

SUMMARY

CONVERSION OF MALONYL- β -GLYCOSIDE ISOFLAVONES INTO GLYCOSIDE ISOFLAVONES IN BRAZILIAN SOYBEANS. As a major soybean producer, Brazil finds it important to characterize the isoflavone composition of those cultivars of greater agricultural relevance and to investigate the effect of the temperature of extraction on the isoflavone content. At 25°C, the IAC Foscarin 31-1 cultivar exhibited a mean total concentration of isoflavones of 1,405 μ g/g, while IAC 15-1 showed about 3,008 μ g/g. Heating at 121°C for 40 minutes, promoted a reduction of up to 17.6 times in the concentration of malonylglycoside isoflavones and an increase of approximately 2.6 times in the concentration of glycoside isoflavones.

Keywords: conversion; glycoside; isoflavone; malonyl; soybean; temperature.

1 – INTRODUÇÃO

Desde sua primeira menção nas estatísticas brasileiras em 1941, a soja (*Glycine max* L.), tem se destacado por fornecer diferentes produtos de grande importância no mercado internacional. Entre estes produtos estão: o óleo, o farelo, a lecitina, além de outros metabólitos secundários como, as saponinas e as isoflavonas. Inúmeros estudos têm destacado o potencial destes fitoquímicos no controle de diferentes enfermidades. Por outro lado, o Brasil é o segundo maior exportador de grãos de soja e o principal exportador de farelo de soja, com 32% do mercado mundial, o que representa 75% da produção brasileira [21]. A composição química da soja, em 100g de amostra em base seca, constitui-se de 40g de proteínas, 30g de glicídios, 20g de lipídios, 226mg de cálcio, 546mg de fósforo e 8,8mg de ferro [23, 27]. Além da proteína, a soja fornece os ácidos graxos essenciais, linoléico e linolênico [19], algumas vitaminas [14] e compostos fitoquímicos, como as isoflavonas, que apresentam importantes propriedades biológicas, tais como atividade antioxidante [9, 10, 24], atividade antifúngica [18], propriedades estrogênicas e atividade anticancerígena (câncer de mama e próstata) [5, 7, 20]. Produtos de soja tradicionalmente consumidos no Japão, tais como *miso*, *natto* e *tempeh* são ativos contra a peroxidação lipídica, pois apresentam atividade antioxidante, além de atividade contra tumores pediátricos [22], câncer de próstata [1, 20], câncer de cólon [25] e inibição de neovascularização, ou angiogênese [13]. Japão entre outros países orien-

tais, já utilizam há muitos anos a soja fermentada na alimentação e, atualmente, tem-se percebido um crescente consumo desta leguminosa e de seus derivados em países europeus e nos Estados Unidos, como alimento funcional. Nos Estados Unidos, para este ano, a produção de alimentos funcionais, como a soja, será de 20 bilhões de dólares, contudo estima-se que haverá um crescimento exponencial e, no ano 2010, atingirá a cifra de quase 60 bilhões de dólares [16]. Atualmente existem muitos produtos comerciais à base de soja, como bolos, chocolates, biscoitos, cápsulas enriquecidas com farinha de soja, que possuem na sua composição isoflavonas glicosiladas [5, 26] ou na forma de acetila e malonil- β -glicosil isoflavonas. Isoflavonas são os maiores componentes fenólicos em soja, sendo encontradas em concentrações que vão de 0,1 a 5mg/g [5], e esta variação está ligada à fatores genéticos, locais de plantio e condições climáticas [2, 4]. O grão de soja contém basicamente três tipos de isoflavonas que se apresentam normalmente em quatro diferentes formas, ou seja, glicosiladas (daidzina, genistina e glicitina); formas acetilglicosiladas (acetildaidzina, acetilgenistina e acetilglicitina); formas malonilglicosiladas (malonildaidzina, malonilgenistina e malonilglicitina) [17] e na forma estrutural não conjugada, aglicona (daidzeína, genisteína e gliciteína). Soja e farinha desengordurada de soja contém principalmente malonil-glicosil isoflavonas, com menores quantidades das formas β -glicosiladas e somente traços de acetil-glicosil conjugados [2]. Dentre estas as glicosil isoflavonas como, genistina e daidzina, mostram menor atividade biológica que suas

¹ Recebido para publicação em 25/01/00. Aceito para publicação em 03/01/02.

² Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Laboratório de Bioquímica, Caixa Postal, 6177, CEP. 13083-970, Campinas/SP, Brasil. E-mail: ykpark@fea.unicamp.br

³ Instituto Agromômico de Campinas, Centro de Plantas Graníferas, Caixa Postal, 28, CEP. 13001-970, Campinas/SP, Brasil.

* A quem a correspondência deve ser enviada.

formas agliconas, genisteína e daidzeína, e são as principais formas encontradas no grão de soja, constituindo de 50 a 90% dos flavonóides em farinha de soja [8, 15]. As malonil- β -glicosil isoflavonas podem ser transformadas a glicosil isoflavonas e acetil isoflavonas durante a extração industrial do óleo de soja. KUDO *et al.*

[17] relatam que extração alcoólica à quente promove a transformação de malonil isoflavonas, induzida pela desesterificação para as formas β -glicosiladas (Figura 1). Acetil isoflavonas também podem ser da mesma forma, convertidas em glicosil isoflavonas, sendo estas convertidas por via fermentativa às formas agliconas.

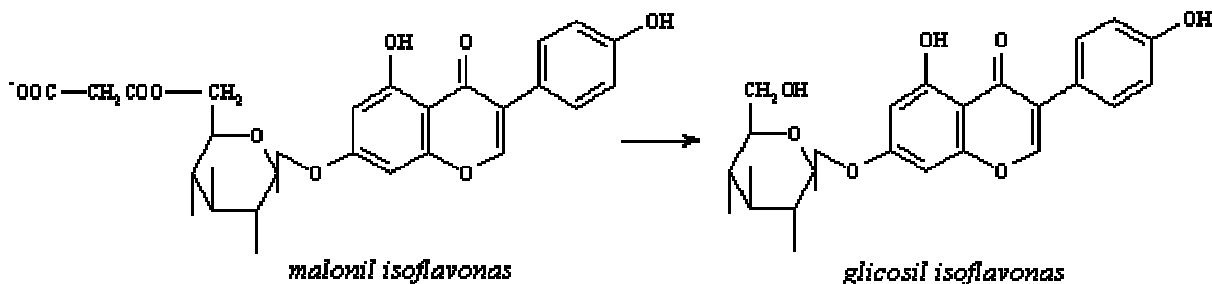


FIGURA 1. Desesterificação de malonil- β -glicosil isoflavona à β -glicosil isoflavona.

Este trabalho foi elaborado com o intuito de analisar o conteúdo de isoflavonas em um grupo de cultivares de soja do Instituto Agronômico de Campinas por cromatografia líquida de alta eficiência após extração com solução de metanol a 80% a 25°C e, avaliar a conversão térmica de malonil isoflavonas em isoflavonas glicosiladas em duas condições de temperatura (25 e 121°C).

2 – MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Materiais

Para a produção dos extratos metanólicos de soja foram utilizados os cultivares, IAC 15-1, IAC 15-2, IAC-20, IAC-22 e IAC-Foscarin 31-1, concedidos pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Padrões de isoflavonas foram usados para identificar através do espectro de absorção de cada composto e para quantificar estes compostos em soja, sendo os resultados expressos em micrograma de isoflavona por grama de soja. Daidzeína e genisteína foram obtidas da Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo., USA). Daidzina e genistina foram obtidas da Funakoshi Chemical Co. (Tóquio, Japão). Glicitina, gliciteína, acetil genistina, malonil daidzina e malonil genistina foram avaliadas através dos coeficientes de extinção molecular, de acordo com KUDO *et al.* [17] e COWARD *et al.* [5].

2.2 – Métodos analíticos

2.2.1 – Extração das isoflavonas

As isoflavonas de soja foram extraídas de acordo com método descrito por FUKUTAKE *et al.* [15].

- Temperatura ambiente

Cerca de 5g de grãos de soja, foram triturados e peneirados. Em seguida foram desengordurados com 50mL de n-hexano por 30 minutos a 25°C. Feito isto, a sus-

penção foi centrifugada e o resíduo seco à temperatura ambiente. Amostras de 1g de farinha desengordurada de soja, foram submetidas à extração com 10mL de solução 80% de metanol durante 2 horas a 25°C. Em seguida, foram centrifugadas a 5000 x g e o sobrenadante utilizado para análise de isoflavonas por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR).

- Tratamento térmico

Amostras de 1g de farinha de soja desengordurada, foram tratadas a 121°C por 40 minutos, em solução aquosa (1:5, p/v). O resíduo obtido foi liofilizado e as isoflavonas foram extraídas com solução 80% de metanol (proporção 1:10) durante 2 horas a 25°C. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 5000 x g e o sobrenadante utilizado para as análises por CLAE-FR.

2.2.2 – Determinação das isoflavonas

As análises dos extratos metanólicos de soja por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR), foram feitas de acordo com procedimento descrito por ESAKI *et al.* [11]. Vinte microlitros foram injetados em cromatógrafo líquido LC-10 (Shimadzu Co., Japão), equipado com detector de arranjo de fotodiodos (SPD-M10A) e coluna YMC PACK ODS-A. Usou-se um fluxo de 0,5mL/min e eluição com gradiente consistindo de aumento linear de 20 a 80% de metanol em água e ácido acético (19:1). As isoflavonas eluídas foram detectadas por absorbância a 254nm.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Extração

Diferentes solventes orgânicos e misturas destes em diferentes proporções têm sido utilizados para promover um máximo de extração das isoflavonas presentes em soja, no entanto, estudos realizados por COWARD *et al.* [5] e BARNES, KIRK & COWARD [3] mostraram

que solução 80% de metanol foi um solvente eficiente na extração de isoflavonas conjugadas e não-conjugadas de farinha desengordurada de soja. BARNES [2] reportou que a extração de isoflavonas de produtos de soja com solução 80% de metanol à temperatura ambiente foi eficiente tanto quanto à 60-80°C; no entanto, o autor relatou que o aumento da temperatura provocou alteração na composição de malonil isoflavonas, que teve seu conteúdo diminuído com aumento do teor de isoflavonas glicosiladas. Neste trabalho, o solvente utilizado na extração dos isoflavonóides, foi uma solução 80% de metanol e à temperatura ambiente. COWARD *et al.* [6], mencionam que a temperatura de extração de 4°C proporcionou eficiente extração de isoflavonas tanto quanto a temperaturas mais elevadas, contudo sem transformação do conteúdo de malonil isoflavonas original. No entanto, para os cultivares analisados neste trabalho, pode-se notar que não houve transformação das formas malonil a glicosiladas a temperatura de 25°C e que somente a temperaturas em torno ou acima de 100°C, foi observado a esta transformação térmica (*Figuras 3 e 4*). Os perfis cromatográficos das isoflavonas,

extraídas à temperatura ambiente, dos cinco cultivares de soja analisados são apresentados na *Figura 2* e o conteúdo destas isoflavonas foram listados na *Tabela 1*. Nesta tabela foi apresentado o teor de isoflavonas extraídas a 25°C, considerado para o estudo de transformação térmica como o conteúdo de isoflavonas inicial de cada cultivar de soja. Foram observados diferentes teores de isoflavonas para cada cultivar analisado, como foi observado anteriormente por CARRÃO-PANIZZI *et al.* [4]. A extração metanólica das isoflavonas da farinha desengordurada de soja proporcionou uma extração livre de compostos residuais excessivos que dificultam a análise e identificação através dos espectros de absorvância obtidos pelo detector de arranjo de fotodiodos, principalmente devido à co-eluição de picos adjacentes. A extração com solução de metanol a 80%, tem sido utilizada por diferentes autores, tendo-se observado, na maioria dos casos, que a extração foi eficiente quando comparada a outros sistemas de solventes como, acetonitrila, acetonitrila-água, acetonitrila-água-ácido clorídrico, ou mesmo metanol em outras condições.

TABELA 1. Teores de isoflavonas dos extratos metanólicos de farinha desengordurada de soja extraídas à temperatura ambiente e após tratamento térmico

Cultivar de soja IAC	Concentrações de isoflavonas extraídas, µg de isoflavona/g de farinha desengordurada de soja												Total
	Glicosil Isoflavonas			Malonil Isoflavonas					Isoflavonas Agliconas				
	Daidzina	Glicitina	Genistina	Sub-total	Malonil daidzina	Malonil glicitina	Malonil genistina	Sub-total	Daidzeina	Gliciteina	Genisteína	Sub-total	
Foscarin 31-1 Não-tratado	118,4	16,1	245,0	379,5	355,4	43,4	607,7	1006,5	5,1	ND	13,9	19,0	1405,0
Foscarin 31-1 Tratado	290,7	32,4	652,3	975,4	25,4	ND	61,4	86,8	27,9	ND	52,4	80,3	1142,3
15-1 Não-Tratado	265,8	76,9	448,5	791,2	812,1	153,5	1235,8	2201,4	5,4	ND	9,7	15,1	3007,7
15-1 Tratado	620,0	130,4	1286,2	2036,6	69,9	2,0	110,4	182,3	35,7	ND	60,4	96,1	2315,0
15-2 Não-Tratado	201,9	42,2	334,9	579,0	731,0	105,7	1074,5	1911,2	8,0	ND	12,0	20,0	2510,2
15-2 Tratado	504,1	79,6	977,5	1561,2	58,3	ND	50,5	108,8	34,8	ND	54,5	89,3	1759,3
20 Não-Tratado	307,9	44,6	270,3	622,8	789,0	76,8	715,2	1581,0	18,3	ND	22,2	40,5	2244,3
20 Tratado	749,4	81,8	756,3	1587,5	63,0	ND	56,6	119,6	57,1	ND	50,6	107,7	1814,8
22 Não-Tratado	322,7	17,9	321,0	661,6	451,5	46,2	786,6	1284,3	7,6	ND	11,0	18,6	1964,5
22 Tratado	700,8	35,1	826,0	1561,9	57,6	ND	69,1	126,7	59,3	ND	54,8	114,1	1802,7

ND = Não detectada

O cultivar IAC-Foscarin 31-1 foi o que apresentou menor teor de isoflavonas totais (1405µg/g), enquanto que os cultivares IAC 15-1 e IAC 15-2 apresentaram os maiores teores de isoflavonas totais (3007,7 e 2510,2µg/g).

3.2 – Transformação térmica de isoflavonas

Em todos os cultivares, a extração após tratamento térmico promoveu um aumento nos teores de glicosil iso-

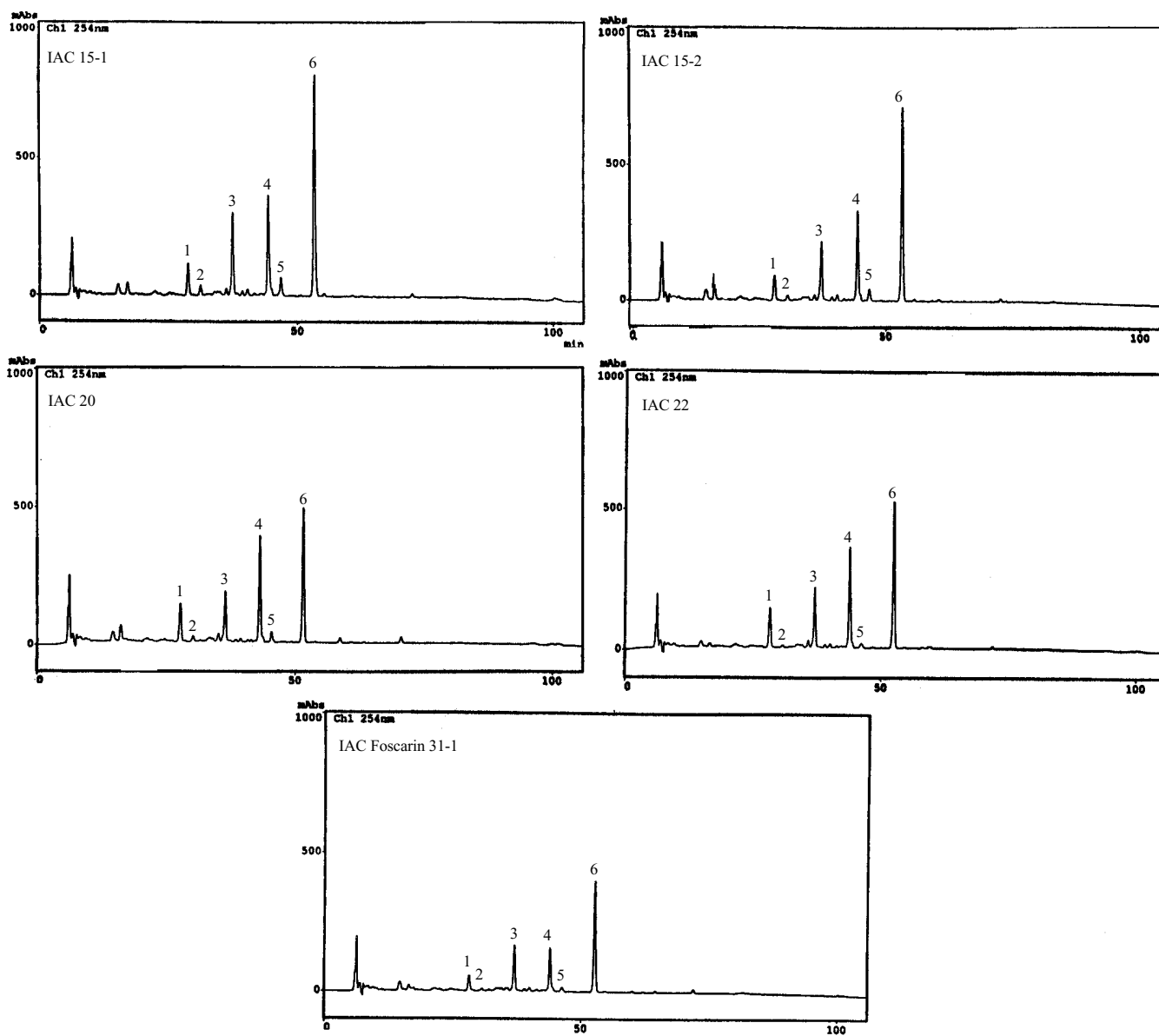


FIGURA 2. Cromatogramas obtidos por CLAE-FR de isoflavonas dos extratos metanólicos de farinha desengordurada de soja dos diferentes cultivares de soja IAC, sem tratamento térmico. [1] daidzina; [2] glicitina; [3] genistina; [4] malonil daidzina; [5] malonil glicitina; [6] malonil genistina.

flavonas quando comparadas àquelas obtidas de extrações à temperatura ambiente. Em resultados obtidos por nossa equipe, foi observado que há mudança na composição de isoflavonas extraídas em temperaturas ao redor ou acima de 100°C, principalmente nos teores de malonil em relação aos isoflavonóides glicosilados, visto que as formas malonil são descritas por diversos autores como sendo termolábeis. Pesquisadores como COWARD *et al.* [6], observaram que o conteúdo de malonil isoflavonas se manteve quando efetuada a extração de isoflavonas a 4°C. COWARD *et al.* [7] e KUDOU *et al.* [17] reportaram que malonil- β -glicosil isoflavonas são as formas em maior quantidade em grãos de soja e que estes são termolábeis, sendo convertidos a suas isoflavonas glico-

siladas sob aquecimento. Nas amostras analisadas, foi observado que os teores de glicosil isoflavonas aumentaram cerca de 2,6 vezes, em média, após o tratamento térmico da farinha desengordurada de soja. As Figuras 3 e 4, representam os cromatogramas dos extratos metanólicos das farinhas desengorduradas dos cultivares de soja IAC Foscarin 31-1 e IAC 15-1, em duas condições de temperatura, ou seja, 25°C e 121°C, respectivamente. Observe que a extração foi feita a 25°C por 2 horas em ambos os casos. A conversão das formas malonil- β -glicosil isoflavonas em glicosil isoflavonas após o tratamento a 121°C durante 40 minutos, foi percebida em todos os cultivares analisados e, de maneira ilustrativa foi apresentado na figura a seguir.

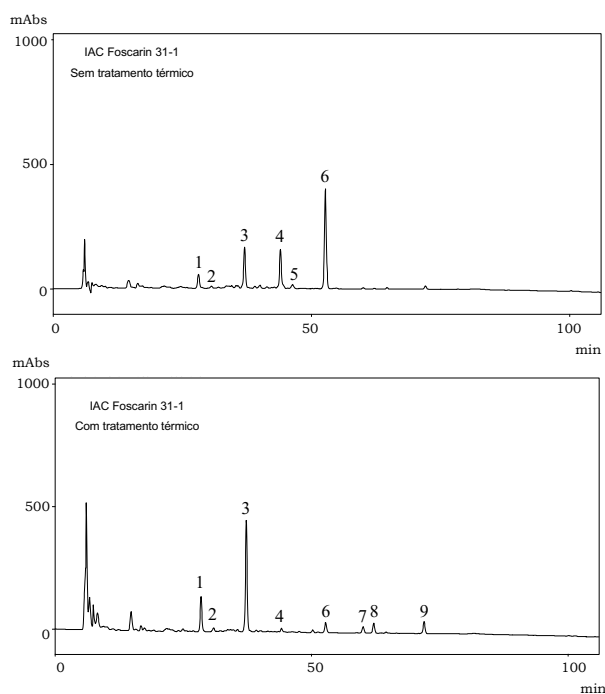


FIGURA 3. Cromatogramas obtidos por CLAE-FR de isoflavonas dos extratos metanólicos de farinha desengordurada de soja IAC Foscarin 31-1 extraídas à temperatura ambiente e após tratamento térmico. [1] daidzina; [2] glicitina; [3] genistina; [4] malonil daidzina; [5] malonil glicitina; [6] malonil genistina; [7] daidzeína; [8] acetil genistina; [9] genisteína.

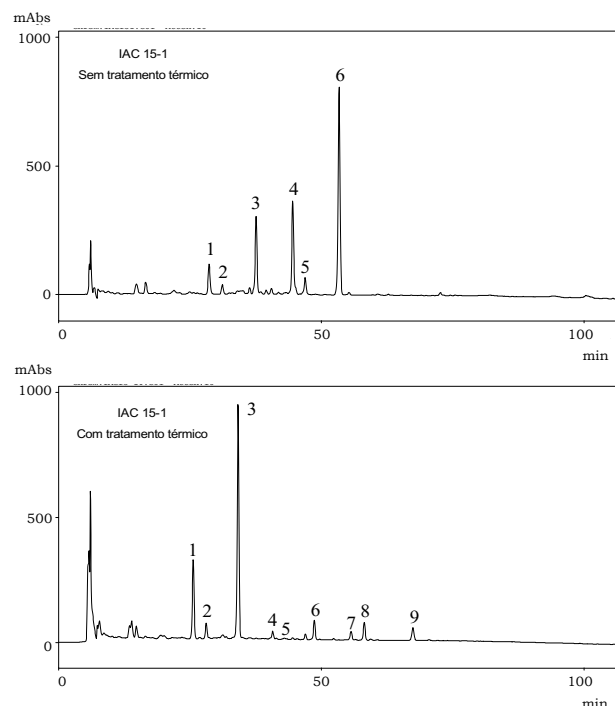


FIGURA 4. Cromatogramas obtidos por CLAE-FR de isoflavonas dos extratos metanólicos de farinha desengordurada de soja IAC 15-1 extraídas à temperatura ambiente e após tratamento térmico. [1] daidzina; [2] glicitina; [3] genistina; [4] malonil daidzina; [5] malonil glicitina; [6] malonil genistina; [7] daidzeína; [8] acetil genistina; [9] genisteína.

O cultivar IAC Foscarin 31-1 apresentou menor teor de isoflavonas totais (1405 μ g/g), com leve perda deste teor (1,2%) após a conversão térmica das formas malonil- β -glicosil isoflavonas em isoflavonas glicosiladas. A redução nos teores de isoflavonas totais foi também observada em outros cultivares tratados. Muitas formas de isoflavonas são termolábeis e instáveis [17] e sob tratamento térmico ocorre conversão de algumas malonil isoflavonas em conjugados de acetila [12], bem como pode ocorrer transformação que levam à perda destas isoflavonas.

4 – CONCLUSÕES

- O cultivar IAC 15-1 apresentou maior conteúdo de isoflavonas totais dentre os cultivares analisados, após extração com solução 80% de metanol a 25°C por 2 horas.
- A extração após tratamento térmico a 121°C por 40 minutos, promoveu redução média de até 17,6 vezes no teor de malonil isoflavonas (para IAC 15-2) e aumento nas concentrações de glicosil isoflavonas (aumento médio de 2,6 vezes).

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADLERCREUTZ, H.; MAZUR, W.; BARTELS, P.; ELOMAA, V.; WATANABE, S.; WAHALA, K.; LANDSTROM, M.; LUNDIN, E.; BERGH, A.; DAMBER, J. E.; AMAN, P.; WIDMARK, A.; JOHANSSON, A.; ZHANG, J. X.; HALLMANS, G. Phytoestrogens and prostate disease. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 3, p. 658-659, 2000.
- [2] BARNES, S. Evolution of the health benefits of soy isoflavones. **Proceedings Society Experimental Biological Medicine**, v. 217, n. 3, p. 386-392, 1998.
- [3] BARNES, S.; KIRK, M.; COWARD, L. Isoflavones and their conjugates in soy foods: extraction conditions and analysis by HPLC-Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 2466-2474, 1994.
- [4] CARRÃO-PANIZZI, M.C.; BELÉIA, A.P.; KITAMURA, K.; OLIVEIRA, M.C.N. Effects of genetics and environment on isoflavone content of soybean from different regions of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 10, p. 1787-1795, 1999.
- [5] COWARD L.; BARNES, N. C.; SETCHELL, K. D. R.; BARNES, S. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 41, p. 1961-1967, 1993.
- [6] COWARD, L.; SMITH, M.; KIRK, M.; BARNES, S. Chemical modification of isoflavones in soyfoods during cooking and processing. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 1486-1491, 1998.
- [7] DENIS, L.; MORTON, M. S.; GRIFFITHS, K. Diet and its preventive role in prostatic disease. **European Urology**, v. 35, n. 5-6, p. 377-387, 1999.
- [8] ELDRIDGE, A. C. Determination of isoflavones in soybean flours, protein-concentrates, and isolates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 183, p. 90, 1982.
- [9] ESAKI, H.; KAWAKISHI, S.; MORIMITSU, Y.; OSAWA, T. New potent antioxidative O-dihydroxyisoflavones in fermented japanese soybean products. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, v. 63 n. 9, p. 1637-1639, 1999a.

- [10] ESAKI, H.; ONOZAKI, H.; MORIMITSU, Y. Potent antioxidative isoflavones isolate from soybeans fermented with *Aspergillus saitoi*. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, v. 62, n. 4, p. 740-746, 1998.
- [11] ESAKI, H.; WATANABE, R.; ONOZAKI, H.; KAWAKISHI, S.; OSAWA, T. Formation mechanism for potent antioxidative O-dihydroxyisoflavones in soybean fermented with *Aspergillus saitoi*. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, v. 63, n. 5, p. 851-858, 1999b.
- [12] FARMAKALIDIS, E.; MURPHY, P. A. Isolation of 6^o-O-acetylgenistin and 6^o-O-acetylaidzin from toasted defatted soyflakes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 33, p. 385-389, 1985.
- [13] FOTSIS, T.; PEPPER, M.; ADLERCREUTZ, H.; FLEISCHMANN, G.; HASE, T.; MONTESANO, R.; SCWEIGERER, L. Genistein, a dietary-derived inhibitor of *in vitro* angiogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, p. 2690-2694, 1993.
- [14] FRANCO, G. **Tabela de composição química de alimentos**. Rio de Janeiro, Atheneu, 1986.
- [15] FUKUTAKE, M.; TAKAHASHI, M.; ISHIDA, K.; KAWAMURA, H.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. **Food and Chemical Toxicology**, v. 34, n. 5, p. 457-461, 1996.
- [16] HENRY, C. M. Nutraceuticals: Food or trend? **Chemical Engineering News**, v. 21, p. 42-47, 1999.
- [17] KUDOU, S.; SHIMOYAMADA, M.; IMURA, T.; UCHIDA, T.; OKUBO, K. A new isoflavone glycoside in soybean seeds (*Glycine max* Merrill), glycitein 7-O-beta-D-(6^o-O-acetyl)-glucopyranoside. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 859-860, 1991.
- [18] NAIM, M.; GESTETNER, B.; ZILKAH, S.; BIRK, Y.; BONDI, A. Soybean isoflavones. Characterization, determination, and antifungal activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 806-810, 1974.
- [19] NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, C. R. (Ed.) **Food Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1985. p. 139-244.
- [20] PETERSON, G.; BARNES, S. Genistein and Biochanin A inhibit the growth of human prostate cancer cells but not epidermal growth factor receptor tyrosine autophosphorylation. **Prostate**, v. 22, p. 335-345, 1993.
- [21] ROESSING, A. C. Situação mundial de oleaginosas. **Informe econômico CNPSo**, v. 2, p. 9-10, 1995.
- [22] SCWEIGERER, L.; CHRISLEIT, K.; FLEISCHMANN, G.; ADLERCREUTZ, H.; WAHALA, K.; HASE, T.; SCHWAB, M.; LUDWIG, R.; FOTSIS, T. Identification in human urine of a natural growth inhibitor for cells derived from solid pediatric tumours. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 22, p. 260-264, 1992.
- [23] SGARBIERI, V. C.; GARRUTI, E. C.; GUZMÁN, E. C. Soybeans as an extender of common beans. **JAOCs**, v. 58, n. 3, p. 522-526, 1981.
- [24] SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. J. P. D. Pnenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.
- [25] STEELLE, V. E.; PEREIRA, M. A.; SIGMAN, C. C.; KELLOFF, G. F. Cancer chemoprevention agent development strategies for genistein. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 713-716, 1995.
- [26] WANG, H.; MURPHY, P. Isoflavone content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1666-1673, 1994.
- [27] WOLF, W. D.; COWAN, J. C. **Soybean as a protein source**. London, Butterworth, 1971.

6 - AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio a este projeto (Projeto FAPESP nº 00/10611-7).