UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante e citotóxica do extrato de soja (*Glycine max*) biotransformada pelo *Aspergillus awamori*

Vanessa Silveira Fortes

Versão corrigida da Dissertação "Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante e citotóxica do extrato de soja (*Glycine max*) biotransformada pelo *Aspergillus awamori*" apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2011

RESUMO

FORTES, V. S. **Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante e citotóxica do extrato da soja (Glycine max) biotransformada pelo fungo *Aspergillus awamori*** 2011. 75 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

A soja (*Glycine max*) contém uma variedade de compostos com comprovada atividade biológica, tais como as isoflavonas, que estão presentes em diferentes formas, glicosiladas e agliconas. Além disso, a soja contém uma grande quantidade de proteínas, que são consideradas fontes de peptídeos bioativos. As isoflavonas agliconas, daidzeína e genisteína, possuem maior atividade antioxidante que as glicosiladas, daidzina e genistina. No entanto, os grãos de soja são ricos nas formas glicosiladas das isoflavonas. Estudos mostram que a biotransformação da soja, por micro-organismos e enzimas, leva ao aumento dos teores das isoflavonas agliconas, as quais são liberadas pela ação de enzimas β-glicosidases, que clivam as ligações β-glicosídicas das isoflavonas glicosiladas, e também pode possibilitar a hidrólise das proteínas da soja. Além disso, pesquisadores têm demonstrado aumento na atividade antioxidante e na prevenção e/ou supressão de certos cânceres após biotransformação da soja. Neste contexto, foi realizada a biotransformação da soja pelo fungo *A. awamori*, e por uma mistura enzimática, proveniente do processo fermentativo deste fungo na soja. Os extratos da soja biotransformada, não biotransformada, e o extrato comercial isoflavin beta®, rico em isoflavonas, foram avaliados quanto aos perfis cromatográficos, teores de daidzeína, genisteína, proteínas, aminoácidos e/ou peptídeos, potencial antioxidante e atividade citotóxica frente a células de fibroblasto e melanoma. O modo de morte celular das células de melanoma, necrose ou apoptose, também foi avaliado. A biotransformação da soja, pelos dois processos, resultou em extratos enriquecidos com isoflavonas agliconas e aminoácidos e/ou peptídeos, e com maior atividade antioxidante que o extrato da soja não biotransformada. Os dois processos de biotransformação da soja resultaram em extratos com características químicas e biológicas diferentes. O conteúdo de daidzeína, proteínas, aminoácidos e/ou peptídeos encontrados no extrato da soja biotransformada pelo fungo foram 6%, 56% e 357%, respectivamente, superiores ao extrato da soja biotransformada pela mistura enzimática. Ao contrário do observado para o teor de genisteína que foi 48% maior no extrato da soja biotransformada pela mistura enzimática. O extrato da soja biotransformada pelo fungo apresentou maior atividade antioxidante que o extrato da soja biotransformada pela mistura enzimática, além disso, foi o único dos extratos aqui estudados que apresentou citotoxicidade seletiva para as células de melanoma, induzindo morte celular por apoptose destas células cancerosas. Sendo assim, os resultados obtidos pelo extrato da soja biotransformada pelo fungo *A. awamori* fornecem boas perspectivas para futura utilização deste extrato como antitumoral.

Palavras-chave: soja, isoflavonas agliconas, biotransformação, *Aspergillus awamori*, β-glicosidase, antioxidante, citotoxicidade.

INTRODUÇÃO

1.1 Radiação solar e os danos causados à pele

A pele é um tecido altamente metabólico, possui a maior área superficial do corpo e serve como proteção física, microbiológica e bioquímica para os órgãos internos, sendo provida com grande número de mecanismos de defesa antioxidante (KOHEN; GATI, 2000). Mecanismos estes que contam com sistemas enzimáticos (catalase, superóxido dismutase, glutationa peroxidase e glutationa redutase) e não-enzimáticos (glutationa, α-tocoferol, ácido ascórbico, β-caroteno) (STEENVOORDEN et al., 2001) e que estão em maior concentração na epiderme, indicando ser esta mais susceptível que a derme ao estresse oxidativo (SHINDO et al., 1994).

Sob tensão normal de oxigênio, os mecanismos de defesa são suficientes para manter a homeostasia, removendo os radicais livres produzidos. No entanto, sob circunstâncias que promovam aumento no estresse oxidativo, a concentração de radicais livres aumenta, rompendo o equilíbrio pró-oxidante/antioxidante no organismo, em favor do primeiro (SIERENS et al., 2001). Dentre os fatores responsáveis pelo estresse oxidativo na pele, a exposição à radiação ultravioleta (RUV), que é crítica à homeostasia celular, tem sido amplamente estudada devido aos prejuízos que esta causa à integridade da pele (AFAQ et al., 2005).

Os danos celulares causados pela radiação UVA estão intimamente ligados ao dano oxidatixo, com geração de espécies reativas do oxigênio (EROs), os quais podem agir sobre proteínas, lipídios, DNA. Enquanto, que a radiação UVB, além de gerar EROs, possui energia suficiente para induzir lesões mutagênicas diretamente no DNA (ASSEFA et al., 2005; LIU et al., 2011; MIYAMURA et al., 2011; PINNELL, 2003). A radiação solar é considerada um carcinógeno completo, pois pode causar câncer de pele sem exigir a presença adicional de iniciadores ou promotores de tumor. A carcinogênesis por UV frequentemente envolve a ativação de proto-oncogenes (MATSUMURA; ANANTHASWAMY, 2004) ou a inativação de um ou mais genes supressores de tumores, como o p53, cuja mutação interrompe seu papel de mediador apoptótico (VERSCHOOTEN; DECLERCQ; GARMYN, 2006).

A incidência de lesões na pele pode ser significativamente reduzida com o uso de filtros solares na pele exposta à RUV, os quais impedem penetração da

radiação solar na pele. No entanto, eles não têm efeito sobre lesões já iniciadas na pele, causadas pela RUV. Assim, é importante não somente identificar mecanismos ou agentes capazes de impedir a RUV na pele, mas também de agentes capazes de prevenir, reduzir ou reparar danos induzidos pela radiação solar (CHEN et al., 2008).

Nos anos recentes, houve um acúmulo de dados laboratoriais indicando que uma ampla variedade de compostos naturais poderiam ser utilizados em produtos tópicos para o tratamento e/ou prevenção do fotoenvelhecimento e do câncer de pele, gerados pela RUV. Desta forma, a atenção tem sido focada no uso de antioxidantes naturais para a inibição ou proteção de danos oxidativos causados pela RUV. Dentre os compostos fotoquimioprotetores sugeridos está a vitamina E, ácido ascórbico, β-caroteno, licopeno, e compostos fenólicos como epigalocatequina galato presente no chá verde, quercetina, resveratrol, isoflavonas da soja, etc (AFAQ, 2011; CASAGRANDE et al., 2006; GEORGETTI et al., 2006; EVANS; JOHNSON, 2010). A soja e seus derivados são importantes fontes de compostos antioxidantes, como os polifenóis, incluindo as isoflavonas (AKITHA DEVI, 2009). Em estudos recentes, Huang et al. (2010) demonstraram que a proteção dos isoflavonas aos efeitos causados pela radiação UVB pode estar ligada a sua atividade antioxidante.

1.2 Soja e isoflavonas

A soja (*Glycine max*) é uma leguminosa da família Fabaceae, muito consumida nos países asiáticos (WANG; MURPHY, 1994). Em relação ao seu valor nutricional, a soja contém macro e micronutrientes. Os macronutrientes são: lipídios, carboidratos e proteínas. Os lipídios da soja contém aproximadamente 15% de gordura saturada, 61% de poliinsaturada e 24% de gordura monoinsaturada. Dos 30% de carboidratos existentes, 15% são solúveis (sacarose) e os outros 15% são insolúveis (fibras). Já o teor protéico na soja varia de 36-46% dependendo de sua variedade, predominando proteínas de armazenamento, como β-conglicinina e a glicinina. Além disso, a soja contém micronutrientes, tais como: fitoesteróis, vitaminas, minerais e isoflavonas. Embora a soja contenha um amplo número de compostos de interesse biológicos, como já relatados acima, houve um crescimento

de dados na literatura sobre os efeitos benéficos das isoflavonas (CEDERROTH; NEF, 2009; PILSAKOVA; RIECANSKY; JAGLA, 2010).

As isoflavonas pertencem a uma subclasse do extenso grupo dos flavonóides, os quais são caracterizados por sua estrutura polifenólica. Diferente dos flavonóides, as isoflavonas são encontrados em poucas famílias botânicas, concentrando-se na família *Fabaceae*, a qual a soja faz parte. Esta distribuição limitada das isoflavonas no reino vegetal pode ser devido às enzimas presentes na família das leguminosas. Estas enzimas atuam na rota biossintética dos flavonóides, as quais catalisam a transformação das flavanonas (liquiritigenina e naringenina) em isoflavonas (daidzeína e genisteína, respectivamente) (AGUIAR et al., 2007; COWARD et al., 1993; TSAO; YANG; YOUNG, 2003).

As isoflavonas têm atraído atenção devido à capacidade de reduzirem os riscos de doenças cardiovasculares e promover a inibição do crescimento de células cancerígenas. Além disso, as isoflavonas possuem um importante papel na prevenção de diversas doenças como a osteoporose e nos sintomas da menopausa. São também inibidores da proteína tirosina quinase, o que leva a inibição do ciclo celular e indução de apoptose em células tumorais. Os efeitos destas isoflavonas são fortemente influenciados pela estrutura química (FRITSCHE; STEINHART, 1999; VILLARES et al., 2011).

A estrutura geral das isoflavonas é representada por dois anéis fenólicos (anéis A e B) ligados a um anel heterocíclico (C) (Figura 1), os quais possuem estrutura e atividade similar ao estrogênio (AGUIAR et al., 2007; ROSTAGNO; ARAÚJO; SANDI, 2002). O grão de soja contém três principais isoflavonas que se apresentam em quatro diferentes formas: glicosiladas (daidzina, genistina e glicitina), onde há um carboidrato ligado na posição 7 do anel A, através de ligações β-D-glicosídicas; formas acetilglicosiladas (acetildaidzina, acetilgenistina e acetilglicitina) e malonilglicosiladas (malonildaidzina, malonilgenistina e malonilglicitina), no qual estes carboidratos encontram-se esterificados através de um grupo acetil ou malonil na posição 6”; e as formas agliconas (daidzeína, genisteína e gliciteína), que não encontram-se conjugadas com moléculas de glicose. Dentre essas, as formas glicosiladas, como a daidzina e a genistina, são as principais formas encontradas nos grãos de soja, constituindo de 50 a 90% das isoflavonas. No entanto, as agliconas daidzeína e genisteína, em menor quantidade

na soja, são as formas que possuem maior atividade biológica (ELDRIDGE, 1982; IZUMI et al., 2000; PYU; LEE; LEE, 2005).

Conforme Tsao, Yang e Young (2003) a atividade antioxidante das isoflavonas encontra-se na seguinte ordem: genisteína > daidzeína = genistina = biochanina A = daidzina > formononetina = ononina. Esta capacidade antioxidante dos isoflavonóides varia amplamente, dependendo da sua estrutura química. Um estudo realizado por Arora, Nair e Strasburg (1998) mostrou que a genisteína (5,7,4'-trihidroxiisoflavona), com grupos hidroxila nas posições 5, 7 e 4', exibiu maior poder antioxidante que a daidzeína, que não apresenta hidroxila na posição 5 (Figura 1).

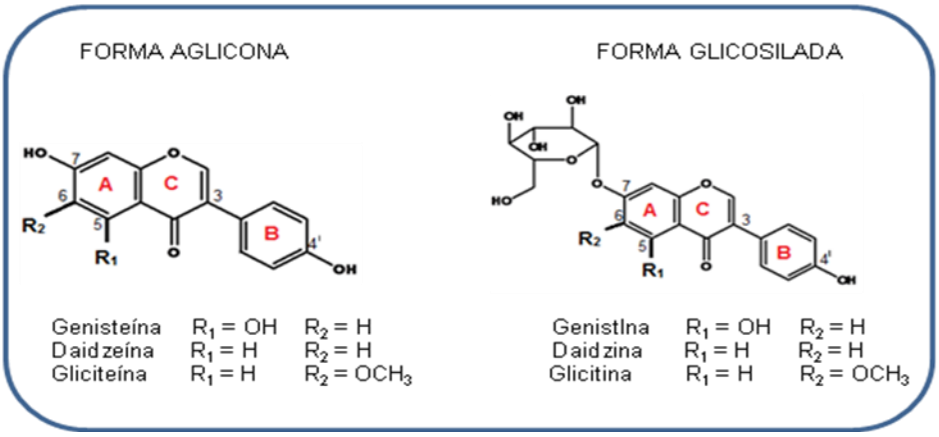

Figura 1: principais isoflavonas da soja (Modificado de Shau et al., 2011).

Quanto à biodisponibilidade, as isoflavonas glicosiladas são muito pouco absorvidas no intestino delgado, devido à massa molecular e a hidrofilicidade dos glicosídeos (CHAMPAGNE et al., 2010; PYU; LEE; LEE, 2005). Uma vez ingerido, as formas glicosiladas, daidzina e genistina, são hidrolisadas por enzimas β-glicosidases, presentes na microflora intestinal. O resultado desta hidrólise é a conversão da daidzina e genistina para suas formas agliconas correspondentes, daidzeína e genisteína, responsáveis pela atividade biológica. As formas agliconas, por sua vez, podem sofrer hidroxilação ou desmetilação, dando origem a outros metabólitos, por exemplo, a daidzeína ser metabolizada para equol e *O*-desmetilangolensina. Outras isoflavonas presentes na soja, como a biochanina A e formononetina, também podem sofrem desmetilação no trato gastrointestinal originando genisteína e daidzeína, respectivamente. Estes novos compostos resultantes do metabolismo das agliconas podem apresentar efeitos biológicos

diferentes que suas moléculas originais (ARORA; NAIR; STRASBURG, 1998; CEDERROTH; NEF, 2009; OSOSKI; KENNELLY, 2003). Portanto, o tipo e número de substituintes presentes na estrutura química das isoflavonas são uma importante variável pela sua influência, na atividade biológica e biodisponibilidade destes compostos (LEE; CHOU, 2006).

A isoflavona aglicona, genisteína, é considerada a principal isoflavona da soja, e é um dos compostos bioativos mais discutidos no contexto de alimentos funcionais e nutracêuticos. Muitos destes estudos são focados na atividade quimioprotetora contra cânceres, como indutor de apoptose, inibidor da tirosina quinase, DNA topoisomerase II, inibição da proliferação de células cancerosas e da angiogênese de células endoteliais, inibindo assim, a metástase tumoral. Além disso, aumentam as evidências de que a genisteína possui efeitos terapêuticos e preventivos nas doenças cardiovasculares e na menopausa, através de sua atividade como fitoestrógeno (BEMIS et al., 2004; DIXON; FERREIRA, 2002).

A prevenção dos sintomas da menopausa é atribuída à ação fitoestrógena da genisteína. Os fitoestrógenos são compostos derivados de plantas que possuem estrutura química similar ao hormônio estrógeno, e atividade estrogênica/antiestrogênica. Esta atividade deve-se ao fato destes fitoestrógenos se ligarem a receptores β-estrogênicos, porém com menos afinidade, competindo assim, com o hormônio endógeno pelos mesmos sítios de ligação. A genisteína é o principal fitoestrógeno da soja, e nos últimos anos tem se tornado um suplemento alimentar popular entre mulheres, muito utilizado na redução dos sintomas da menopausa (MCCLAIN et al., 2007; SAMPEY et al., 2011).

Como vários estudos vêm demonstrando que a bioatividade das isoflavonas agliconas é superior às suas formas glicosídicas correspondentes, têm aumentado o interesse no enriquecimento das formas agliconas nos produtos de soja, geralmente, pela conversão das formas glicosídicas em agliconas (SONG et al., 2011).

1.3 Biotransformação da soja

O enriquecimento da soja com as isoflavonas agliconas é realizado pela quebra da ligação β-glicosídica das formas glicosiladas, liberando assim compostos polifenólicos livres, sem a molécula de glicose na sua estrutura (CHANG et al.,

2007; LI-JUN et al., 2004). Esta quebra da ligação β-glicosídica pode ocorrer hidroliticamente por um agente químico ou enzimático. A hidrólise química pode ser realizada sob condições básicas ou ácidas, as quais apresentam alguns inconvenientes. A hidrólise alcalina pode provocar a degradação dos polifenóis livres, enquanto que por hidrólise ácida pode haver a formação de compostos pouco estáveis (LIGGINS et al., 1998).

Diversos autores mostram a transformação das formas glicosídicas das isoflavonas para suas formas agliconas, realizada por hidrólise enzimática, através da fermentação da soja por micro-organismos produtores de β-glicosidases (ESAKI et al., 1999; GEORGETTI et al., 2009; MARAZZA; GARRO; DE GIORI, 2009). Na literatura há a descrição de vários micro-organismos produtores desta enzima como: *Rhizopus oryzae*, *R. oligosporus, Lactobacillus casei*, *Bifidobactéria breve* (AGUIAR et al., 2003; PYO; LEE; LEE, 2005), e fungos do gênero *Aspergillus* (GEORGETTI et al., 2009; LIGGINS et al., 1998). Esaki et al. (1998) e Horii et al. (2009) mostraram a conversão das isoflavonas glicosiladas, daidzina e genistina, para as respectivas formas agliconas, daidzeína e genisteína, por enzimas β-glicosidases produzidas pelo *A. saitoi* e *A. oryzae*, respectivamente.

As β-glicosidases, juntamente com as endoglucanases e exoglucanases, fazem parte do grupo heterogêneo das celulases (JABASINGH; VALLINACHIYAR, 2010). Uma vez que, β-glicosidases são capazes de clivar ligações β-glicosídicas de di- e/ou oligossacarídeos e outros conjugados de glicose, elas têm sido utilizadas na etapa final de processos de degradação da celulose, completando a hidrólise da celulose em glicose (HSIEH; GRAHAM, 2001; ZHU et al., 2010). Estas enzimas são amplamente distribuídas no reino animal e vegetal, produzidas por micro-organismos, como as bactérias da microflora intestinal (BEMIS et al., 2004).

As β-glicosidases possuem funções em diversos processos, tais como, na degradação da biomassa celulósica, modificação de metabólitos secundários, como no aumento do *flavour* em vinhos, liberando alcoóis monoterpenos, e na hidrólise de compostos fenólicos e fitoestrógenos glicosídeos para aumentar a atividade biológica do produto final (IWASHITA; HITOSHI; ITO, 2001; YANG et al., 2009).

Um número de micro-organismos, particularmente os fungos, são intensivamente estudados por produzirem grande quantidade destas enzimas durante seu crescimento sob diferentes substratos, até mesmo em materiais sólidos naturais provenientes da agroindústria (GRAMINHA et al., 2008; JABASINGH;

VALLINACHIYAR, 2010). Estes organismos são considerados mais adaptados para o processo fermentativo em meio sólido por crescerem na forma de hifas, que são capazes de penetrar nos espaços entre as partículas do substrato (GRAMINHA et al., 2008).

Em um estudo realizado por Georgetti et al. (2009) foi verificado que a β-glicosidase produzida pelo gênero *Aspergillus* durante a fermentação da soja em meio sólido, foi mais ativa que a β-glicosidase produzida por cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* durante a fermentação do leite de soja (cultura líquida) (CHIEN; HUANG; CHOU, 2006; OTIENO; ASTHON; SHAH, 2006). Esta diferença na atividade da β-glicosidase, verificada entre os trabalhos, pode ser devido à localização celular da β-glicosidase ou das condições de cultivo empregadas (líquido ou sólido). Bactérias sintetizam β-glicosidases que podem estar ligadas à parede celular ou secretadas no espaço periplasmático. Enquanto que os fungos, em meio líquido, produzem as β-glicosidases ligadas à parede celular. Em cultura sólida, além de secretar enzimas ligadas à parede, secretam as β-glicosidases para o meio, conforme descrito por Iwashita, Shimoi e Ito (2001).

No trabalho de Georgetti et al. (2009) também foi observado que a fermentação da soja pelo *A. awamori* e *A. niger* foram eficientes em aumentar o teor de polifenóis e atividade antioxidante dos extratos. Enquanto, o *A. niveus* foi mais eficiente em produzir β-glicosidases mais especifícas em quebrar a ligação β-glicosídica da genistina. Esta especificidade da β-glicosidase do *Aspergillus niveus* resultou em maiores teores de genisteína que nos outros extratos.

Além das espécies acima citadas, o gênero *Aspergillus* possui algumas espécies, como o *A. awamori*, consideradas seguras à saúde humana (GRAS), e são utilizadas há muito tempo em produtos alimentícios destinados ao consumo humano (CUI et al., 1998).

Produtos fermentados de soja são tradicionais em países asiáticos, onde a soja é o substrato para a fermentação (CHANG et al., 2007). Estes produtos, como o miso, temphe e natto são produzidos em um processo fermentativo com *A. oryzae, R. oligosporum* e *Bacillus natto*, respectivamente (LIN; WEI; CHOU, 2006; OKABE; SHIMAZUA; TANIMOTO, 2010).

O aumento da atividade antioxidante da soja fermentada em relação à soja não fermentada, também foi observado em estudos como de Lee, Hung, Chou (2007), McCue, Horii e Shetty (2003) e Singh et al. (2010). Além disso, outros

trabalhos conduzidos em modelos animais têm atribuído aos alimentos fermentados de soja efeitos na prevenção de problemas gástricos, doenças coronárias e câncer (HUBERT et al., 2008).

Hidrólise enzimática dos glicosídeos fenólicos parece ser um caminho promissor para aumentar a concentração de polifenóis livres e aumentar a atividade nutracêutica de vários alimentos (HSIEH; GRAHAM, 2001), além do que investigações utilizando soja como substrato, em estado sólido, revelaram o envolvimento de outras enzimas hidrolíticas, além da β-glicosidase, na mobilização de antioxidantes fenólicos durante o processamento por *Rhizopus oligosporus* (McCUE; SHETTY, 2003; McCUE; HORII; SHETTY, 2003). O enriquecimento de compostos fenólicos através do processo de fermentação sólido foi relatado no feijão preto (LEE; HUNG; CHOU, 2008), na soja (LIN; WEI; CHOU, 2006; McCUE; SHETTY, 2003) e no arroz (BHANJA et al., 2008).

Outros pesquisadores, como Hubert et al. (2008) também confirmam em seus experimentos com germe de soja, que o processo fermentativo promoveu uma considerável mudança no perfil de conjugação das isoflavonas glicosiladas, resultando em uma significativa modificação na atividade biológica do produto obtido. Para tanto, eles sugerem que, controlando o processo, passo a passo, citando particularmente o tempo de incubação, é possível predizer o produto final e a composição de isoflavonas resultantes e ao mesmo tempo evitar a degradação de compostos de interesse, e manter a capacidade antioxidante do produto final.

A fermentação é um dos processamentos de alimento mais antigos e econômicos que levam, geralmente, a uma melhora no valor nutricional (SANNI et al., 1999). O processo fermentativo é amplamente usado na indústria de alimentos para aumentar as características sensoriais de um produto, eliminar certos constituintes desagradáveis, e principalmente aumentar as propriedades nutricionais dos alimentos.

Como destacado acima, a biotransformação das isoflavonas leva a um aumento nos teores de suas formas agliconas, reconhecidamente com maior atividade antioxidante que as formas glicosiladas. Além do aumento da quantidade das formas agliconas das isoflavonas, vários pesquisadores têm observado um aumento na quantidade de peptídeos nos produtos de soja biotransformados em relação aos não biotransfomados, os quais são produzidos pela ação hidrolítica de

enzimas sobre as proteínas da soja durante a biotransformação (GIBBS et al., 2004).

A soja é uma fonte abundante de proteínas que são amplamente reconhecidas pelo seu alto valor nutricional. Diversos trabalhos mostram que peptídeos derivados de soja exercem uma grande variedade de atividades biológicas, tais como: antihipertensiva, antitrombótica, antioxidante e anticancerígena (ZHANG; LI; ZHOU, 2010). Estas propriedades podem ser devido à sequencia específica de certos peptídeos das proteínas da soja, que são liberados por hidrólise enzimática durante a biotransformação, e constituindo-se em uma fonte potencial de peptídeos bioativos.

6 CONCLUSÃO

A biotransformação da soja pelo fungo *A. awamori* e pela mistura enzimática conduziu à obtenção de dois extratos com características químicas e biológicas distintas. O extrato da soja biotransfomada pela mistura enzimática apresentou maiores teores da daidzeína e genisteína, menores quantidades de compostos hidrofílicos, pouca atividade antioxidante e antitumoral. A biotransfomação da soja pela mistura enzimática é um processo para obtenção de um extrato rico em daidzeína e genisteína.

O extrato da soja biotransformada pelo *A. awamori* foi quimicamente rico em compostos hidrofílicos (alto teor de grupo amino), apresentou alta atividade antioxidante pela inibição da quimioluminescência gerada no sistema xantina/xantina oxidase/luminol, apresentou citotoxicidade seletiva para as células de melanoma e, além disso, induziu morte celular por apoptose destas células cancerosas.

7 BIBLIOGRAFIA

ABAD A.; FERNÁNDEZ-MOLINA, J. V.; BIKANDI, J.; RAMIREZ, A.; MARGARETO, J.; SENDINO, J.; HERNANDO, F. L.; PONTÓN, J.; GARAIZAR, J.; REMENTERIA, A. What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? Genes and molecules involved ininvasive aspergillosis. **Revista Iberoamericana de Micología**, Bilbao, v. 27, p. 155-182, 2010.

AFAQ, F.; ADHAMI, V. M.; MUKHTAR, H. Photochemoprevention of ultraviolet B signaling and photocarcinogenesis. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 571, p. 153-173, 2005.

AFAQ, F. Natural agents: Cellular and molecular mechanisms of photoprotection. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 508, p. 144-151, 2011.

AGUIAR, C. L.; SUZUKI, C. N.; PAREDES-GUZMÁN, J. F.; ALENCAR, S. M.; PARK, Y. K. Tranformación de las β-glicosil isoflavonas por fermentación semi-sólida de harina de soja con *Aspergillus oryzae*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 4, n. 2, p. 115-121, 2003.

AGUIAR, C. L.; BAPTISTA, A. S.; ALENCAR, S. M.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. Analysis of isoflavonoids from leguminous plant extracts by RPHPLC/DAD and electrospray ionization mass spectrometry. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, London, v. 58, p. 116-124, 2007.

AGUIRRE, L.; GARRO, M. S.; de GIORI G. S. Enzymatic hydrolysis of soybean protein using lactic acid bactéria. **Food Chemistry**, Oxford, v. 111, p. 976-982, 2008.

AKITHA DEVI, M. K.; GONDI, M.; SAKTHIVELU, G.; GIRIDHAR, P.; AJASEKARAN, T.; RAVISHANKAR, G. A. Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. **Food Chemistry**, Oxford , v. 114, p. 771-776, 2009.

ALLEN, R. T.; HUNTER III, W. J.; AGRAWAL, D. K. Morphological and biochemical characterization and analysis of apoptosis. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, New York, v. 37, p. 215-228, 1997.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Genéricos-Legislação-Resolução. no. 899, de 29 de maio de 2003. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03.htm. Acesso em 10 de maio de 2010.

ARORA, A.; NAIR, M. G.; STRASBURG, G. M. Antioxidant Activities of Isoflavones and Their Biological Metabolites in a Liposomal System. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 356, n. 2, p. 133-141, 1998.

ASSEFA, Z.; LAETHEM, A. V.; GARMYN, M.; AGOSTINIS, P. Ultraviolet radiation-induced apoptosis in keratinocytes: On the role of cytosolic factors. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterda, v. 1755, p. 90-106, 2005.

BEMIS, D. L.; CAPODICE, J. L.; DESAI, M.; BUTTYAN, R.; KATZ, A. E. A Concentrated Aglycone Isoflavone Preparation (GCP) That Demonstrates Potent Anti-Prostate Cancer Activity *in vitro* and *in vivo*. **Clinical Cancer Research**, Philadelphia, v. 10, p. 5282, 2004.

BENSADOWN, A.; WEINSTEIN, D. Assay of protein in the presence of interfering materials. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 70, p. 241-250, 1976.

BEERMANN, C.; EULER, M.; HERZBERG, J.; STAHL, B. Anti-oxidative capacity of enzymatically released peptides from soybean protein isolate. **European Food Research Technology**, New York, v. 229, p. 637–644, 2009.

BHANJA, T.; ROUT, S.; BANERJEE, R.; BHATTACHARYYA, B. C. Studies on theperformance of a new bioreactor for improving antioxidant potential of rice. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 41, p. 1459-1465, 2008.

BHANJA, T.; KUMARI, A.; BANERJEE, R. Enrichment of phenolics and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 100, p. 2861-2866, 2009.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, London, v. 26, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.

CARMICHAEL, J.; DEGRAFF, W. G.; GAZDAR, A. F.; MINNA, J. D.; MITCHELL, J. B. Evaluation of a Tetrazolium-based Semiautomated Colorimetric Assay: Assessment of Chemosensitivity Testing. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 47, p. 936-942, 1987.

CASAGRANDE, R.; GEORGETTI, S. R.; VERRI Jr., W.A.; DORTA, D. J.; SANTOS, A. C. dos; FONSECA, M. J. V. Protective effect of topical formulations containing quercetin against UVB-induced oxidative stress in hairless mice. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology,** Lausanne, v. 84, p. 21-27, 2006.

CEDERROTH, C. R.; NEF, S. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Clare, v. 304, p. 30-42, 2009.

CHANG, T-S.; DING, H-Y.; TAI, S. S-K.; WU, C-Y. Metabolism of the soy isoflavones daidzein and genistein by fungi used in the preparation of various fermented soybeans foods. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, Tokyo, v. 71, 1330-1333, 2007.

CHAMPAGNE, C. P.; TOMPKINS, T. A.; BUCKLEY, N. D.; GREEN-JOHNSON, J M. Effect of fermentation by pure and mixed cultures of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus helveticus on isoflavone and B-vitamin content of a fermented soy beverage. **Food Microbiology**, London, v. 27, p. 968-972, 2010.

CHEN, N.; SCARPA, R.; ZHANG, L.; SEIBERG, M.; LIN, C. B. Nondenatured Soy Extracts Reduce UVB-induced Skin Damage via Multiple Mechanisms. **Photochemistry and Photobiology**, Malden, v. 84, p. 1551-1559, 2008.

CHEN, Y-F.; LEE, S-L.; CHOU, C-C. Fermentation with *Aspergillus awamori* Enhanced Contents of Amino Nitrogen and Total Phenolics as Well as the Low-Density Lipoprotein Oxidation Inhibitory Activity of Black Soybeans. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 59, p. 3974-3979, 2011.

CHIEN, Y. C.; YU, R.C.; CHOU, C. C. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, London, v. 23, p. 128-135, 2006.

CHIEN, H-L.; HUANG, H-Y.; CHOU, C-C. Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, London, v. 23, p. 772-778, 2006.

CHUNG, Ill-M.; SEO, S-H.; AHN, J-K.; KIM, S-H. Effect of processing, fermentation, and aging treatment to content and profile of phenolic compounds in soybean seed, soy curd and soy paste. **Food Chemistry**, Oxford, v. 127, p. 960-967, 2011.

COWARD, L.; BARNES, N. C.; SETCHEL, K. D. R.; BARNES, S. Genistein, dadzein, and their β-glicoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from american and asian diets. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 41, p. 1961-1967, 1993.

CREUTZ, C. E. The annexins and exocytosis. **Science**, New York, v. 258, n. 5084, p. 924-31, 1992.

CUI, Y. Q.; VAN DER LANS, R. G. J. M.; GIUSEPPIN, M. L. F.; LUYBEN, K. C. A. M. Influence of fermentation conditions and scale on the submerged fermentation of *Aspergillus awamori*. **Enzyme and Microbial Technology**, New Yok, v. 23, p. 157-167, 1998.

DAVIES, G.J.; WILSON, K.S.; HENRISSAT, B. Nomenclature for sugar-binding subsites in glycosyl hydrolyses. **Biochem. J.** v.321, p.557–559, 1997.

DECKER, C. H.; VISSER, J.; SCHREIER P. â-Glucosidases from Five Black Aspergillus Species: Study of Their Physico-Chemical and Biocatalytic Properties. Journal Agricultural Food Chemistry, Washington, v. 48, p. 4929-4936, 2000.

DE MEJIA, E.; DE LUMEN, B. O. Soybean bioactive peptides: A new horizon in preventing chronic diseases. **Sexuality, Reproduction and Menopause**, v. 4, p. 91-95, 2006.

DI VIRGILIO, A. L.; IWAMI, K.; WATJEN, W.; KAHL, R.; DEGEN, G. H. Genotoxicity of the isoflavones genistein, daidzein and equol in V79 cells. **Toxicology Letters**, Clare, v. 151, p. 151-162, 2004.

DIXON, R. A.; FERREIRA, D. Genistein. **Phytochemistry**, Oxford, v. 60, p. 205-211, 2002.

ELDRIDGE, A. C. Determination of isoflavones in soybean flours, protein-concentrates, and isolates. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 183, p. 90, 1982.

ESAKI, H.; ONOZAKI, H.; MORIMITZU, Y.; OSAWA, T. Potent antioxidative isoflavones isolated from soybeans fermented with *Aspergillus saitoi*. **Bioscience Biotechnology Biochemestry**, Tokyo, v. 62, p. 740-746, 1998.

EVANS, J. A.; JOHNSON, E. J. The Role of Phytonutrients in Skin Health. **Nutrients**, Basel, v. 2, p. 903-928, 2010.

FADEEL, B.; ORRENIUS, S.; ZHIVOTOVSKY, B. Apoptosis in Human Disease: A New Skin for the Old Ceremony? Biochemical **and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 266, p. 699-717, 1999.

FRITSCHE, S.; STEINHART, H. Occurrence of hormonally active compounds in food: a review. **Eurpean Food Research and Technology**, New York, v. 209, p. 153-179, 1999.

GEORGETTI, S. R.; CASAGRANDE, R.; VICENTINI, F. T. M. C.; VERRI Jr., W. A.; FONSECA, M. J. V. Evaluation of the antioxidant activity of soybean extract by different in vitro methods and investigation of this activityafter its inc orporation in topical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Amsterdam, v. 64, p. 99-106 2006.

GEORGETTI, S. R.; VICENTINI, F. T. M. C.; YOKOYAMA, C. Y.; BORIN, M. F.; SPADARO, A. C. C.; FONSECA, M.J.V. Enhanced in vitro and in vivo antioxidant activity and mobilization of free phenolic compounds of soybean flour fermented with different β-glucosidase-producing fungi. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v. 106, p. 459-466, 2009.

GERVAIS, P.; MOLIN, P. The role of water in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, Lausanne, v. 13, p. 85-101, 2003.

GIBBS, B. F.; ZOUGMAN, A.; MASSE, R.; MULLIGAN, C. Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. **Food Research International**, Amsterdam, v. 37, p. 123-131, 2004.

GILCHREST, B.A., ELLER, M.S., GELLER, A.C., YAAR, M. The pathogenesis of melanoma induced by ultraviolet radiation. **The new England Journal of Medicine**, v.340, n.17, p.1341-1348, 1999.

GIROTTI, S.; FINI, F.; FERRI, E.; BUDINI, R.; PIAZZI, S.; CANTAGALLI, D. Determination of superoxide dismutase in erythrocytes by a chemiluminescent assay. **Talanta**, London, v. 51, p. 685-692, 2000.

GRAMINHA, E. B. N.; GONÇALVES, A. Z. L.; PIROTA, R. D. P. B.; BALSALOBRE, M. A. A.; DA SILVA, R.; GOMES, E. Enzyme production by solid-state fermentation: Application to animal nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterda, v. 144, p. 1-22, 2008.

GRUPTA, S. C.; KIM, J. H.; PRASAD, S.; AGGARWAL, B. B. Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. **Cancer and Metastasis Reviews**, Dordresht, v. 29, p. 405–434, 2010.

HILAKIVI-CLARKE, L.; CHO, E.; ONOJAFE, I.; RAYGADA, M.; CLARKE, R. Maternal exposure to genistein during pregnancy increases carcinogen-induced mammary tumorigenesis in female rat offspring. **Oncology Reports**, Athens, v. 6, p. 1089-95, 1999.

HIRAYAMA, O.; TAKAGI, M.; HUKUMOTO, K.; KATOH, S. Evaluation of antioxidant activity by chemiluminescence. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 247, p. 237-241, 1997.

HORII, K.; ADACHI, T.; MATSUDA, T.; TANAKA, T.; SAHARA, H.; SHAIBASAKI, S.; OGINO, C.; HATA, Y.; UEDA, M.; KONDO, A. Improvement of isoflavone aglycones production using β-glucosidase secretory produced in recombinant *Aspergillus oryzae*. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterda, v. 59, p. 297-301, 2009.

HSIEH, M. C.; GRAHAM, T. L. Partial purification and characterization of a soybean β-glucosidase with high specific activity towards isoflavone conjugates. **Phytochemistry**, oxford, v. 58, p. 995-1005, 2001.

HSU, A,; BRAY, T. M., HELFERICH, W. G.; DOERGE, D. R.; HO, E. Differencial effects of whole soy extract and soy isoflavones on apoptosis in prostate cancer cells. **Experimental Biology and Medicine**, Maywood, v. 235, p. 90-97, 2010.

HUANG, C-C.; HSU, B-Y.; WU, N-L.; TSUI, W-H.; LIN, T-J.; SU, C-C.; HUNG, C-F. Anti-Photoaging Effects of Soy Isoflavone Extract (Aglycone and Acetylglucoside Form) from Soybean Cake. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 12, p. 4782-4795, 2010.

HUBERT, J.; BERGER, M.; NEPVEU, F.; PAUL, F.; DAYDE, J. Effects of fermentation on the phytochemical composition and antioxidant properties of soy germ. **Food Chemistry**, Oxford, v. 109, p. 709-72, 2008.

HUERTA, S.; GOULET, E. J.; HUERTA-YEPEZ, S.; LIVINGSTON, E. H. Screening and Detection of Apoptosis. **Journal of Surgical Research**, San Diego, v. 139, p. 143-156, 2007.

IZUMI, T.; PISKULA, M. K.; OSAWA, S.; OBATA, A.; TOKE, K.; SAITO, M. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, p. 1695-1699, 2000.

IWASHITA, K. Recent Studies of Protein Secretion by Filamentous Fungi. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 94, n. 6, p. 530-535, 2002.

IWASHITA, K.; SHIMOI, H.; ITO, K. Extracellular soluble polysaccharide (ESP) from *Aspergillus kawachii* improves the stability of extracellular b-glucosidases (EX-1 and EX-2) and is involved in their localization. **Journal Bioscience Bioengineering**, Osaka, v. 91, p. 134-140, 2001.

JABASINGH, S. A.; VALLINACHIYAR, C. Optimization of cellulase production by *Aspergillus nidulans*: application in the biosoftening of cotton fibers. **World Journal Microbiology Biotechnology**, New York, v. 27, p. 85-97, 2010.

JEFFERSON, W. N.; PADILLA-BANKS, E.; NEWBOLD, R. R. Disruption of the female reproductive system by the phytoestrogen genistein. **Reproductive Toxicology**, oxford, v. 23, p. 308-316, 2007.

KOHEN, R.; GATI, I. Skin low molecular weight antioxidants and their role in aging and in oxidative stress. **Toxicology**, Amsterdam, v. 148, p. 149-157, 2000.

KUMATZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**, oxford, v. 84, p. 329-339, 2004.

LEE, I-H.; CHOU, C-C. Distribution Profiles of Isoflavone Isomers in Black Bean Kojis Prepared with Various Filamentous Fungi. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 1309-1314, 2006.

LEE, I-H.; HUNG, Y. H.; CHOU, C-C. Total phenolic and anthocyanin contents, as well as antioxidant activity, of black bean koji fermented by *Aspergillus awamori* under different culture conditions. **Food Chemistry**, Oxford, v. 104, p. 936-942, 2007.

LEE, I-H.; HUNG, Y.H.; CHOU, C-C. Solid-state fermentation with fungi to enhance the antioxidative activity, total phenolic and anthocyanin contents of black bean. **International Journal Food Microbiology**, Amsterdam, v. 121, p. 150-156, 2008.

LIGGINS, J.; BLUCK, L. J. C.; COWARD, W. A.; BINGHAM, S. A. Extraction and Quantification of Daidzein and Genistein in Food. **Analytical Biochemistry**, san Diego, v. 264, p. 1-7, 1998.

LI-JUN, Y.; LI-TE, L.; ZAI-GUI, L.; TATSUMI, E.; SAITO, M. Changes in isoflavone contents and composition of sufu (fermented tofu) during manufaturing. **Food Chemistry**, Oxford, v. 87, p. 587-592, 2004.

LIN, C.; WEI, Y.; CHOU, C. Enhanced antioxidative activity of soybean koji prepared with various filamentous fungi. **Food Microbiology**, London, v. 23, p. 628-633, 2006.

LIU, Y.; CHAN, F.; SUN, H.; YAN J.; FAN, D.; ZHAO, D.; AN, J.; ZHOU, D. Resveratrol protects human keratinocytes HaCaT cells from UVA-induced oxidative stress damage by downregulating Keap1 expression. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 650, p. 130–137, 2011.

LIU, T-X.; ZHAO, M. Physical and chemical modification of SPI as a potential means to enhance small peptide contents and antioxidant activity found in hydrolysates. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Oxford, v. 11, p. 677–683, 2010.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 193, p. 265-275, 1951.

MA, Y.; WANG, J.; LIU, L.; ZHU, H.; CHEN, X.; PAN, S.; SUN, X.; JIANG, H. Genistein potentiates the effect of arsenic trioxide against human hepatocellular carcinoma: Role of Akt and nuclear factor-κB. **Cancer Letters**, Clare, v. 301, p. 75-84, 2011.

MARAZZA, J. A.; GARRO, M. S.; SAVOY DE GIORI. Aglycone production by *Lactobacillus rhamnosus* CRL981 during soymilk fermentation. **Food Microbiology**, London, v. 26, p. 333-3339, 2009.

MATSUMURA, Y.; ANANTHASWAMY, H. N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 195, p. 298-308, 2004.

MCCUE, P.; SHETTY, K. Role of carbohydrate-cleaving enzymes in phenolic antioxidant mobilization from whole soybean fermented with *Rhizopus oligosporus.* **Food Biotechnology**, Philadelphia, v. 17, p. 27-37, 2003.

MCCUE, P.; HORII, A.; SHETTY, K. Solid-state bioconversion of phenolic antioxidants from defatted soybean powders by *Rhizopus oligosporus*: role of carbohydrate-cleaving enzymes. **Journal Food Biochemistry**, Malden, v. 27, p. 501-14, 2003.

McCLAIN, R. M.; WOLZ, E.; DAVIDOVICH, A.; EDWARDS, J.; BAUSCH, J.; Reproductive safety studies with genistein in rats. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 45, p. 1319-1332, 2007.

MIURA, T.; YUAN, L.; SUN B.; FUJI, H.; YOSHIDA M.; WAKAME, K.; KOSUMA, K. Isoflavone aglycon produced by culture of soybean extracts with *Basidiomycetes* and its anti-angiogenic activity. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, Tokyo, v. 66, p. 2626-2631, 2002.

MITCHELL, J. H.; GARDNER, P. T.; McPHAIL, D. B.; MORRICE, P. C.; COLLINS, A. R.; DUTHIE, G. G. Antioxidant Efficacy of Phytoestrogens in Chemical and Biological Model Systems. **Archives of biochemistry and Biophysics**, New York, v. 360, n. 1, p. 142-148, 1998.

MIYAMURA, Y.; COELHO, S. G.; SCHLENZ, K.; BATZER, J.; SMUDA, C.; CHOI, W.; BRENNER, M.; PASSERON, T'; ZHANG, G.; KOLBE, L.; WOLBER, R.; HEARING, V. J. The deceptive nature of UVA tanning versus the modest protective effects of UVB tanning on human skin. **Pigment Cell Melanoma Res**, Malden, v. 24, p. 136-147, 2011.

MOKTAN, B.; SAHA, J.; SARKAR, P. K. Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema. **Food Research International**, Amsterdam, v. 41, p. 586-593, 2008.

MOORE, S.; STEIN, W.H. photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 176, p. 367-388, 1948.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunological Methods**, Amsterda, v. 65, p. 55-63, 1983.

MOURE, A.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 41, p. 447–456, 2006.

NEGI, S.; BANERJEE, R. Characterization of amylase and protease produced by *Aspergillus awamori* in a single bioreactor. **Food Research International**, Amsterdam, v. 42, p. 443-448, 2009.

OHKAWA, H.; OSHINI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytica chimica**, Amsterdam, v. 95, p. 351-388, 1979.

OKABE, Y.; SHIMAZUA, T.; TANIMOTO H. Higher bioavailability of isoflavones after a single ingestion of aglycone-rich fermented soybeans compared with glucoside-rich non-fermented soybeans in Japanese postmenopausal women. **Journal of the science of food and agriculture**, Malden, v. 91, p. 658-663, 2011.

OSOSKI, A. L.; KENNELLY, E. J. Phytoestrogens: a review of the present state of research. **Phytotherapy Research**, Malden, v. 17, p. 845-869, 2003.

OTIENO, D. O.; ASHTON, J. F.; SHAH, N. P. Evaluation of enzymic for biotransformation of isoflavone phytoestrogen in soymilk by *Bifidobacterium animalis Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, Amsterdam, v. 39, p. 394-407, 2006.

PARK, K.; CHOI, K.; KIM, H.; KIM, K.; LEE, M. H.; LEE, J. H.; RIM, J. C. K. Isoflavone-deprived soy peptide suppresses mammary tumorigenesis by inducing apoptosis. **Experimental and molecular Medicine**, Seoul, v. 41, p. 371-380, 2009.

PASCUAL, C.; GONZALEZ, R.; TORRICELLA, R. G. Scavenging action of propolis extract against oxigen radicals. **Journal of Ethnopharmacology,** Lausanne, v. 41, p. 9-13, 1994.

PAVESE, J. M.; FARMER, R. L.; BERGAN, R. C. Inhibition of cancer cell invasion and metastasis by genistein. **Cancer Metastasis Reviews**, Dordrecht, v. 29, p. 465-482, 2010.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, Pittsburgh, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

PILSÁKOVÁ, L.; RIECANSKÝ I.; JAGLA F. The Physiological Actions of Isoflavone Phytoestrogens. **Physiological Research**, Prague, v. 59, p. 651-664, 2010.

PINNELL, S. R. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. **Journal of the American Academy Dermatology**, New York, v. 48, p. 1-19, 2003.

PYO, Y. H.; LEE, T. C.; LEE, Y. C. Enrichment of bioactive isoflavones in soymilk fermented with β-glucosidase-producing lactic acid bacteria. **Food Research International**, Amsterda, v. 38, p. 551-559, 2005.

RODRIGUES, T.; SANTOS, A. C.; PIGOSO, A. A.; MINGATTO, F. E.; UYEMURA, A. S.; CURTI, C. Thioridazine interacts with the membrane of mitochondria acquiring antioxidant activity toward apoptosis – potentially implicated mechanisms. **British Journal of Pharmacology**, London, v. 136, n. 1, p. 136-142, 2002.

ROSTAGNO, M. A.; ARAÚJO, J. M. A.; SANDI, D. Supercritical fluid extract of isoflavones from soybean flour. **Food Chemistry**, Oxford, v. 78, p. 111-117, 2002.

RUCINSKA, A.; ROSZCZYK, M.; GABRYELAK, T. Cytotoxicity of the isoflavone genistein in NIH 3T3 cells. **Cell Biology International**, London, v. 32, p. 1019-1023, 2008.

SAELENS, X.; FESTJENS, N.; VANDE WALLE, L.; VAN GURP, M.; VAN LOO, G.; VANDENABEELE, P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. **Oncogene**, London, v. 23, p. 2861-2874, 2004.

SAMPEY, B. P.; LEWIS, T. D.; BARBIER, C. S.; MAKOWSKI, L.; KAUFMAN, D. G. Genistein effects on stromal cells determines epithelial proliferation in endometrial co-cultures. **Experimental and Molecular Pathology**, San Diego, v. 90, p. 257-263, 2011.

SANNI, A. I.; ONILUDE, A. A.; OMOLARA, O.; IBIDAPO, T. Biochemical composition of infant weaning food fabricated from fermented blends of cereal and soybean. **Food Chemistry**, Oxford, v. 65, p. 35-39, 1999.

SHINDO, Y.; WITT, E.; HAN, D.; PACKER, L. Dose-response effects of acute ultraviolet irradiation on antioxidants and molecular markers of oxidation in murine epidermis and dermis. **The Journal of Investigative Dermatology**, Cambridge, v. 102, p. 469-475, 1994.

SIERENS, J.; HARTLEY, J. A.; CAMPBELL, M. J.; LEATHEM, A. J. C.; WOODSIDE J. V. Effect of phytoestrogen and antioxidant supplementation on oxidative DNA damage assessed using the comet assay. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 485, p. 169-176, 2001.

SINGH, H. B.; SINGH, B. N.; SINGH, S. P.; NAUTIYAL, C. S. Solid-state cultivation of *Trichoderma harzianum* NBRI-1055 for modulating natural antioxidants in soybean seed matrix. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 101, p. 6444-6453, 2010.

SONG, X.; XUE, Y.; WANG, Q.; WU, X. Comparison of Three Thermostable β-Glucosidases for Application in the Hydrolysis of Soybean Isoflavone Glycosides. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 59, p. 1954-1961, 2011.

STEENVOORDEN, D. P. T.; BEIJERSBERGEN, V.; HANEGOUWEN, G. M. J.; STERNLICHT, M. D.; WERB, Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. **Annual Review of Cell and Developmental Biology,** Palo Alto, v. 17, p. 463-516, 2001.

SU, G.; REN, J.; YANG, B.; CUI, C.; ZHAO, M. Comparison of hydrolysis characteristics on defatted peanut meal proteins between a protease extract from *Aspergillus oryzae* and commercial proteases. **Food Chemistry**, Oxford, v. 126, p. 1306-1311, 2011.

TSAO, R.; YANG, R.; YOUNG, J. C. Antioxidant isoflavones in osage orange, maclura pomifera (Raf.) schneid. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 6445-6451, 2003.

VATTEM, D.; SHETTY, K. Solid-state production of phenolic antioxidants from Cranberry pomace by *Rhizopus oligosporus*. **Food Biotechnol**, Philadelphia, v. 16, p. 189-210, 2002.

VERMES, I.; HAANEN, C.; STEFFENS-NAKKEN, H.; REUTELINGSPERGER. A novel assay for apoptosis Flow cytometric detection of phosphatidylserine early apoptotic cells using fluorescein labeled expression on Annexin V. **Journal of Immunological Methods**, Amsterdam, v. 184, p. 39-51, 1995.

VERMES, I.; HAANEN, C.; REUTELINGSPERGER, C. Flow cytometry of apoptotic cell death. **Journal of Immunological Methods**, Amsterdam, v. 243, p. 167-190, 2000.

VERSCHOOTEN, L; DECLERCQ, L; GARMYN, M. Adaptive response of the skin to UVB damage: role of the p53 protein. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 28, p. 1-7, 2006.

VILLARES, A.; ROSTAGNO, M. A.; GARCÍA-LAFUENTE, A.; GUILLAMÓN, E.; MARTÍNEZ, J. A. Content and Profile of Isoflavones in Soy-Based Foods as a Function of the Production Process. **Food Bioprocess Technology**, New York, v. 4, p. 27-38, 2011.

ZHANG, L.; LI, J.; ZHOU, K. Chelating and radical scavenging activities of soy protein hydrolysates prepared from microbial proteases and their effect on meat lipid peroxidation. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 101, p. 2084–2089, 2010.

ZHU, F. M.; DUB, B.; GAO, H-S.; LIU, C-J.; LIA, J. Purification and Characterization of an Intracellular β-Glucosidase from the Protoplast Fusant of *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*. **Applied Biochemistry and Microbiology**, New York, v. 46, n. 6, p. 626-632, 2010.

WANG, H-J.; MURPHY, P. A. Isoflavone Composition of American and Japanese Soybeans in Iow: Effects of Variety, Crop Year, and Location. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Oxford, v. 42, p. 674-677, 1994.

YAHG, S.; WANG, L.; YAN, Q.; JIANG, Z.; LI, L. Hydrolysis of soybean isoflavone glycosides by a thermostable β-glucosidase from *Paecilomyces thermophila*. **Food Chemistry**, Oxford, v. 115, p. 1247-1252, 2009.

YUAN-JING, F.; Nan-Shan, H.; Lian, X. Genistein synergizes with RNA interference inhibiting survivin for inducing DU-145 of prostate cancer cells to apoptosis. **Cancer Letters**, Clare, v. 284, p. 189-197, 2009.