

Área: Tecnologia de Alimentos

EFEITO DA FERMENTAÇÃO COM *Aspergillus oryzae* NO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE ISOFLAVONAS AGLICONAS NA FARINHA SOJA INTEGRAL

Leomar Hackbart da Silva^{1*}, Paula Fernanda Pinto da Costa², Yoon Kil Chang^{2*}

1,2- Laboratório de Cereais, raízes e tubérculos, Faculdade de Engenharia de Alimentos,
Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas

1- Curso de Ciência e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui

*E-mail: leomarsilva@unipampa.edu.br; yokic@fea.unicamp.br

RESUMO

O consumo de soja e seus derivados têm aumentado consideravelmente nos últimos anos, devido a suas propriedades benéficas à saúde. As isoflavonas agliconas, daidzeína e genisteína, da soja possuem maiores benefícios à saúde, pois são facilmente absorvidas e em maior quantidade que as glicosiladas. Este trabalho avaliou o efeito da fermentação da farinha de soja integral (FSI), utilizando o *Aspergillus oryzae*, sob a conversão de isoflavonas glicosiladas em agliconas. A farinha de soja integral autoclavada fermentada (FSIAF) foi obtida pela fermentação de 200g de FSI, esterilizada a 121°C, por 20 min, resfriada, condicionada a 35% de umidade, inoculada com 2 mL de suspensão (10^6 esporos/mL) do fungo *Aspergillus oryzae*, incubada a 35°C por 36 h, seca a vácuo, a 60°C, até 10% de umidade. Análise quantitativa das isoflavonas foi realizada através do método do padrão externo, utilizando CLAE-DAD. Os resultados demonstraram que a fermentação promoveu a transformação dos isômeros de isoflavonas glicosiladas em agliconas. A FSIAF contém predominantemente isoflavonas agliconas (56,09%), quando comparada à FSIA (4,66%) e com a FSI (1,79%), o que corresponde a um aumento entre 12,7 e 38 vezes na concentração de isoflavonas agliconas na FSIAF. A proporção de daidzeína e genisteína na FSIA e na FSIAF passou de 0,0 para 148,07µg.g-1 e de 18,97 para 297,63µg.g-1, respectivamente, obtendo-se farinha de soja fermentada com propriedades potencialmente funcionais.

Palavras-chave: *Aspergillus oryzae*, farinha de soja e fermentação.

1 INTRODUÇÃO

É crescente o interesse dos consumidores por produtos contendo soja e/ou seus derivados na formulação, devido não apenas à presença das proteínas da soja, mas também pela concentração de compostos bioativos, como as isoflavonas, que em determinadas concentrações podem reduzir o risco de doenças cardiovasculares, osteoporose, alguns tipos de câncer e amenizar os sintomas da menopausa (NIELSEN e WILLIAMSON, 2007).

Em geral, as isoflavonas presentes na soja estão principalmente na forma glicosilada e em pequena quantidade na forma aglicona. A concentração de isoflavonas em alimentos contendo soja depende da variedade de soja e das técnicas de processamento, como a aplicação de tratamento térmico e a fermentação (BARBOSA, LAJOLO, e GENOVESE, 2006; CHUN, KIM, e KIM, 2008).

A biodisponibilidade das isoflavonas de soja apresenta diferenças entre as formas glicosiladas e agliconas. Embora ainda não esteja totalmente esclarecido o mecanismo de absorção e de biodisponibilidade das isoflavonas. Estudos demonstraram que as isoflavonas agliconas são absorvidas rapidamente e em maior quantidade que as formas glicosiladas (IZUMI et al., 2000; NIELSEN e WILLIAMSON, 2007; WALSH et al., 2007).

Estudos demonstraram que as isoflavonas glicosiladas são hidrolisadas às suas formas agliconas correspondentes durante o processo de fermentação da soja, como no tempeh, extrato de soja, miso e natto (CHUN et al., 2008). Além disso, a fermentação pode promover a hidrólise de proteínas formando peptídeos e reduzindo os fatores antinutricionais, o que aumenta os seus efeitos benéficos à saúde (HONG et al., 2004). Isto despertou o interesse em aumentar a quantidade de isoflavonas agliconas em produtos contendo soja e seus derivados.

Este trabalho avaliou o efeito da fermentação da farinha de soja integral (FSI), utilizando o *Aspergillus oryzae*, sob a conversão de isoflavonas glicosiladas em agliconas.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

A farinha de soja integral (FSI) foi obtida da moagem, em moinho de facas, dos grãos de soja, cultivar BRS 232. As cepas do fungo filamentosos, *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn, anamorph CCT 4359 adquirido da Coleção de Culturas Tropicais – Fundação André Tosello (São Paulo, Brasil), sendo o inóculo preparado a partir de uma suspensão de esporos, cuja concentração foi de 10^6 esporos.mL⁻¹. Esta suspensão de esporos foi feita através de um repique do microrganismo conservado em tubos de ensaios contendo meio PDA (potato-dextrose-ágar), cultura estoque, para outros tubos de ensaios, com auxílio de uma alça metálica (PAMBOUKIAN, 1997).

A FSI foi submetida à fermentação semi-sólida, utilizando-se frascos de Erlenmeyer de 500mL, contendo 200g de FSI, com o ajuste de umidade para 35%, esterilizada a 121°C, por 20 minutos, resfriada, e em cada frasco foi inoculado 2mL de suspensão de esporos (10^6 esporos/mL) do fungo *Aspergillus oryzae* (Aguiar & Park, 2004).

Os frascos foram incubados em estufa a 35°C por 36 horas e a farinha de soja integral fermentada (FSIF) seca em estufa a vácuo, a 60°C, até atingir a umidade de 10%. A quantificação das isoflavonas foi realizada através das análises dos extratos metanólicos de soja por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) seguindo o procedimento descrito por Aguiar & Park (2004). As análises quantitativas das isoflavonas (daidzin, daidzein, genistin, genistein, glycitin, glycitein) foram realizadas através do método do padrão externo.

Os resultados obtidos foram analisados através da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o programa STATISTICA 5.0 (Statsoft, USA).

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O total de isoflavonas presentes nas amostras de FSI, FSIA e FSIAF foi obtido pela soma dos isômeros glicosilados (daidzina + glycitina + genistina), malonil (daidzina + glycitina + genistina) e agliconas (daidzeina + glyciteina + genisteina) as concentrações

variaram entre 683,74 $\mu\text{g.g}^{-1}$ na FSI, 753,59 $\mu\text{g.g}^{-1}$ na FSIA e 753,59 $\mu\text{g.g}^{-1}$ na FSIAF (Tabela 1). Observa-se que houve redução significativa na concentração das isoflavonas glicosiladas de 65,36% para 62,54% e um incremento das isoflavonas agliconas que passaram de 1,79% para 4,66% do total de isoflavonas na FSI e na FSIA respectivamente.

Verifica-se que após o tratamento térmico houve aumento nos teores de isoflavonas agliconas de aproximadamente 1,6 vezes, quando comparado a FSI. Este tipo de comportamento também foi observado por Park et al. (2001). A genistina foi o isômero de isoflavona encontrado em maior quantidade na FSI (279,32 $\mu\text{g.g}^{-1}$) havendo incremento significativo na FSIA (318,07 $\mu\text{g.g}^{-1}$).

Tabela 1 - Concentrações ($\mu\text{g.g}^{-1}$) dos isômeros de isoflavonas em farinha de soja integral (FSI), farinha de soja integral autoclavada (FSIA) e na farinha de soja integral Autoclavada fermentada (FSIAF) com *Aspergillus oryzae**

| Isoflavonas | FSI | | FSIA | | FSIAF | |
|--------------------|--------------------------------|-------|--------------------------------|-------|--------------------------------|-------|
| | ($\mu\text{g.g}^{-1}$) | (%) | ($\mu\text{g.g}^{-1}$) | (%) | ($\mu\text{g.g}^{-1}$) | (%) |
| Daidzina | 143,65 \pm 2,39 ^b | 21,09 | 153,21 \pm 3,10 ^a | 20,33 | 49,00 \pm 1,89 ^c | 5,72 |
| Glicitina | 23,95 \pm 0,71 ^b | 3,50 | nd | - | nd | - |
| Genistina | 279,32 \pm 3,76 ^b | 40,85 | 318,07 \pm 3,12 ^a | 42,21 | 92,13 \pm 1,57 ^c | 10,76 |
| Total glicosiladas | 446,91 \pm 2,28 ^b | 65,36 | 471,28 \pm 3,11 ^a | 62,54 | 141,13 \pm 1,07 ^c | 16,49 |
| Malonil daidzina | 74,75 \pm 1,21 ^c | 10,93 | 87,06 \pm 1,81 ^a | 11,55 | 81,61 \pm 2,11 ^b | 9,53 |
| Malonil glicitina | nd | - | nd | - | nd | - |
| Malonil genisteina | 149,81 \pm 1,61 ^c | 21,91 | 170,11 \pm 2,68 ^a | 22,57 | 157,14 \pm 1,15 ^b | 18,36 |
| Total malonil | 224,56 \pm 1,41 ^c | 32,84 | 247,18 \pm 3,11 ^a | 32,80 | 234,75 \pm 3,11 ^b | 27,42 |
| Daidzeina | nd | - | nd | - | 148,07 \pm 1,56 ^a | 17,30 |
| Gliciteina | nd | - | 16,16 \pm 0,39 ^b | 2,14 | 34,41 \pm 0,18 ^a | 4,02 |
| Genisteina | 12,27 \pm 0,35 ^c | 1,79 | 18,97 \pm 0,40 ^b | 2,52 | 297,63 \pm 2,60 ^a | 34,77 |
| Total agliconas | 12,27 \pm 0,35 ^c | 1,79 | 35,13 \pm 0,40 ^b | 4,66 | 480,11 \pm 0,49 ^a | 56,09 |
| Total isoflavonas | 683,74 \pm 1,35 ^c | 100 | 753,59 \pm 2,20 ^b | 100 | 855,99 \pm 0,78 ^a | 100 |

*Média aritmética de três repetições \pm desvio padrão seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), nd – não detectada.

A concentração dos isômeros de isoflavonas na FSIAF com fungo filamentoso *Aspergillus oryzae*, incubada a 35°C por 36 horas (Tabela 2). Após a fermentação a FSIAF apresentou aumento no conteúdo total de isoflavona, passando de 753,59µg.g⁻¹ na FSIA para 855,99µg.g⁻¹ na FSIAF. O fungo *Aspergillus oryzae* através da produção da enzima β-glicosidase promoveu a transformação dos isômeros de isoflavonas glicosiladas em seus correspondentes agliconas (daidzeína, gliciteína e genisteína), resultando em quantidades maiores de compostos benéficos a saúde, pois são isômeros de flavonóides facilmente absorvidos pelo organismo humano (IZUMI et al., 2000). Observa-se na Tabela 2 que os isômeros glicosilados representam maior proporção (62,54%) do total das isoflavonas na FSIA, no entanto, houve redução na proporção de glicosilados para 16,49% na FSIAF, indicando que a fermentação utilizando o fungo *Aspergillus oryzae* promoveu a conversão dos isômeros de isoflavonas.

Aguiar & Park (2004) evidenciaram que houve aumento da atividade enzimática da β-glicosidase após 24 horas de fermentação da farinha de soja, com *Aspergillus oryza* ATCC 22786 promovendo incremento na conversão das isoflavonas agliconas, principalmente na formação de daidzeína e genisteína.

As concentrações das isoflavonas agliconas daidzeína e genisteína são significativamente maiores na FSIAF quando comparadas com a FSI e FSIA (Tabela 2). Além disso, a fermentação por 36 horas da FSIA aumentou a quantidade total de isoflavonas agliconas entre 12,7 e 38,0 vezes, quando comparada com os valores observados na FSAI e na FSI, respectivamente (Tabela 2). Alguns autores demonstraram que as isoflavonas agliconas são absorvidas rapidamente e em maior quantidade do que os isômeros glicosilados, em estudos com humanos (IZUMI, et al. 2000; WALSH, et al. 2007). Produtos ricos em agliconas podem ser mais eficientes, que os ricos em glicosilados na prevenção de doenças crônicas e cardiovasculares (ZUBIK e MEYDANI, 2003).

3 CONCLUSÃO

A fermentação promoveu a transformação dos isômeros de isoflavonas glicosiladas em agliconas. A FSIAF incubada a 35°C por 36 horas contém predominantemente isoflavonas agliconas (56,09%), quando comparada à FSI (1,79%) e com a FSIA (4,66%), o que

corresponde a um aumento entre 12,7 e 38 vezes na concentração de isoflavonas agliconas na FSIAF. A proporção de daidzeína e genisteína na FSIA e na FSIAF passou de 0,0 para 148,07 μ g.g⁻¹ e de 18,97 para 297,63 μ g.g⁻¹, respectivamente, obtendo-se farinha de soja fermentada com propriedades potencialmente funcionais.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C.L.; PARK, Y.K. Conversão de daidzina e genistina de soja por β -glucosidase de *Aspergillus oryzae*. Curitiba, *Boletim do CEPPA*, v.22, n.1, p.185-195, 2004.
- BARBOSA, A. C. L.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Influence of temperature, pH and ionic strength on the production of isoflavone-rich soy protein isolates. *Food Chemistry*, v. 98, n. 4, p.757–766, 2006.
- CHUN, J.; KIM, J. S.; KIM, J. H. Enrichment of isoflavone aglycones in soymilk by fermentation with single and mixed cultures of *Streptococcus infantarius* 12 and *Weissella* sp. 4. *Food Chemistry*, v.109, n.2, p. 278–284, 2008.
- HONG, K.J.; LEE, C.H.; KIM, S.K. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. *Journal of Medicinal Food*. v 7, n. 4, p. 430-436, 2004.
- IZUMI, T., OSAWA, S., OBATA, A., TOBE, K., e SAITO, M. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in high amounts than their glucosides in humans. *Journal of Nutrition*, 130, n. 6, 1695–1699, 2000.
- NIELSEN, I. L. e WILLIAMSON, G. Review of the factors affecting bioavailability of soy isoflavones in humans. *Nutrition and Cancer-An International Journal*, v. 57, n 1, p. 1–10, 2007.
- PAMBOUKIAN, C. R. D. *Influência das condições de preparo de inóculo na morfologia e na síntese de glicoamilase por Aspergillus awamori*. - Universidade de São Paulo. 1997 (Dissertação de Mestrado em Engenharia Química).
- WALSH, K. R.; HAAK, S. J.; BOHN, T.; TIAN, Q.; SCHWARTZ, S. J.; FAILLA, M. L. Isoflavonoid glucosides are deconjugated and absorbed in the small intestine of human subjects with ileostomies. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 85, n.4, p.1050–1056, 2007.
- ZUBIK, L., MEYDANI, M. Bioavailability of soybean isoflavones from aglycone and glucoside forms in American women. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 77, n. 6, p. 1459–1465, 2003.