

## Obtenção de isoflavonas de soja (*Glycine max*), através de HSCCC, para aplicação na agricultura e na aquicultura.

Nelson Frighetto<sup>1</sup>(PQ), Rosa T.S. Frighetto<sup>2</sup>(PQ), Clara Beatriz Hoffmann Campo<sup>3</sup>(PQ), Giselle de Lima Portugal<sup>1</sup>(IC), César H. de Godoy José<sup>1</sup>(IC).

<sup>1</sup>CPQBA/Unicamp - Estrada de Paulínia 393, Nº 999 (Vila Bettel), 13140-000 Paulínia-SP, <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente - Rodovia SP-340 Km 127,5, 13820-000 Jaguariúna-SP, <sup>3</sup>Embrapa Soja - Rodovia Carlos João Strass (Londrina-Warta) - Caixa Postal 231, 86001-970 Londrina-PR.

Palavras Chave: isoflavonas, Genisteína, daidzeína, CCC, HSCCC.

### Introdução

Dentre as 9 isoflavonas (glicosiladas e agliconas) encontradas na soja, o isolamento de duas agliconas - daidzeína e genisteína - moléculas diferenciadas entre si pela presença do grupo hidroxila na posição-5, na estrutura molecular da genisteína, foram alvo do presente estudo. A genisteína tem presença destacada em moléculas nutraceuticas e funcionais. É considerada como precursora central na biossíntese de isoflavonoides mais complexos envolvidos, por exemplo, na interação planta-microorganismos<sup>1</sup>. Atua também como molécula sinergista junto a outros compostos fenólicos, na interação inseto-planta<sup>2</sup>. Neste trabalho objetivou-se estudar processos para obtenção de extratos concentrados de isoflavonas e de agluconas isoladas, a partir de grãos de soja (IAC-100 e PI-227687) e de farelo de soja comercial. A definição dos parâmetros operacionais da técnica e a escolha de sistemas de solventes bifásicos que possibilitem a máxima eficiência na separação preparativa de isoflavonoides, através do uso de HSCCC (cromatografia contra-corrente de alta velocidade), visando ensaios de interesse na agricultura e na aquicultura, foram objetos deste estudo. O material passou por etapas de extração de óleo, sendo o resíduo submetido à extração MeOH:água (8:2) acidificado com HCl 2M. Após neutralização e evaporação do MeOH, a fase aquosa foi extraída com clorofórmio. Procedeu-se a separação por HSCCC, utilizando-se a mistura clorofórmio:metanol:água na proporção (99:120:81) como sistema bifásico de solventes, injetando-se 1mL da solução do extrato (200mg/5mL da fase inferior do sistema) no loop da coluna de 14mL e 3mL no loop da coluna de 80 mL. A velocidade de eluição foi de 2 e 3 mL/min, respectivamente, e 760 rpm a rotação da coluna, no sentido horário.

### Resultados e Discussão

Os resultados encontram-se resumidos na Tabela 1. O rendimento das isoflavonas isoladas, glicona e agliconas, foi em média de 1,0 a 1,5% (p/p) a partir dos extratos obtidos. As concentrações de genistina, daidzeína e genisteína variaram entre 0,007% a 0,0015% (p/p) a partir da

matéria-prima. Das frações obtidas por HSCCC, a daidzeína foi cristalizada em éter etílico e a genisteína passou por duas re-cristalizações. A pureza foi determinada por HPLC.

TABELA 1. Isoflavonas obtidas por HSCCC a partir do extrato de grãos de soja e de farelo de soja.

Amostras	Genistina (mg)	Daidzeína (mg)	Genisteína (mg)
IAC-100	8,2	2,9	17,6
PI227687	7,0	3,2	10,5
Farelo comercial	11,7	5,5	17,8

\* Média de pelo menos três repetições.

### Conclusões

O sistema de solventes para o isolamento das isoflavonas foi apropriado, não só por sua eficiência, como também pela ausência de água na fase escolhida como fase móvel (fase inferior), facilitando a concentração da amostra e diminuindo o tempo investido no monitoramento das frações eluídas. A daidzeína e a genisteína, isoladas de forma relativamente pura, abrem perspectivas para novos estudos, especialmente quanto à atividade sobre os insetos-praga da soja e também como estrógeno na reversão sexual de peixes, na aquicultura.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a FAEP e a EMBRAPA pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup> Dixon, R.A. e Ferreira, D. *Phytochemistry* 2002, 60, 205.

<sup>2</sup> Simmonds, M.S.J. *Phytochemistry* 2003, 64, 21.