

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA)

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

Instituto de Biociências de Botucatu (IBB)

Tese de Doutorado

Desenvolvimento de metodologias verdes na investigação química de resíduos de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e de seus produtos derivados

Discente: Felipe Sanchez Bragagnolo

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Soleo de Funari

Botucatu

2023

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA)

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

Instituto de Biociências de Botucatu (IBB)

**Desenvolvimento de metodologias verdes na investigação química de
resíduos de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e de seus produtos derivados**

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de Botucatu,
Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, para
obtenção do título de Doutor em
Biotecnologia.

Discente: Felipe Sanchez Bragagnolo

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Soleo de Funari

Botucatu

2023

B813d Bragagnolo, Felipe Sanchez
Desenvolvimento de metodologias verdes na investigação química
de resíduos de soja (Glycine max (L.) Merr.) e de seus produtos
derivados / Felipe Sanchez Bragagnolo. -- Botucatu, 2023
227 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Botucatu
Orientador: Cristiano Soleo de Funari

1. Glycine max. 2. Subprodutos agrícolas. 3. Química verde. 4.
Compostos bioativos. 5. Biorefinaria. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Desenvolvimento de metodologias verdes na investigação química de resíduos de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e de seus produtos derivados

Tese apresentada por Felipe Sanchez Bragagnolo em 28/02/2023 ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, e avaliado pela banca examinadora formada pelos seguintes membros.



Prof. Dr. Cristiano Soleo de Funari

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Ciências Agrônômicas – Botucatu

Documento assinado digitalmente
gov.br ALAN CESAR PILON
Data: 28/02/2023 19:05:47-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Pesquisador Alan Cesar Pilon

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas



Pesquisadora Isabel Duarte Coutinho

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Química – Araraquara



Prof.ª Dr.ª Sarita Cândida Rabelo

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Ciências Agrônômicas - Botucatu



Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Ciências Agrônômicas - Botucatu

*Dedico este trabalho a todos que, de
alguma forma, me ensinaram algo*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas oportunidades e privilégios que tive para conseguir concluir as etapas da vida que me trouxeram até aqui.

Aos meus pais, Marta e João, por terem me dado a educação e incentivos que facilitaram muito a minha jornada.

Ao meu orientador, Cristiano Funari, pelo suporte e conselhos a fim de me ajudar a crescer como um pesquisador e pessoa.

A minha namorada, Andra, que me apoia e possibilita que cresçamos juntos.

Aos meus familiares e amigos, que me proporcionam tantos momentos de felicidade,

Aos meus supervisores, professora Elena Ibáñez e professor Alejandro Cifuentes, que durante meu período vivendo em Madrid foram extremamente atenciosos e afetuosos, o que possibilitou que eu aprendesse muito tanto na área acadêmica quanto na vida.

Ao meu supervisor, Jesús Esteban Serrano, que durante meu período vivendo em Manchester me deu todo apoio possível para eu desenvolver meu trabalho, além de vários conselhos enriquecedores.

Ao professor Alberto José Cavalheiro, que durante a graduação foi meu supervisor no Instituto de Química da UNESP em Araraquara. Foi um período de grandes aprendizados e amizades, sendo que devo agradecer imensamente ao Luan Costa Ciavdar Ruiz, pela paciência ao me ensinar e acolher.

Aos membros da banca, por estarem presentes em um momento tão importante e possibilitarem a melhoria deste trabalho. Nominalmente, agradeço ao professor Filipe Pereira Giardini Bonfim, por ter me recepcionado tão bem durante meu primeiro contato com a pesquisa científica. Durante um bom tempo utilizei de seu laboratório, reagentes, vidrarias e equipamentos para realizar meus primeiros experimentos, tenho uma grande gratidão por ter sido tão receptivo, juntamente com a Dra. Jordany Aparecida de Oliveira Gomes. Também agradeço a professora Sarita Candida Rabelo, com quem tive aula e aprendi muito (ainda aprendo), além de me espelhar. Adicionalmente, agradeço a Isabel Duarte Coutinho e Alan Cesar Pilon, ambos pesquisadores de excelência, que produziram trabalhos que serviram de base para o delineamento deste projeto.

A todos os colaboradores deste trabalho e colegas de grupo, professoras Márcia Cristina Breitzkreitz e Maria Gonzalez-Miquel, Thiago Gianetti, Jose Mendiola, Bárbara Socas-Rodríguez, Gerardo Alvarez-Rivera, José Pedro Wojeicchowski, Norelhouda Abderrezag, Dominik Soukup-Carne, Mariana Rodrigues da Silva, Júlia Assirati, Martín Silva, Lucas Chibli, Bruna Lima, dentre tantos outros.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelos auxílios 2018/21128-9, 2020/09500-0, e 2022/00645-0, fico extremamente orgulhoso e feliz por ter tido a oportunidade de ser um bolsista FAPESP.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela expansão e consolidação da pós-graduação no Brasil.

A todos funcionários que auxiliam na manutenção da estrutura que usufruímos para desenvolver as nossas pesquisas.

A Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", onde desenvolvi a grande parte da minha pesquisa. Espero que cada vez mais esta universidade possa se organizar e melhorar em todos os aspectos, há grandes potenciais dentro de sua estrutura.

Por fim, agradeço a todos que não mencionei neste curto texto. Muito mais que agradecimentos, também pretendo retribuir por tantos aprendizados, momentos felizes e oportunidades que venho recebendo.

A humildade é a ponte para a sabedoria

Frase proferida pelo Rabino David Weitman durante a palestra

“A importância da humildade”

RESUMO

Anualmente quantidades expressivas de subprodutos agrícolas são produzidas, os quais contêm diversos compostos bioativos. No caso da soja (*Glycine max* (L.) Merr.), estima-se que cerca de 651 milhões de toneladas de galhos, folhas, vagens e raízes serão deixados no solo após a colheita do grão em 2022/23. Esses subprodutos podem servir como uma fonte amplamente disponível e de baixo custo de metabólitos de alto valor agregado, como flavonoides, isoflavonoides e outros metabólitos. Os objetivos deste trabalho foram realizar a i) revisão acerca dos metabólitos presentes nas partes subutilizadas da soja (i.e., galhos, folhas, vagens e raízes), ii) extração, separação e identificação de uma ampla gama de metabólitos especializados presentes nos subprodutos agrícolas da soja deixados no solo pós-colheita do grão, e iii) geração de extratos contendo alto-conteúdo de compostos fenólicos por meio de solventes eutéticos naturais profundos (NADES) pressurizados (PLE). Por meio da revisão da literatura acerca da composição fitoquímica da soja pôde-se (i) identificar uma ampla gama e compostos bioativos, e subsequente, a análise metabolômica dos subprodutos da soja e (ii) demonstrar a presença de tais metabólitos em galhos, folhas, vagens e raízes deixadas no solo após a colheita do grão. A combinação da PLE e NADES (iii) gerou extratos com alto conteúdo de compostos fenólicos, além de possibilitar uma nova abordagem para a extração da fração lipídica da soja. Adicionalmente, está sendo realizada a extração seletiva de genisteína e apigenina utilizando-se ferramentas *in silico*, Hansen solubility parameters (HSP) e Conductor-like Screening MOdel for Real Solvents (COSMO-RS), e otimização por meio do planejamento experimental (DoE). Ao fim, propõe-se a agregação de valor aos subprodutos agrícolas da soja, demonstrando o potencial uso destes materiais como fonte de compostos bioativos.

Palavras chaves: *Glycine max*, subprodutos agrícolas, química verde, compostos bioativos, biorefinaria.

ABSTRACT

Annually a significant amount of agricultural by-products are produced, in which contain various bioactive compounds. In the case of soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.), and it is estimated that about 651 million tons of branches, leaves, pods and roots will be left in the soil after the grain harvest in 2022/23. These by-products can serve as a widely available, low-cost source of high-value-added metabolites such as flavonoids, isoflavones, and other metabolites. The objectives of this work were to perform i) a review of the metabolites present in the underutilized parts of soybean (i.e., branches, leaves, pods and roots), ii) extraction, separation and identification of a wide range of specialized metabolites present in soybean agricultural by-products left in the soil after harvest of soybeans, and iii) generation of extracts containing high content of phenolic compounds by means of deep natural eutectic solvents (NADES) pressurized (PLE). Through the review of the literature on the phytochemical composition of soybean it was possible to (i) identify a wide range of bioactive compounds, and subsequently, the metabolomic analysis of soybean by-products, and (ii) demonstrate the presence of such metabolites in branches, leaves, pods, and roots left in the soil. The combination of PLE and NADES (iii) generated extracts with high content of phenolic compounds, and additionally, enabled a new approach for the extraction of the lipid fraction from soybean. Additionally, selective extraction of genistein and apigenin is being performed using *in silico* tools, Hansen solubility parameters (HSP) and Conductor-like Screening MOdel for Real Solvents (COSMO-RS), and optimization through experimental design (DoE). Finally, it is proposed to add value to the agricultural by-products of soybean, demonstrating the potential use of these materials as a source of bioactive compounds.

Keywords: *Glycine max*, agricultural by-products, green chemistry, bioactive compounds, biorefinery.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
OBJETIVOS	13
Referências	14
CAPÍTULO I.....	15
Resumo.....	16
Palavras-chave:	16
1. Introdução	17
1.1. Metabolômica Aplicada aos Agroalimentares e seus Subprodutos.....	17
1.2. <i>Glycine max</i> : mais do que um grão	18
2. Metabolômica e soja: uma visão geral	19
3. Compostos bioativos nas partes subutilizadas da soja	21
3.1. Raízes	25
3.2. Folhas	25
3.3. Galhos/caule	26
3.4. Vagens.....	27
4. Compostos bioativos em subprodutos industriais do processamento da soja — uma visão geral e tendências.....	28
5. Conclusões e Perspectivas.....	29
Referências	30
CAPÍTULO II	49
Resumo.....	50
Introdução	51
Material e métodos.....	52
Reagentes e materiais	52
Material vegetal.....	52
Otimização de métodos por Design de Experimentos (DoE).....	53
Otimização do método de cromatografia líquida de alto desempenho acoplado à matriz de fotodiodos e espectrometria de massa (UHPLC-PDA/UV-MS)	53
Otimização do método da cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massa (GC-MS)	54
Otimização do método de maceração dinâmica de duas fases líquidas (2-Mac)	54
Cromatografia líquida de alto desempenho acoplada à espectrometria de massa de tempo de voo (UHPLC-QToF-MS/MS)	55
Cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massa de tempo de voo (GC-QToF-MS)	56
Resultados e discussão	57
Otimização de métodos analíticos.....	57

Otimização do método UHPLC-PDA/UV-MS	57
Otimização do método GC-MS	60
Otimização de uma maceração dinâmica de duas fases líquidas (2-Mac)	62
Aplicando as condições otimizadas para o perfil metabólico dos subprodutos de soja	65
Anotação de compostos nos extratos de EtOH-H ₂ O 7:3 (v/v) por UHPLC-ESI-QToF-MS/MS	67
Anotação de compostos nos extratos de n-heptano por GC-QToF-MS	79
Referências	87
CAPÍTULO III	97
Resumo	98
Introdução	99
Material e métodos	100
Produtos químicos	100
Material vegetal	101
Extração líquida pressurizada (PLE)	101
Primeira etapa PLE – Procedimento de desengorduramento	102
Segunda etapa PLE – Extração fenólica	103
Extração convencional e alternativa de subprodutos agro-soja	103
Maceração dinâmica como técnica de extração de referência (Mac)	103
Líquidos expandidos a gás (GXLs)	103
Determinação do conteúdo fenólico total (TPC)	104
Determinação do conteúdo flavonoide total (TFC)	104
Ensaio de atividade antioxidante – espécies reativas de oxigênio (ROS)	105
Cromatografia a gás acoplado à espectrometria de massa (GC-QToF-MS)	105
Cromatografia líquida de alto desempenho acoplada à espectrometria de massa (UHPLC-QToF-MS/MS)	106
Resultados e discussão	108
Primeira etapa – Desengorduramento da soja com <i>n</i> -heptano e solventes metálicos naturais alternativos (NaHDES)	108
Segunda etapa – Extração de compostos fenólicos	111
Análise dos subprodutos da soja e grão	114
Conclusão	119
Referências	120
PERSPECTIVAS FUTURAS E CONCLUSÃO	129
ANEXOS	130
MATERIAL SUPLEMENTAR - CAPÍTULO I	131
MATERIAL SUPLEMENTAR - CAPÍTULO II	208

MATERIAL SUPLEMENTAR - CAPÍTULO III	212
MATERIAL SUPLEMENTAR - CAPÍTULO IV	224

INTRODUÇÃO

Produtos naturais são fontes de compostos utilizados para o desenvolvimento de fármacos e fitoterápicos com diversas bioatividades, como anticancerígena, antifúngica e antibiótica, além de formularem a composição de alimentos funcionais [1,2]. Os subprodutos provenientes da produção agrícola da soja, cana de açúcar, laranja, café, entre outros, são exemplares de produtos naturais contendo alta variedade de metabólitos bioativos, e a ampla disponibilidade destes materiais favorece a sua utilização para a geração de extratos e produtos com alto valor agregado. Além disso, a utilização de tais materiais por meio de técnicas e metodologias sustentáveis e inovadoras, como sugerido pelos objetivos nove e 12 dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) propostos pela Organização das Nações Unidas (ONU), promovem o consumo e produção responsáveis. Adicionalmente, mitigam a geração resíduos ao meio ambiente e promovem o desenvolvimento tecnológico sustentável [3].

Alimentos de origem vegetal contêm diversos compostos com alto valor agregado e potenciais benefícios a saúde. Tais substâncias representam um expressivo e diverso conjunto de metabólitos especializados e vem sendo amplamente estudadas devido às suas propriedades protetivas contra doenças cardiovasculares, diabetes e neurodegenerativas [4]. Subprodutos agrícolas gerados a partir de diferentes alimentos e escalas de processamento (do campo ao fim da cadeia produtiva) estão diretamente correlacionados a massiva e crescente produção de alimentos. No entanto, a subutilização destes materiais, principalmente em usos com alto valor agregado, requer e projeta novas oportunidades sustentáveis e rentáveis. A soja (*Glycine max* (L.) Merr.), uma das principais cultura de sementes oleaginosas, é um exemplar com alto potencial para agregação de valor a partir do uso de seus subprodutos como fonte de compostos bioativos. Nesta tese apresenta-se um estudo abrangente acerca da caracterização metabólica e produção de extratos bioativos dos galhos, folhas, vagens e raízes da soja, subprodutos agrícolas deixados no solo no pós-colheita.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e otimizar procedimentos analíticos de extração, separação e análise a fim de identificar compostos orgânicos de alto valor agregado em subprodutos agrícolas da soja (folhas, galhos, vagens e raízes). Delineou-se a análise de tais materiais por meio da: i) revisão da literatura acerca da composição metabólica da soja, ii) identificação do maior número de compostos, iii) geração de extratos com elevado conteúdo de compostos fenólicos, iv) extração seletiva de genisteína/apigenina (Figura 1).

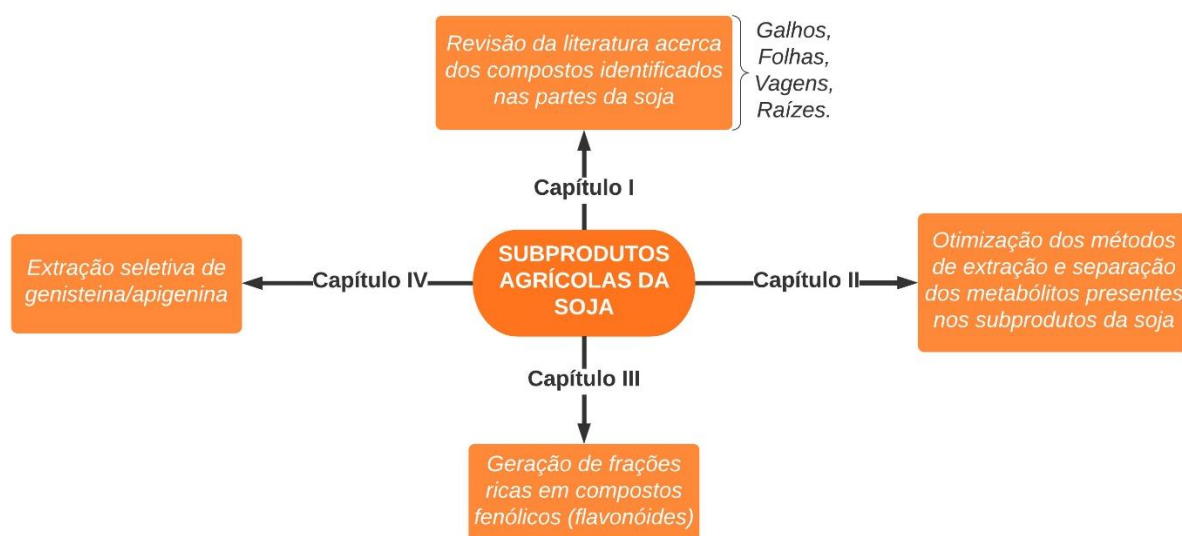


Figura 1. Objetivos referentes a cada etapa deste projeto.

Referências

1. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products* [Internet]. 2020 Mar 27 [cited 2022 May 15];83(3):770–803. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Guia para avaliação de alegação de propriedade funcional e de saúde para substâncias bioativas presentes em alimentos e suplementos alimentares [Internet]. 2021 [cited 2022 Jun 29]. Available from: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6358888/Guia+55_2021_vers%C3%A3o+1+de+25+11+2021.pdf/3e7d36b7-c14f-4feb-8028-041fb2fe78ac
3. UN DP. Goal 12: Responsible consumption and production [Internet]. United Nations Development Programme. 2016. Available from: <http://www.undp.org/content/undp/en/home/sustainable-development-goals/goal-12-responsible-consumption-and-production.html>
4. Ávila-Román J, Soliz-Rueda JR, Bravo FI, Aragonès G, Suárez M, Arola-Arnal A, et al. Phenolic compounds and biological rhythms: Who takes the lead? *Trends in Food Science & Technology*. 2021 Jul 1;113:77–85.

CAPÍTULO I

METABOLÔMICA COMO UMA FERRAMENTA PARA ESTUDAR AS PARTES SUBUTILIZADAS DA SOJA: EM BUSCA DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Metabolomics as a Tool to Study Underused Soy Parts: In Search of Bioactive Compounds

Felipe Sanchez Bragagnolo ^{1,2}, Cristiano Soleo Funari ¹, Elena Ibáñez ², and Alejandro Cifuentes ^{2*}

¹ School of Agricultural Sciences, São Paulo State University (UNESP), Botucatu 18610-034, SP, Brazil

² Laboratory of Foodomics, Institute of Food Science Research (CIAL-CSIC), 28049 Madrid, Spain

* Author to whom correspondence should be addressed.

Academic Editors: Mohamed Farag and Ludger A. Wessjohann

Foods 2021, 10(6), 1308; <https://doi.org/10.3390/foods10061308>

Received: 11 May 2021 / Revised: 1 June 2021 / Accepted: 3 June 2021 / Published: 7 June 2021

Resumo

A valorização dos subprodutos agroalimentares é essencial tanto do ponto de vista econômico quanto da sustentabilidade. A grande quantidade desses materiais causa problemas ao meio ambiente; no entanto, eles também podem gerar novos ingredientes e produtos valiosos que promovam efeitos benéficos na saúde humana. Estima-se que a produção de soja, a maior cultura de oleaginosa em todo o mundo, deixará cerca de 597 milhões de toneladas de galhos, folhas, vagens e raízes no solo pós-colheita em 2020/21. Uma alternativa para o uso de subprodutos relacionados à soja surge dos diversos compostos bioativos encontrados nesta planta. A partir da revisão bibliográfica exposta neste trabalho demonstra-se a presença de uma ampla variedade de isoflavonóides, flavonoides, terpenos e outras substâncias em galhos/caules de soja, folhas, vagens e raízes, fornecendo novos potenciais ao uso desses materiais subutilizados como fonte de compostos bioativos, bem como os fatores que afetam sua produção.

Palavras-chave: *Glycine max*; Foodômica; Resíduos Agrícolas.

1. Introdução

1.1. Metabolômica Aplicada aos Agroalimentares e seus Subprodutos

As plantas têm sido utilizadas na produção de alimentos, energia, biomateriais, e como fonte de compostos bioativos. A metabolômica emergiu como um dos principais contribuintes para aprimorar a identificação desses compostos, gerando descobertas inovadoras e apoiando o desenvolvimento de novos produtos [1]. O progresso em técnicas eficientes de extração, como ultrassom (UAE), micro-ondas (MAE) e extrações assistidas em campo elétrico pulsado (PEF), bem como extrações de fluidos supercríticos (SFE) e líquidos pressurizados (PLE), entre outros, gera extratos com maior rendimento e bioatividade [2-6]. Uma vez gerados esses extratos, eles podem ser analisados por uma ou mais técnicas de cromatografia e/ou eletroforese acopladas à espectrometria de massa (MS) ou ressonância magnética nuclear (RMN), produzindo informações químicas sobre um grande número de compostos [7-12]. Para a identificação de metabólitos, os bancos de dados têm sido cada vez mais atualizados, cruzando informações de diferentes bibliotecas. Sorokina e Steinbeck [13] listam quase 100 bancos de dados para pesquisa de produtos naturais. Além disso, redes moleculares sociais de produtos naturais globais (GNPS) e tecnologia de reconhecimento preciso de pequenas moléculas (SMART 2.0) são exemplos de ferramentas *in silico* para a análise de dados de MS e NMR, respectivamente [14-16]. Todas essas modernas técnicas e ferramentas apoiam o avanço das fronteiras da metabolômica.

Em 2019, mundialmente foram produzidas 8,3 bilhões de toneladas de cereais, raízes e tubérculos, culturas de açúcar e hortaliças [17]. No entanto, estima-se que um terço da produção de alimentos seja perdida e desperdiçada, sendo este problema correlacionado a Meta 12 dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU) [18-20]. Nesse contexto, a foodômica pode ser aplicada não só no estudo de alimentos, mas também de seus subprodutos relacionados, como fontes de compostos com benefícios para a saúde humana [21,22]. Por exemplo, Katsinas et al. [23] usaram dióxido de carbono supercrítico e extrações líquidas pressurizadas para valorizar subprodutos de oliva, gerado pelo processamento do azeite. Como resultado, geraram extratos bioativos ricos em compostos fenólicos. Assirati et al. [24] aplicaram uma abordagem metabolômica na investigação química dos três principais subprodutos da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* (L.)), levando à identificação de até 111 metabólitos, com vários desses compostos já conhecidos por suas potentes propriedades bioativas, como 1-octacosanol, octacosanal, orientina e apigenina-6-C-glucosylrhamnosideo. Os subprodutos de suco de laranja (*Citrus*

sinensis (L.)) apresentaram potencial antioxidante e neuroprotetor em ensaios in vitro, como revelado por Sánchez-Martínez et al. [25]. Quanto à permeabilidade da barreira hematoencefálica, alguns terpenos do extrato laranja demonstraram uma alta capacidade de atravessar esse obstáculo, que é um ponto crítico para o tratamento da doença de Alzheimer [25,26].

1.2. *Glycine max*: mais do que um grão

A soja (*Glycine max* (L.) Merr) é originária da China e do Leste asiático [27]. É a maior cultura oleaginosa em todo o mundo, com uma produção mundial de 362, 254 e 61 milhões de toneladas de grãos de soja, farinha e óleo, respectivamente, em 2020/21. No mesmo período, a área global colhida foi de 1,28 milhão de km², 2,5 vezes a área da Espanha [28,29]. A Figura 1 mostra a produção de soja de 2000/01 a 2020/21, demonstrando crescimento consistente, com poucos momentos de queda [29,30].

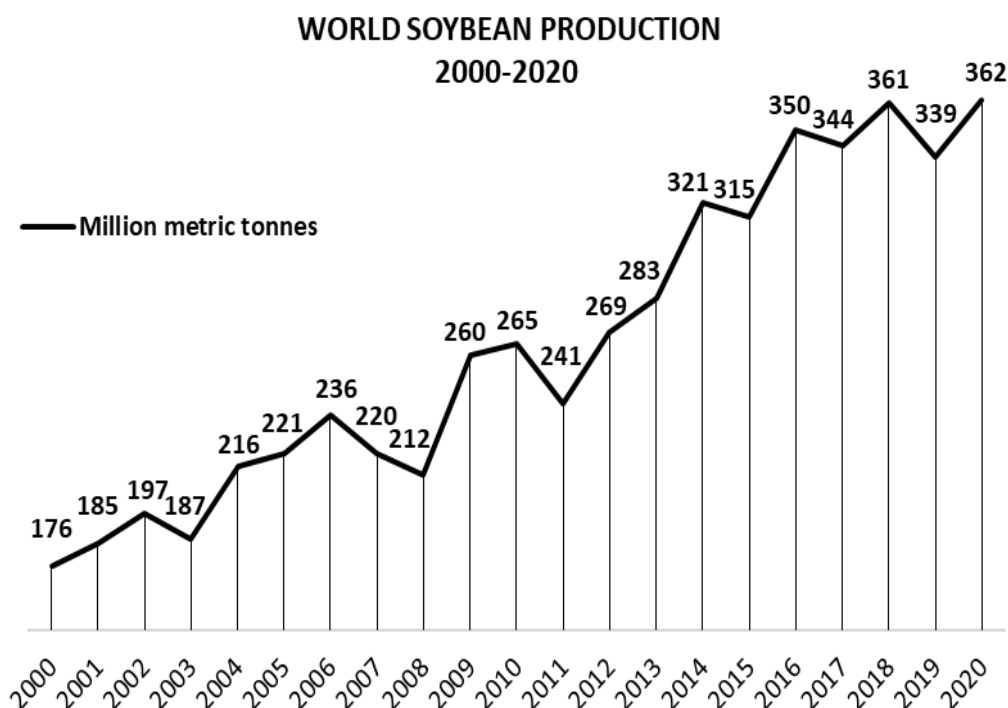


Figura 1. Produção mundial de soja 2000-2020, em milhões de toneladas.

No entanto, essa produção envolve apenas uma parte da *G. max*: o grão. Krisnawati e Adie [31] analisaram 29 genótipos de soja e encontraram um valor médio de 1,65 para a relação palha: grão na soja. Estima-se, portanto, que cerca de 597 milhões de toneladas de soja, folhas, vagens e raízes serão deixadas no solo após a colheita em 2020/21 [29,31]. A Figura 2 mostra o solo de uma produção de soja sem plantio, um sistema que deixa todas as peças de soja

subutilizados no chão. Manter esses materiais no solo contribui para fatores minerais, orgânicos e umidade [32]. Em contrapartida, problemas relacionados à maior infestação de erva e doenças, bem como emissões de gases de efeito estufa causadas pela decomposição da matéria orgânica, exigem uma gestão alternativa da palha agrícola [33-38]. Aplicando uma abordagem de biorefinaria, tais subprodutos poderiam ser transformados em matéria-prima para a extração de vários compostos bioativos.



Figura 2. Partes da soja subutilizadas deixadas no solo logo após a colheita do grão.

Baseando-se no potencial das partes subutilizadas da soja, esta revisão tem como objetivo mostrar a aplicação da metabolômica na análise da soja, listando o potencial desses subprodutos como fonte de compostos de alto valor agregado, bem como os fatores que afetam sua produção.

2. Metabolômica e soja: uma visão geral

A soja é reconhecida como uma planta medicinal por contém vários compostos bioativos. Por exemplo, peptídeos bioativos encontrados na soja têm sido ligados a benefícios para a saúde humana com potenciais propriedades anti-hipertensivas, anticâncer e anti-inflamatórias [39]. Outro tipo de composto bioativo identificado na soja, as antocianinas, apresentou propriedades antiobesidade e anti-inflamatórias [40]. Isoflavonoides, a classe mais conhecida de compostos encontrados em todas as partes da soja, têm sido estudados devido aos seus potenciais efeitos protetores associados a doenças crônicas, câncer, osteoporose e sintomas da menopausa [41-47].

Diferentes fatores modulam o metabolismo de uma planta, e a metabolômica pode medir essas variações qualitativa e quantitativamente, analisando a produção e interconversão dos metabólitos primários e secundários (especializados) [48-50]. Na soja, estudos de metabolômica identificaram quatro principais causas de variabilidade no metabolismo:

modificações genéticas, interações com organismos, estágios de crescimento e fatores abióticos. Modificações genéticas podem estar relacionadas a diferentes espécies e cultivar/variedade de soja. Lu et al. [51] investigaram as alterações metabólicas entre duas espécies de soja (*Glycine max* e *Glycine soja* Siebold & Zucc) sob estresse salino. Usando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) e cromatografia líquida acoplada transformada de Fourier e espectrometria de massa (LC-FT/MS), os autores encontraram um maior teor de hormônios, espécies de oxigênio reativos e outras substâncias relacionadas à condição de estresse à salinidade. Em outro estudo, *G. max* e *Glycine gracilis* Skvortsov) apresentaram diferentes perfis de metabólitos secundários (especializados) durante a fase de crescimento, conforme revelado por uma abordagem metabolômica baseada em RMN de ¹H [52]. O avanço da biologia molecular proporciona o desenvolvimento de uma ampla gama de cultivares ou variedades de soja, com novos tipos de plantas resistentes contra insetos, estresse abiótico e outros fatores. O banco de dados do Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos (USPTO) revela 4.869 patentes para uma pesquisa de "cultivar de soja" ou "variedade de soja" [53]. Diferentes tipos de soja, como marrom, amarelo ou preto, apresentam perfis metabólicos específicos [54-56]. Isoflavonas são relacionadas a ser o substrato para a produção de proanthocianidina na casca das sementes, sendo uma possível causa para a cor marrom da cultivar Mallikong mutante [55]. Yang et al. [56] identificaram níveis mais elevados de antocianina e proteína em sementes no cotilédone amarelo na soja preta. Em contraste, níveis mais elevados de isoflavona, ácido estearico e polissacarídeo estão relacionados com as sementes de cotilédone verde da mesma espécie. Dois cultivares coreanas de soja, Sojeongja e Haepum, apresentaram diferentes níveis de soyasaponinas Aa e Ab, cuja produção está relacionada a variações genéticas específicas [57]. Outro fator importante na modificação genética é a soja transgênica. García-Villalba et al. [58] usaram a espectrometria de massa capilar (CE-TOF-MS) para medir qualitativa e quantitativamente os metabólitos da soja transgênica e não transgênica. Em resumo, foram identificados tipos semelhantes e quantidades de metabólitos. O mesmo resultado foi alcançado por Harrigan et al. [59] e Clarke et al. [60]. No entanto, relata-se que a soja transgênica foi menos afetada pelos efeitos geracionais e pode apresentar mais metabólitos secundários, como isoflavonas preniladas [61,62].

Além disso, a interação entre soja e microrganismos, nematoides, pulgões e outros insetos causa respostas metabólicas distintas, e a metabolômica é uma abordagem para analisar tais mudanças, fornecendo insights para melhorar a resposta da soja contra fatores bióticos [63-80]. Trabalhos recentes usaram o GNPS para identificar a variação metabólito na soja infectada

pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* e pelo nematoide *Aphelenchoides besseyi* [78-80]. Ambos os patógenos resultaram em uma maior produção de compostos bioativos, como flavonoides, isoflavonóides e terpenóides.

Respostas metabólicas distintas também foram relatadas para cada estágio de crescimento da soja [81-83]. Durante a germinação, 58 metabólitos foram relatados na separação de brotos de soja, como fitoesteroides, isoflavonas e soyasaponinas [84]. A produção de metabólitos secundários como daidzeína, genisteína e coumestrol também mudou nos estágios vegetativos e reprodutivos da soja, como descrito por Song et al. [85].

A presença de culturas de soja em uma ampla gama de latitudes e longitudes é consequência de várias mudanças adaptativas em seu metabolismo. O Brasil, que é o maior produtor de soja, apresenta diferentes tipos de solo e clima; mesmo assim, há produção de soja em todas as suas regiões. Este fato corrobora o alto desempenho da soja em várias condições abióticas. Além disso, o uso de tratamentos com fertilizantes e outros insumos agrícolas para o cultivo de soja em condições desfavoráveis, causa modificações adicionais no metabolismo da soja [86-94]. Como exemplo de tratamentos externos, a aplicação de etileno nas folhas de soja aumentou a produção de genisteína, daidzeína, malonylgenisteína e malonyldaidzeína [94]. Utilizando dois métodos de ionização, ionização eletrospray (ESI) e ionização de desorção a laser assistida por matriz (MALDI), acoplado à espectrometria de massa de ressonância de íon ciclotron com transformação de Fourier (FTICR-MS), Yilmaz et al. [95] analisaram o perfil metabólico das folhas de soja do meio do verão ao outono. Eles encontraram uma diminuição da produção de clorofila e metabólitos relacionados a sua produção e um nível mais alto de dissacarídeos do verão ao outono. Outra abordagem metabolômica analisou folhas de soja de culturas com diferentes localizações geográficas e identificou diferentes quantidades de metabólitos como pinitol e flavonoides [96]. Uma ampla revisão realizada por Feng et al. [97] resume o uso de metabolômica na soja sob estresse abiótico.

3. Compostos bioativos nas partes subutilizadas da soja

Além das quatro principais causas de mudança no metabolismo da soja mencionadas acima, são esperadas variações metabólicas qualitativas e quantitativas entre os órgãos de soja. Para apresentar uma visão geral do perfil metabólito das partes subutilizadas da soja, selecionamos trabalhos que aplicaram a metabolômica para analisá-las [38,67,78-80,93,94,98-108]. Utilizando Jchem (JChem para Excel 21.1.0.787, ChemAxon (<https://www.chemaxon.com>) [109] e ClassyFire [110], foi gerado o SMILE de cada composto

pela função SMILE do Jchem para posteriormente classificá-los (i.e., Classyfire) os metabólitos identificados em raízes de soja, folhas, galhos e vagens, conforme apresentado na Tabela S1-S4, respectivamente (ANEXO I). A Figura 3 resume as classes mais conhecidas de compostos bioativos identificados nas partes subutilizadas da soja. Os ácidos carboxílicos e seus derivados, i.e., compostos contendo um grupo ácido carboxílico com a fórmula -C(=O)OH ou um derivado, como aminoácidos, peptídeos e análogos, são as classes mais mencionadas de compostos. Esta classe é composta principalmente de metabólitos primários; no entanto, também contém vários compostos bioativos. Da mesma forma, compostos organo-oxigenados, i.e., compostos, tanto alifáticos como aromáticos, que possuem uma ligação C-O, incluindo álcoois, aldeídos, dentre outros, e ácidos graxos também incluem metabólitos com benefícios para a saúde humana. Isoflavonóides, que são a classe mais mencionada de metabólitos secundários, bem como lipídios de prenol e flavonoides, têm sido sugeridos para ter uma ampla gama de usos medicinais. Com foco em metabólitos secundários, os lipídios de prenol, i.e., classe de compostos sintetizados a partir dos precursores de 5 carbonos: difosfato de isopentenilo e difosfato de dimetilalilo, representa a classe mais identificada de compostos em raízes de soja, com várias soyasaponinas encontradas nesta parte. Nas folhas de soja, foram encontradas diferentes subclasses de isoflavonóides, como isoflavonóides O-glicosilados, isoflavonas, isoflav-2-enes, entre outros. Os perfis metabólicos dos galhos e vagens de soja têm sido menos estudados; no entanto, aproximadamente 20 flavonoides e isoflavonóides foram identificados em cada parte. Outras classes de compostos, como esteroides e derivados de esteroides, cumarinas e derivados, e ácidos cinâmicos e derivados, foram encontrados em partes subutilizadas de soja.

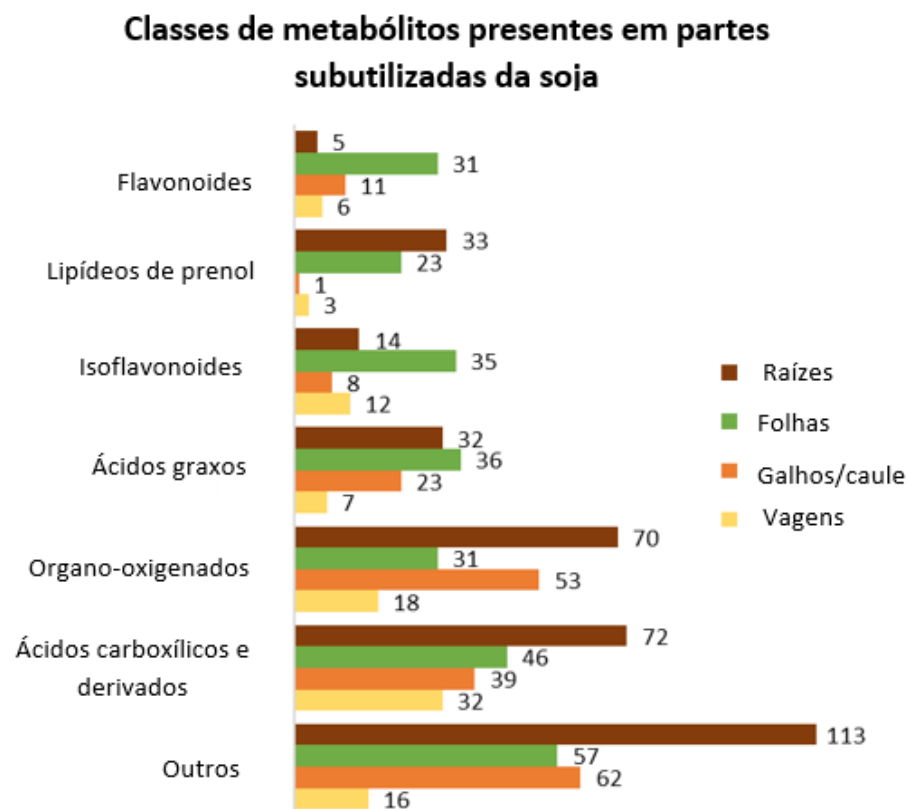


Figura 3. Classificação dos metabólitos identificados em raízes de soja, folhas, galhos e vagens de acordo com o ClassyFire.

A Tabela 1 apresenta 38 isoflavonóides identificados em uma ou mais das partes de soja acima mencionadas. Oito deles (daidzeína, genisteína, glyciteína, daidzina, genistina, glycitina, malonyldaidzina e malonylgenistina) foram relatados em todos os órgãos de soja. Trabalhos recentes mostraram atividades biológicas promissoras de daidzeína contra câncer de cólon e vírus da hepatite C [111,112]. Daidzina, que é uma forma glico-conjugada de daidzeína, apresentou propriedades terapêuticas contra mieloma múltiplo e epilepsia [113,114]. Estudos de bioatividade sobre os outros compostos acima mencionados também encontraram propriedades contra inflamação vascular crônica, câncer gástrico humano, câncer de mama e doenças articulares degenerativas [115-117]. Biochanina A, coumestrol, gliceollina, medicarpina e ononina são mais exemplos de isoflavonóides bioativos amplamente conhecidos que são encontrados em diferentes órgãos de soja (ver Tabela 1 para um resumo) [118-122]. Carneiro et al. [38] quantificaram seis isoflavonas em galhos de soja, folhas, vagens e grãos coletados logo após a colheita mecânica. Quase 3 kg de isoflavonas foram encontrados por tonelada de folhas de soja. No entanto, menos de 1 kg por tonelada foi encontrado em galhos e

vagens de soja. No grão, que é o principal produto desta planta, foi de aproximadamente 2 kg por tonelada.

Tabela 1. Isoflavonoides identificados em galhos (G), folhas (F), vagens (V), e raízes (R).

Nome	Fórmula	G	F	V	R	Referência
2'-hidroxidaidzeína	C ₁₅ H ₁₀ O ₅		X			[80]
7,3',4'-trihidroxiisoflavona	C ₁₅ H ₁₀ O ₅				X	[79]
7-O-methilluteona	C ₂₁ H ₂₀ O ₆		X			[78]
acetil daidzina	C ₂₂ H ₂₂ O ₉			X		[104]
acetil genistina	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₁		X	X		[94,104]
acetil glicitina	C ₂₄ H ₂₄ O ₁₁			X		[104]
afrormosin 7-O-glucosideo	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₀		X			[80]
biochanina A	C ₁₆ H ₁₂ O ₅		X			[80]
biochanina A 7-O-D-glucosideo	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀		X			[80]
biochanina A 7-O-glucosideo-6''-O-malonato	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₃		X			[80]
calicosina	C ₁₆ H ₁₂ O ₅		X			[80]
coumestrol	C ₁₅ H ₈ O ₅		X		X	[79,80,101]
daidzeína	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	X	X	X	X	[38,78–80,94,98,101,103,104,106–108]
daidzina	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	X	X	X	X	[38,78–80,94,98,101,103,104,107,108]
formononetina	C ₁₆ H ₁₂ O ₄		X			[80,102]
formononetin 7-O-glucosideo	C ₂₂ H ₂₂ O ₉		X		X	[79,80]
formononetin 7-O-glucoside-6''-malonateo	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂		X			[78,80,94]
formononetin 7-O-glucoside-6-O-malonateo	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂		X		X	[78,79]
genisteína	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	X	X	X	X	[38,79,94,98,104,108]
genistina	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	X	X	X	X	[38,78,79,94,101,104,107,108]
gliceollidina I/II	C ₂₀ H ₂₀ O ₅		X			[80]
gliceollina I	C ₂₀ H ₁₈ O ₅		X			[78,80]
gliceollina II	C ₂₀ H ₁₈ O ₅		X			[78,80]
gliceollina III	C ₂₀ H ₁₈ O ₅		X			[78,80]
gliceollina IV	C ₂₁ H ₂₂ O ₅		X			[80]
gliceollina VI	C ₂₀ H ₁₆ O ₄		X			[80]
gliciteína	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	X	X	X	X	[38,80,98,104,108]
gliciteína 7-O-glucosideo	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀		X			[80]
glicitina	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	X	X	X	X	[38,79,101,104,108]
isotrifoliol	C ₁₆ H ₁₀ O ₆		X			[80]
malonildaizina	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₂	X	X	X	X	[38,78–80,94,101,103,104,107,108]
malonilgenistina	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃	X	X	X	X	[78–80,94,101,104,107,108]
malonilglicitina	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₃		X	X	X	[80,94,104,108]
medicarpina	C ₁₆ H ₁₄ O ₄		X			[80]
neobavaisoflavona	C ₂₀ H ₁₈ O ₄		X		X	[78,79]
phaseollina	C ₂₀ H ₁₈ O ₄		X			[80]
pisatina	C ₁₇ H ₁₄ O ₆		X			[80]
sojagol	C ₂₀ H ₁₆ O ₅		X			[78,80]

3.1. Raízes

Diferentes compostos pertencentes à categoria lipídios de prenol, reconhecidos por sua bioatividade, foram identificados na soja. A Tabela S1 contém 339 compostos encontrados em raízes de soja, dos quais 33 são desta classe [79,93,98,101,103,106,108]. Tsuno et al. [108] identificaram várias soyasaponinas, sapogeninas e isoflavonas em exsudatos de raiz de soja. As soyasaponinas têm propriedades supressoras da lipogênese, antioxidantes e anti-inflamatórias, bem como efeitos preventivos no acúmulo hepático de triaciglicerol [123-126]. Omar et al. [127] identificaram os potentes efeitos inibitórios do soyasapogenol A, um triterpenóide, contra metástase em células cancerosas p53. Além disso, outros compostos de diferentes classes, como ácidos graxos, isoflavonóides, flavonoides, entre outros, são apresentados na Tabela S1. O ácido linoleico, a naringenina e a formononetina-7-O-glucoside, exemplos das classes acima citadas, têm sido relacionados à saúde cardiovascular, efeitos neuroprotetores e propriedades anti-inflamatórias [128-130]. As estruturas químicas desses compostos bioativos são apresentadas na Figura 4.

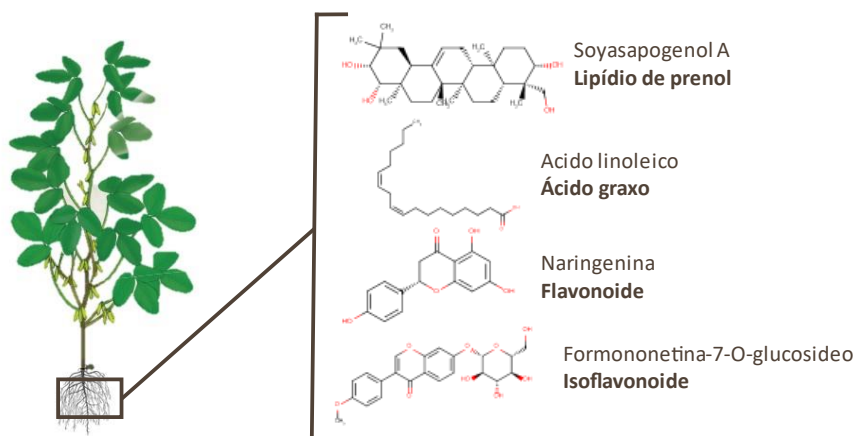


Figura 4. Estruturas químicas de soyasapogenol A, ácido linoleico, naringenina e formononetina-7-O-glucoside, que são exemplos de compostos bioativos identificados em raízes de soja.

3.2. Folhas

Folhas e raízes são as partes subutilizadas da soja mais estudadas. Na Tabela S2, são

apresentados 259 metabólitos de 32 classes identificadas em folhas de soja [38,78,80,94.98.101-103.106]. Quase 90 desses compostos são flavonoides, isoflavonóides, ou lipídios de prenol. Flavonoides bioativos amplamente conhecidos como apigenina, kaempferol, rutina, entre outros também foram identificados. A apigenina é sugerida como um potencial agente anticâncer [131]. Gliceolina I (isoflavonóide) e soyasaponina I (lipídio de prenol) apresentaram atividades contra o câncer de mama e doença de Parkinson, respectivamente [132.133]. Além disso, diferentes soyasaponinas e trigonellina (alcaloide) foram encontradas nesta parte da planta. Por exemplo, a última substância foi relatada como ter potencial para terapia de câncer de pulmão, recuperação da função de memória e efeito antiobesidade [134-136]. A Figura 5 mostra as estruturas químicas dos metabólitos acima mencionados.

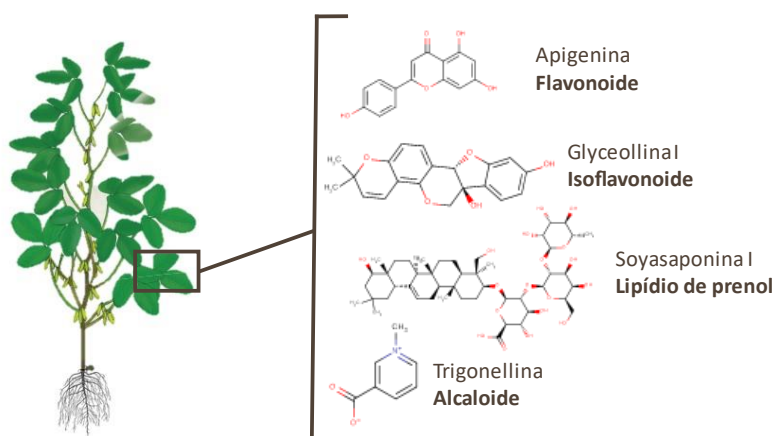


Figura 5. Estruturas químicas de apigenina, gliceolina I, soyasaponina I e trigonellina, que são exemplos de compostos bioativos identificados em folhas de soja.

3.3. Galhos/caule

Nos galhos de soja, foram identificados 197 compostos, conforme apresentado na Tabela S3 [38,67,98.99.101]. A classe mais amplamente relatada entre esses metabólitos é a categoria de compostos organo-oxigenados (53 compostos), como álcoois e polióis, carboidratos e seus conjugados (Tabela S3). O ácido chiquímico, um exemplo de um composto organo-oxigenado, tem efeitos terapêuticos de prevenção à osteoartrite [137]. Metabólitos de outras classes, como ácidos succínico e esteárico, apresentaram efeito apoptótico na leucemia linfoblástica aguda de células T e atividade antifibrótica, respectivamente [138.139]. Flavonoides e isoflavonóides, como 7,4'-dihidroxiflavona e glicitina, apresentaram atividade

contra doenças pulmonares [140,141]. As estruturas químicas desses compostos são mostradas na Figura 6.

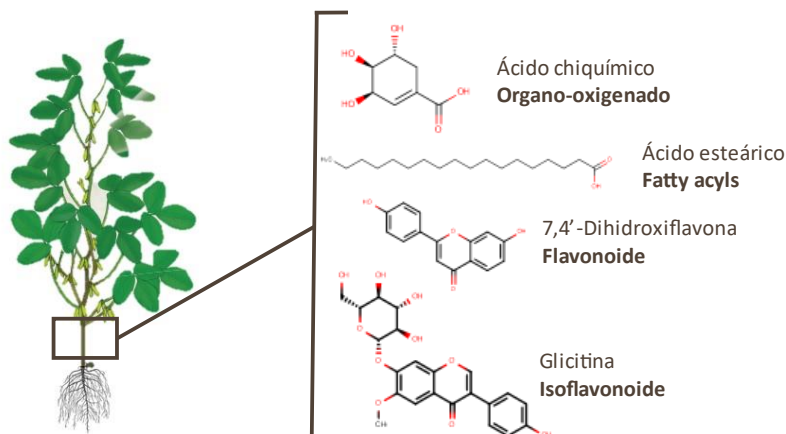


Figura 6. Estruturas químicas de ácido chiquímico, ácido esteárico, 7,4'-dihidroxyflavone, e glicitina, que são exemplos de compostos bioativos identificados em galhos de soja.

3.4. Vagens

Da mesma forma que os galhos, há poucos trabalhos metabolômicos identificando metabólitos em vagens de soja [38,98,100,104,105,107]. Aminoácidos, peptídeos e ácidos mono, di-, di-, e tricarboxílicos e seus derivados são os tipos de compostos mais mencionados em vagens, como mostrado na Tabela S4, com algumas dessas substâncias já amplamente utilizadas na indústria, como ácidos cítrico e fumárico. Além disso, metabólitos especializados como canfeno e α -pineno apresentam efeitos contra a atrofia muscular esquelética e neuroprotetores, respectivamente [142,143]. A quercetina, um flavonoide amplamente conhecido, apresenta efeitos anti-inflamatório com potencial uso em pacientes com COVID-19, como descrito por Saedi-Boroujeni e Mahmoudian-Sani [144]. O ácido hexadecanoico (ácido graxo) contém efeito inibidor nas células cancerígenas do cólon humano HT-29 [145]. A Figura 7 apresenta as estruturas químicas de um composto de cada classe mencionada. Além disso, foram identificados outros ácidos graxos, flavonoides, isoflavonoides em vagens de soja, resultando nos 94 metabólitos apresentados na Tabela S4.

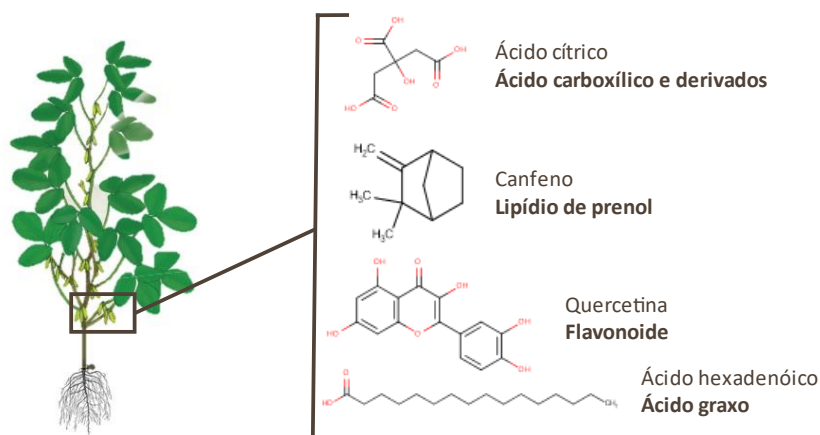


Figura 7. Estruturas químicas de ácido cítrico, campheno, quercetina e ácido hexacanocano, que são exemplos de compostos bioativos identificados em vagens de soja.

4. Compostos bioativos em subprodutos industriais do processamento da soja — uma visão geral e tendências

As partes subutilizadas da soja não são os únicos subprodutos deste grão. A soja é transformada em diferentes produtos, como farinha, óleo, tofu, molho de soja e leite de soja. Esses processos geram subprodutos com diversas aplicações, e seu uso como fontes de compostos bioativos é uma excelente oportunidade para desenvolver novos ingredientes e produtos com benefícios para a saúde. Além disso, extrações verdes desses materiais proporcionam resultados mais sustentáveis e valiosos. A casca do grão da soja representa aproximadamente 8% do grão e é um dos subprodutos gerados pela farinha de soja e produção de óleo [146]. Utilizando uma abordagem sustentável para valorizar a casca da soja, Cabezudo et al. [147] otimizaram a hidrólise alcalina para extração de polifenóis e testaram uma fermentação com a *Aspergillus oryzae* e hidrólise utilizando α -amilase. Neste trabalho, ácidos fenólicos, antocianinas e isoflavonas foram identificados por LC-MS, demonstrando o grande potencial do casco de soja como fonte de compostos antioxidantes. O farelo de soja é um subproduto da produção de seu óleo. A caracterização do farelo de soja demonstrou maior capacidade antioxidante e teor de fenólicos totais, flavonoides e saponinas do que em grãos não processados [148]. Além disso, foram identificadas diferentes formas de isoflavonas, como β -glucosil, glucosil glucosilado, acetil glucosilado e agliconas, bem como três soyasaponinas do grupo B. Alvarez et al. [149] otimizaram uma extração de fluido supercrítico verde utilizando CO_2 e etanol para analisar o farelo de soja, resultando em extratos com propriedades

antioxidantes e maior teor de fenóis e flavonoides. Freitas et al. [150] também utilizaram extração verde para obter um extrato aquoso de farinha de soja com alta inibição de peroxidação lipídica, identificando 16 fenólicos no extrato. Okara e soro de soja, que são subprodutos da produção de soja e tofu, também têm sido usados como fonte de compostos bioativos. Nkurunziza et al. [151] extraíram diferentes isoflavonas agliconas de okara usando água subcrítica. Além disso, Nile et al. [152] encontraram um alto nível de isoflavonas em okara, bem como atividades potenciais antioxidantes, anti-inflamatórias e inibição enzimática. Liu et al. [153] usaram o fracionamento de espuma e hidrólise ácida para remover proteínas do soro de soja, gerando extratos com alto nível de isoflavonas agliconas. Outros usos para e informações sobre soro de soja são descritos por Chua e Liu [154] e Davy e Vuong [155].

Além disso, os avanços da biotecnologia produzem novas oportunidades para desenvolver produtos fermentados de soja com mais benefícios para a saúde [156-159]. Além disso, a metabolômica contribui para uma melhor compreensão da biotransformação dos compostos bioativos [160]. Como substrato para microrganismos, okara tem sido amplamente utilizado em diferentes meios fermentados [161-166]. *Rhizopus oligosporus*, *Bacillus subtilis* WX-17 e *Eurotium cristatum* foram utilizados para fermentação de okara, resultando em produtos com maior bioatividade, composição nutricional e potencial antidiabético [161-166]. Além disso, foram identificados níveis mais elevados de fenólicos, flavonoides e substâncias biotransformadas. A fermentação de outros subprodutos de soja, como farinha, soro e casco, demonstrou grande potencial para melhorar a bioatividade dos produtos finais [167-173].

5. Conclusões e Perspectivas

A soja é a maior cultura de oleosidade em todo o mundo, e sua grande produção gera uma enorme quantidade de subprodutos. A presença de isoflavonóides, flavonoides, terpenos e outras substâncias em galhos ou caules de soja, folhas, vagens e raízes, fornece insights sobre o uso desses materiais subutilizados como fonte de compostos bioativos. Em contrapartida, permanecem os desafios para a valorização desses subprodutos. Uma abordagem multi-ômica, proposta pela foodômica, pode facilitar o uso das partes da soja para transformá-las em um produto, aumentando a segurança e a qualidade de todos os processos e produtos envolvidos. Além disso, estudos metabolômicos da soja têm se concentrado em órgãos específicos, bem como modificações metabólicas, resultando em um perfil metabólico incompleto de todas as partes de soja. Em resumo, nossa revisão demonstra o uso extensivo da metabolômica na pesquisa de soja e como este trabalho pode fornecer novas informações para usos alternativos das partes subutilizadas da soja com maior valor agregado. Curiosamente, nosso trabalho

também mostra que existem muitos compostos de soja que ainda precisam ser investigados por sua potencial bioatividade e possíveis benefícios para a saúde.

Além disso, mais estudos sobre a avaliação do ciclo de vida (LCA) da cadeia de fornecimento de soja são necessários para analisar possíveis problemas relacionados à alta quantidade de subprodutos que são deixados no solo após a colheita. Problemas ambientais como a contaminação do solo e da água podem ocorrer devido à presença de diversos compostos bioativos presentes nesses subprodutos agrícolas. O uso da extração verde e da biotecnologia podem ser alternativas viáveis para o reuso desses materiais.

Referências

1. Atanasov, A.G.; the International Natural Product Sciences Taskforce; Zotchev, S.B.; Dirsch, V.M.; Supuran, C.T. Natural products in drug discovery: Advances and opportunities. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2021**, *20*, 200–216, doi:10.1038/s41573-020-00114-Z.
2. Chemat, F.; Vian, M.A.; Fabiano-Tixier, A.-S.; Nutrizio, M.; Jambrak, A.R.; Munekata, P.E.S.; Lorenzo, J.M.; Barba, F.J.; Binello, A.; Cravotto, G. A review of sustainable and intensified techniques for extraction of food and natural products. *Green Chem.* **2020**, *22*, 2325–2353, doi:10.1039/c9gc03878g.
3. Armenta, S.; Garrigues, S.; Esteve-Turrillas, F.A.; de la Guardia, M. Green extraction techniques in green analytical chemistry. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2019**, *116*, 248–253, doi:10.1016/j.trac.2019.03.016.
4. Alvarez-Rivera, G.; Bueno, M.; Ballesteros-Vivas, D.; Mendiola, J.A.; Ibañez, E. Pressurized liquid extraction. In *Liquid-Phase Extraction*; Poole, C.F., Ed.; Handbooks in Separation Science; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2019; pp. 375–398, ISBN 9780128169117.
5. Chai, Y.; Yusup, S.; Kadir, W.; Wong, C.; Rosli, S.; Ruslan, M.; Chin, B.; Yiin, C. Valorization of Tropical Biomass Waste by Supercritical Fluid Extraction Technology. *Sustainability* **2020**, *13*, 233, doi:10.3390/su13010233.
6. Sánchez-Camargo, A.D.P.; Parada-Alonso, F.; Ibañez, E.; Cifuentes, A. Recent applications of on-line supercritical fluid extraction coupled to advanced analytical techniques for compounds extraction and identification. *J. Sep. Sci.* **2019**, *42*, 243–257, doi:10.1002/jssc.201800729.

7. Keppler, E.A.H.; Jenkins, C.; Davis, T.J.; Bean, H.D. Advances in the application of comprehensive two-dimensional gas chromatography in metabolomics. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2018**, *109*, 275–286, doi:10.1016/j.trac.2018.10.015.
8. Pirok, B.W.J.; Stoll, D.R.; Schoenmakers, P.J. Recent Developments in Two-Dimensional Liquid Chromatography: Fundamental Improvements for Practical Applications. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 240–263, doi:10.1021/acs.analchem.8b04841.
9. Alvarez, G.; Montero, L.; Llorens, L.; Castro-Puyana, M.; Cifuentes, A. Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and Foodomics. *Electrophoresis* **2018**, *39*, 136–159, doi:10.1002/elps.201700321.
10. Alvarez-Rivera, G.; Ballesteros-Vivas, D.; Parada-Alfonso, F.; Ibañez, E.; Cifuentes, A. Recent applications of high resolution mass spectrometry for the characterization of plant natural products. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2019**, *112*, 87–101, doi:10.1016/j.trac.2019.01.002.
11. Aksenov, A.A.; Da Silva, R.; Knight, R.; Lopes, N.P.; Dorrestein, P.C. Global chemical analysis of biology by mass spectrometry. *Nat. Rev. Chem.* **2017**, *1*, 0054, doi:10.1038/s41570-017-0054.
12. McAlpine, J.B.; Chen, S.-N.; Kutateladze, A.; MacMillan, J.B.; Appendino, G.; Barison, A.; Benididir, M.A.; Biavatti, M.W.; Bluml, S.; Boufridi, A.; et al. The value of universally available raw NMR data for transparency, reproducibility, and integrity in natural product research. *Nat. Prod. Rep.* **2019**, *36*, 35–107, doi:10.1039/c7np00064b.
13. Sorokina, M.; Steinbeck, C. Review on natural products databases: Where to find data in 2020. *J. Chemin* **2020**, *12*, 1–51, doi:10.1186/s13321-020-00424-9.
14. Medema, M.H. The year 2020 in natural product bioinformatics: An overview of the latest tools and databases. *Nat. Prod. Rep.* **2021**, *38*, 301–306, doi:10.1039/d0np00090f.
15. Nothias, L.-F.; Petras, D.; Schmid, R.; Dührkop, K.; Rainer, J.; Sarvepalli, A.; Protsyuk, I.; Ernst, M.; Tsugawa, H.; Fleischauer, M.; et al. Feature-based molecular networking in the GNPS analysis environment. *Nat. Methods* **2020**, *17*, 905–908, doi:10.1038/s41592-020-0933-6.
16. Reher, R.; Kim, H.W.; Zhang, C.; Mao, H.H.; Wang, M.; Nothias, L.-F.; Caraballo-Rodriguez, A.M.; Glukhov, E.; Teke, B.; Leao, T.; et al. A Convolutional Neural Network-Based Approach for the Rapid Annotation of Molecularly Diverse Natural Products. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 4114–4120, doi:10.1021/jacs.9b13786.

17. Food and Agriculture Organization of the United Nations FAOSTAT. Available online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed on 2 February 2021).
18. Ishangulyyev, R.; Kim, S.; Lee, S.H. Understanding Food Loss and Waste—Why Are We Losing and Wasting Food? *Foods* **2019**, *8*, 297, doi:10.3390/foods8080297.
19. Ali, S.S.; Bharadwaj, S. *Prospects for Detecting the 326.5 MHz Redshifted 21-Cm HI Signal with the Ooty Radio Telescope (ORT)*; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2014; Volume 35, ISBN 9789251072059.
20. *UN DP Goal 12: Responsible Consumption and Production*; United Nations Development Programme: New York, NY, USA, 2016.
21. Cifuentes, A. Food analysis and Foodomics. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 7109, doi:10.1016/j.chroma.2009.09.018.
22. Valdés, A.; Cifuentes, A.; León, C. Foodomics evaluation of bioactive compounds in foods. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2017**, *96*, 2–13, doi:10.1016/j.trac.2017.06.004.
23. Katsinas, N.; da Silva, A.B.; Enríquez-De-Salamanca, A.; Fernández, N.; Bronze, M.R.; Rodríguez-Rojo, S. Pressurized Liquid Extraction Optimization from Supercritical Defatted Olive Pomace: A Green and Selective Phenolic Extraction Process. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2021**, *9*, 5590–5602, doi:10.1021/acssuschemeng.0c09426.
24. Assirati, J.; Rinaldo, D.; Rabelo, S.C.; Bolzani, V.D.S.; Hilder, E.F.; Funari, C.S. A green, simplified, and efficient experimental setup for a high-throughput screening of agri-food by-products—From polar to nonpolar metabolites in sugarcane solid residues. *J. Chromatogr. A* **2020**, *1634*, 461693, doi:10.1016/j.chroma.2020.461693.
25. Sánchez-Martínez, J.D.; Bueno, M.; Alvarez-Rivera, G.; Tudela, J.; Ibañez, E.; Cifuentes, A. In vitro neuroprotective potential of terpenes from industrial orange juice by-products. *Food Funct.* **2021**, *12*, 302–314, doi:10.1039/d0fo02809f.
26. Agrawal, M.; Ajazuddin; Tripathi, D.K.; Saraf, S.; Saraf, S.; Antimisari, S.G.; Mourtas, S.; Hammarlund-Udenaes, M.; Alexander, A. Recent advancements in liposomes targeting strategies to cross blood-brain barrier (BBB) for the treatment of Alzheimer's disease. *J. Control. Release* **2017**, *260*, 61–77, doi:10.1016/j.jconrel.2017.05.019.
27. Anderson, E.J.; Ali, M.L.; Beavis, W.D.; Chen, P.; Clemente, T.E.; Diers, B.W.; Graef, G.L.; Grassini, P.; Hyten, D.L.; McHale, L.K.; et al. Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] Breeding: History, Improvement, Production and Future Opportunities. In *Advances in Plant Breeding Strategies: Legumes: Volume 7*; Al-Khayri, J.M., Jain, S.M., Johnson,

- D.V., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2019; pp. 431–516, ISBN 978-3-030-23400-3.
28. United Nations United Nations Statistics Division-Environment Statistics. Available online: <https://unstats.un.org/unsd/environment/totalarea.htm> (accessed on 20 March 2021).
 29. United States Department of Agriculture *Oilseeds: World Markets and Trade*; 2021. Available online: <https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/tx31qh68h/hq37wg66q/q237jm44p/oilseeds.pdf> (accessed on 20 March 2021).
 30. United States Department of Agriculture *Oilseeds: World Markets and Trade*; 2011. Available online: <https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/tx31qh68h/w3763722n/db78tc388/oilseed-trade-03-10-2011.pdf> (accessed on 20 March 2021).
 31. Krisnawati, A.; Adie, M.M. Variability of Biomass and Harvest Index from Several Soybean Genotypes as Renewable Energy Source. *Energy Procedia* **2015**, *65*, 14–21.
 32. Buffett, H.G. Conservation: Reaping the Benefits of No-Tillage Farming. *Nature* **2012**, *484*, 455.
 33. Gawęda, D.; Haliniarz, M.; Bronowicka-Mielniczuk, U.; Łukasz, J. Weed Infestation and Health of the Soybean Crop Depending on Cropping System and Tillage System. *Agriculture* **2020**, *10*, 208, doi:10.3390/agriculture10060208.
 34. De Castro, S.G.Q.; Dinardo-Miranda, L.L.; Fracasso, J.V.; Bordonal, R.O.; Menandro, L.; Franco, H.C.J.; Carvalho, J.L.N. Changes in Soil Pest Populations Caused by Sugarcane Straw Removal in Brazil. *BioEnergy Res.* **2019**, *12*, 878–887, doi:10.1007/s12155-019-10019-4.
 35. Zhang, J.; Hang, X.; Lamine, S.M.; Jiang, Y.; Afreh, D.; Qian, H.; Feng, X.; Zheng, C.; Deng, A.; Song, Z.; et al. Interactive effects of straw incorporation and tillage on crop yield and greenhouse gas emissions in double rice cropping system. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2017**, *250*, 37–43, doi:10.1016/j.agee.2017.07.034.
 36. Popin, G.V.; Santos, A.K.B.; Oliveira, T.D.P.; De Camargo, P.B.; Cerri, C.E.; Siqueira-Neto, M. Sugarcane straw management for bioenergy: Effects of global warming on greenhouse gas emissions and soil carbon storage. *Mitig. Adapt. Strat. Glob. Chang.* **2020**, *25*, 559–577, doi:10.1007/s11027-019-09880-7.

37. Vasconcelos, A.L.S.; Cherubin, M.R.; Feigl, B.J.; Cerri, C.E.; Gmach, M.R.; Siqueira-Neto, M. Greenhouse gas emission responses to sugarcane straw removal. *Biomass Bioenergy* **2018**, *113*, 15–21, doi:10.1016/j.biombioe.2018.03.002.
38. Carneiro, A.M.; Moreira, E.A.; Bragagnolo, F.S.; Borges, M.S.; Pilon, A.C.; Rinaldo, D.; De Funari, C.S. Soya agricultural waste as a rich source of isoflavones. *Food Res. Int.* **2020**, *130*, 108949, doi:10.1016/j.foodres.2019.108949.
39. Chatterjee, C.; Gleddie, S.; Xiao, C.-W. Soybean Bioactive Peptides and Their Functional Properties. *Nutrients* **2018**, *10*, 1211, doi:10.3390/nu10091211.
40. Lee, Y.-M.; Yoon, Y.; Yoon, H.; Park, H.-M.; Song, S.; Yeum, K.-J. Dietary Anthocyanins against Obesity and Inflammation. *Nutrients* **2017**, *9*, 1089, doi:10.3390/nu9101089.
41. Křížová, L.; Dadáková, K.; Kašparovská, J.; Kašparovský, T. Isoflavones. *Molecules* **2019**, *24*, 1076, doi:10.3390/molecules24061076.
42. Messina, M. Soy and Health Update: Evaluation of the Clinical and Epidemiologic Literature. *Nutrients* **2016**, *8*, 754, doi:10.3390/nu8120754.
43. Landete, J.M.; Arques, J.L.; Medina, M.; Gaya, P.; Rivas, B.D.L.; Muñoz, R. Bioactivation of Phytoestrogens: Intestinal Bacteria and Health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2016**, *56*, 1826–1843, doi:10.1080/10408398.2013.789823.
44. Yamagata, K. Soy Isoflavones Inhibit Endothelial Cell Dysfunction and Prevent Cardiovascular Disease. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **2019**, *74*, 201–209, doi:10.1097/fjc.0000000000000708.
45. Pabich, M.; Materska, M. Biological Effect of Soy Isoflavones in the Prevention of Civilization Diseases. *Nutrients* **2019**, *11*, 1660, doi:10.3390/nu11071660.
46. Thangavel, P.; Puga-Olguín, A.; Rodríguez-Landa, J.F.; Zepeda, R.C. Genistein as Potential Therapeutic Candidate for Menopausal Symptoms and Other Related Diseases. *Molecules* **2019**, *24*, 3892, doi:10.3390/molecules24213892.
47. Taku, K.; Melby, M.K.; Nishi, N.; Omori, T.; Kurzer, M.S. Soy isoflavones for osteoporosis: An evidence-based approach. *Maturitas* **2011**, *70*, 333–338, doi:10.1016/j.maturitas.2011.09.001.
48. Moreira, E.A.; Pilon, A.C.; Andrade, L.E.; Lopes, N.P. New Perspectives on Chlorogenic Acid Accumulation in Harvested Leaf Tissue: Impact on Traditional Medicine Preparations. *ACS Omega* **2018**, *3*, 18380–18386, doi:10.1021/acsomega.8b02409.
49. Neilson, E.H.; Goodger, J.Q.; Woodrow, I.E.; Møller, B.L. Plant chemical defense: At what cost? *Trends Plant Sci.* **2013**, *18*, 250–258, doi:10.1016/j.tplants.2013.01.001.

50. Gottlieb, O.R. Phytochemicals: Differentiation and function. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 1715–1724, doi:10.1016/0031-9422(90)85002-w.
51. Lu, Y.; Lam, H.-M.; Pi, E.; Zhan, Q.; Tsai, S.; Wang, C.; Kwan, Y.; Ngai, S. Comparative Metabolomics in *Glycine Max* and Glycine soja under Salt Stress To Reveal the Phenotypes of Their Offspring. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 8711–8721, doi:10.1021/jf402043m.
52. Yun, D.-Y.; Kang, Y.-G.; Yun, B.; Kim, E.-H.; Kim, M.; Park, J.S.; Lee, J.H.; Hong, Y.-S. Distinctive Metabolism of Flavonoid between Cultivated and Semiwild Soybean Unveiled through Metabolomics Approach. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64*, 5773–5783, doi:10.1021/acs.jafc.6b01675.
53. Patent Database Search Results: TTL/"soybean Cultivar" OR TTL/"soybean Variety" in US Patent Collection. Available online: <http://patft.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1=PTO2&Sect2=HITOFF&p=1&u=%2Fmetahtml%2FPTO%2Fsearch-bool.html&r=0&f=S&l=50&TERM1=%22soybean+cultivar%22&FIELD1=TI&col=OR&TERM2=%22soybean+variety%22&FIELD2=TI&d=PTXT> (accessed on 10 May 2021).
54. Lee, J.; Hwang, Y.-S.; Kim, S.T.; Yoon, W.-B.; Han, W.Y.; Kang, I.-K.; Choung, M.-G. Seed coat color and seed weight contribute differential responses of targeted metabolites in soybean seeds. *Food Chem.* **2017**, *214*, 248–258, doi:10.1016/j.foodchem.2016.07.066.
55. Gupta, R.; Min, C.W.; Kim, S.W.; Wang, Y.; Agrawal, G.K.; Rakwal, R.; Kim, S.G.; Lee, B.W.; Ko, J.M.; Baek, I.Y.; et al. Comparative investigation of seed coats of brown- versus yellow-colored soybean seeds using an integrated proteomics and metabolomics approach. *Proteomics* **2015**, *15*, 1706–1716, doi:10.1002/pmic.201400453.
56. Yang, C.-Q.; Zheng, L.; Wu, H.-J.; Zhu, Z.-K.; Zou, Y.-F.; Deng, J.-C.; Qin, W.-T.; Zhang, J.; Wang, X.-C.; Yang, W.-Y.; et al. Yellow- and green-cotyledon seeds of black soybean: Phytochemical and bioactive differences determine edibility and medical applications. *Food Biosci.* **2021**, *39*, 100842, doi:10.1016/j.fbio.2020.100842.
57. Yun, Y.J.; Lee, H.; Yoo, D.J.; Yang, J.Y.; Woo, S.-Y.; Seo, W.D.; Kim, Y.-C.; Lee, J.H. Molecular analysis of soyasaponin biosynthetic genes in two soybean (*Glycine Max* L. Merr.) cultivars. *Plant Biotechnol. Rep.* **2021**, *15*, 117–124, doi:10.1007/s11816-021-00661-w.
58. García-Villalba, R.; León, C.; Dinelli, G.; Carretero, A.S.; Fernández-Gutiérrez, A.; García-Cañas, V.; Cifuentes, A. Comparative metabolomic study of transgenic versus

- conventional soybean using capillary electrophoresis–time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1195*, 164–173, doi:10.1016/j.chroma.2008.05.018.
59. Harrigan, G.G.; Skogerson, K.; MacIsaac, S.; Bickel, A.; Perez, T.; Li, X. Application of ¹H NMR Profiling To Assess Seed Metabolomic Diversity. A Case Study on a Soybean Era Population. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63*, 4690–4697, doi:10.1021/acs.jafc.5b01069.
 60. Clarke, J.D.; Alexander, D.C.; Ward, D.P.; Ryals, J.A.; Mitchell, M.W.; Wulff, J.E.; Guo, L. Assessment of Genetically Modified Soybean in Relation to Natural Variation in the Soybean Seed Metabolome. *Sci. Rep.* **2013**, *3*, 3082, doi:10.1038/srep03082.
 61. de Campos, B.K.; Galazzi, R.M.; dos Santos, B.M.; Balbuena, T.S.; dos Santos, F.N.; Mokochinski, J.B.; Eberlin, M.N.; Arruda, M.A. Comparison of generational effect on proteins and metabolites in non-transgenic and transgenic soybean seeds through the insertion of the cp4-EPSPS gene assessed by omics-based platforms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2020**, *202*, 110918, doi:10.1016/j.ecoenv.2020.110918.
 62. Rodrigues, J.M.; Coutinho, F.S.; dos Santos, D.S.; Vital, C.E.; Galhos, J.R.L.S.; Reis, P.B.; Oliveira, M.G.A.; Mehta, A.; Fontes, E.P.B.; Galhos, H.J.O. BiP-overexpressing soybean plants display accelerated hypersensitivity response (HR) affecting the SA-dependent sphingolipid and flavonoid pathways. *Phytochemistry* **2021**, *185*, 112704, doi:10.1016/j.phytochem.2021.112704.
 63. Kang, W.-S.; Chen, L.-J.; Wang, Y.-Y.; Zhu, X.-F.; Liu, X.-Y.; Fan, H.-Y.; Duan, Y.-X. *Bacillus simplex* treatment promotes soybean defence against soybean cyst nematodes: A metabolomics study using GC-MS. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0237194, doi:10.1371/journal.pone.0237194.
 64. Nakata, R.; Yano, M.; Hiraga, S.; Teraishi, M.; Okumoto, Y.; Mori, N.; Kaga, A. Molecular Basis Underlying Common Cutworm Resistance of the Primitive Soybean Landrace Peking. *Front. Genet.* **2020**, *11*, 11, doi:10.3389/fgene.2020.581917.
 65. Zhang, P.; Du, H.; Wang, J.; Pu, Y.; Yang, C.; Yan, R.; Yang, H.; Cheng, H.; Yu, D. Multiplex CRISPR/Cas9-mediated metabolic engineering increases soya bean isoflavone content and resistance to soya bean mosaic virus. *Plant Biotechnol. J.* **2019**, *18*, 1384–1395, doi:10.1111/pbi.13302.
 66. Ding, X.; Wang, X.; Li, Q.; Yu, L.; Song, Q.; Gai, J.; Yang, S. Metabolomics Studies on Cytoplasmic Male Sterility during Flower Bud Development in Soybean. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 2869, doi:10.3390/ijms20122869.

67. Ranjan, A.; Westrick, N.M.; Jain, S.; Piotrowski, J.S.; Ranjan, M.; Kessens, R.; Stiegman, L.; Grau, C.R.; Conley, S.; Smith, D.L.; et al. Resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean involves a reprogramming of the phenylpropanoid pathway and up-regulation of antifungal activity targeting ergosterol biosynthesis. *Plant Biotechnol. J.* **2019**, *17*, 1567–1581, doi:10.1111/pbi.13082.
68. de Oliveira, C.S.; Lião, L.M.; Alcantara, G.B. Metabolic response of soybean plants to *Sclerotinia sclerotiorum* infection. *Phytochemistry* **2019**, *167*, 112099, doi:10.1016/j.phytochem.2019.112099.
69. Cui, J.-Q.; Sun, H.-B.; Sun, M.-B.; Liang, R.-T.; Jie, W.-G.; Cai, B.-Y. Effects of *Funneliformis mosseae* on Root Metabolites and Rhizosphere Soil Properties to Continuously-Cropped Soybean in the Potted-Experiments. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 2160, doi:10.3390/ijms19082160.
70. Zhu, L.; Zhou, Y.; Li, X.; Zhao, J.; Guo, N.; Xing, H. Metabolomics Analysis of Soybean Hypocotyls in Response to *Phytophthora sojae* Infection. *Front. Plant Sci.* **2018**, *9*, 1530, doi:10.3389/fpls.2018.01530.
71. Kang, W.; Zhu, X.; Wang, Y.; Chen, L.; Duan, Y. Transcriptomic and metabolomic analyses reveal that bacteria promote plant defense during infection of soybean cyst nematode in soybean. *BMC Plant Biol.* **2018**, *18*, 1–14, doi:10.1186/s12870-018-1302-9.
72. Copley, T.R.; Aliferis, K.A.; Kliebenstein, D.J.; Jabaji, S.H. An integrated RNAseq-1H NMR metabolomics approach to understand soybean primary metabolism regulation in response to *Rhizoctonia foliar* blight disease. *BMC Plant Biol.* **2017**, *17*, 1–18, doi:10.1186/s12870-017-1020-8.
73. Lardi, M.; Murset, V.; Fischer, H.-M.; Mesa, S.; Ahrens, C.H.; Zamboni, N.; Pessi, G. Metabolomic Profiling of *Bradyrhizobium diazoefficiens*-Induced Root Nodules Reveals Both Host Plant-Specific and Developmental Signatures. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 815, doi:10.3390/ijms17060815.
74. Abeysekara, N.S.; Swaminathan, S.; Desai, N.; Guo, L.; Bhattacharyya, M.K. The plant immunity inducer pipelicolic acid accumulates in the xylem sap and leaves of soybean seedlings following *Fusarium virguliforme* infection. *Plant Sci.* **2016**, *243*, 105–114, doi:10.1016/j.plantsci.2015.11.008.
75. Scandiani, M.M.; Luque, A.G.; Razori, M.V.; Casalini, L.C.; Aoki, T.; O'Donnell, K.; Cervigni, G.D.L.; Spampinato, C.P. Metabolic profiles of soybean roots during early stages of *Fusarium tucumaniae* infection. *J. Exp. Bot.* **2014**, *66*, 391–402, doi:10.1093/jxb/eru432.

76. Sato, D.; Akashi, H.; Sugimoto, M.; Tomita, M.; Soga, T. Metabolomic profiling of the response of susceptible and resistant soybean strains to foxglove aphid, *Aulacorthum solani* Kalténbach. *J. Chromatogr. B* **2013**, *925*, 95–103, doi:10.1016/j.jchromb.2013.02.036.
77. Brechenmacher, L.; Lei, Z.; Libault, M.; Findley, S.; Sugawara, M.; Sadowsky, M.J.; Sumner, L.W.; Stacey, G. Soybean Metabolites Regulated in Root Hairs in Response to the Symbiotic Bacterium *Bradyrhizobium japonicum*. *Plant Physiol.* **2010**, *153*, 1808–1822, doi:10.1104/pp.110.157800.
78. Silva, E.; Perez Da Graça, J.; Porto, C.; Martin Do Prado, R.; Nunes, E.; Corrêa Marcelino-Guimarães, F.; Conrado Meyer, M.; Jorge Pilau, E. Untargeted Metabolomics Analysis by UHPLC-MS/MS of Soybean Plant in a Compatible Response to *Phakopsora pachyrhizi* Infection. *Metabolites* **2021**, *11*, 179, doi:10.3390/metabo11030179.
79. Zanzarin, D.M.; Hernandes, C.P.; Leme, L.M.; Silva, E.; Porto, C.; Prado, R.M.D.; Meyer, M.C.; Favoreto, L.; Nunes, E.; Pilau, E.J. Metabolomics of soybean green stem and foliar retention (GSFR) disease using mass spectrometry and molecular networking. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2019**, *34*, e8655, doi:10.1002/rcm.8655.
80. Silva, E.; Da Graça, J.P.; Porto, C.; Prado, R.M.D.; Hoffmann-Campo, C.B.; Meyer, M.C.; Nunes, E.; Pilau, E.J. Unraveling Asian Soybean Rust metabolomics using mass spectrometry and Molecular Networking approach. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 138–11, doi:10.1038/s41598-019-56782-4.
81. Lee, J.; Hwang, Y.S.; Chang, W.S.; Moon, J.K.; Choung, M.G. Seed Maturity Differentially Mediates Metabolic Responses in Black Soybean. *Food Chem.* **2013**, *141*, 2052–2059, doi:10.1016/j.foodchem.2013.05.059.
82. Collakova, E.; Aghamirzaie, D.; Fang, Y.; Klumas, C.; Tabataba, F.; Kakumanu, A.; Myers, E.; Heath, L.S.; Grene, R. Metabolic and Transcriptional Reprogramming in Developing Soybean (*Glycine Max*) Embryos. *Metabolites* **2013**, *3*, 347–372, doi:10.3390/metabo3020347.
83. Li, L.; Hur, M.; Lee, J.Y.; Zhou, W.; Song, Z.; Ransom, N.; Demirkale, C.Y.; Nettleton, D.; Westgate, M.; Arendsee, Z.; et al. A Systems Biology Approach toward Understanding Seed Composition in Soybean. *BMC Genom.* **2015**, *16*, S9, doi:10.1186/1471-2164-16-S3-S9.
84. Gu, E.J.; Kim, D.W.; Jang, G.J.; Song, S.H.; Lee, J.I.; Lee, S.B.; Kim, B.M.; Cho, Y.; Lee, H.J.; Kim, H.J. Mass-Based Metabolomic Analysis of Soybean Sprouts during Germination. *Food Chem.* **2017**, *217*, 311–319, doi:10.1016/j.foodchem.2016.08.113.

85. Song, H.H.; Ryu, H.W.; Lee, K.J.; Jeong, I.Y.; Kim, D.S.; Oh, S.R. Metabolomics Investigation of Flavonoid Synthesis in Soybean Leaves Depending on the Growth Stage. *Metabolomics* **2014**, *10*, 833–841, doi:10.1007/s11306-014-0640-3.
86. Makino, Y.; Nishizaka, A.; Yoshimura, M.; Sotome, I.; Kawai, K.; Akihiro, T. Influence of Low O₂ and High CO₂ Environment on Changes in Metabolite Concentrations in Harvested Vegetable Soybeans. *Food Chem.* **2020**, *317*, 126380, doi:10.1016/j.foodchem.2020.126380.
87. Pi, E.; Zhu, C.; Fan, W.; Huang, Y.; Qu, L.; Li, Y.; Zhao, Q.; Ding, F.; Qiu, L.; Wang, H.; et al. Quantitative Phosphoproteomic and Metabolomic Analyses Reveal GmMYB173 Optimizes Flavonoid Metabolism in Soybean under Salt Stress. *Mol. Cell. Proteom.* **2018**, *17*, 1209–1224, doi:10.1074/mcp.RA117.000417.
88. Das, A.; Rushton, P.J.; Rohila, J.S. Metabolomic Profiling of Soybeans (*Glycine Max* L.) Reveals the Importance of Sugar and Nitrogen Metabolism under Drought and Heat Stress. *Plants* **2017**, *6*, 199–208, doi:10.3390/plants6020021.
89. Zou, J.; Yu, H.; Yu, Q.; Jin, X.; Cao, L.; Wang, M.; Wang, M.; Ren, C.; Zhang, Y. Physiological and UPLC-MS/MS Widely Targeted Metabolites Mechanisms of Alleviation of Drought Stress-Induced Soybean Growth Inhibition by Melatonin. *Ind. Crop. Prod.* **2021**, *163*, 113323.
90. Gupta, R.; Min, C.W.; Kramer, K.; Agrawal, G.K.; Rakwal, R.; Park, K.H.; Wang, Y.; Finkemeier, I.; Kim, S.T. A Multi-Omics Analysis of *Glycine Max* Leaves Reveals Alteration in Flavonoid and Isoflavonoid Metabolism Upon Ethylene and Absciscic Acid Treatment. *Proteomics* **2018**, *18*, 1700366, doi:10.1002/pmic.201700366.
91. Cheng, J.; Yuan, C.; Graham, T.L. Potential Defense-Related Prenylated Isoflavones in Lactofen-Induced Soybean. *Phytochemistry* **2011**, *72*, 875–881, doi:10.1016/j.phytochem.2011.03.010.
92. Li, Y.; Zhang, Q.; Yu, Y.; Li, X.; Tan, H. Integrated proteomics, metabolomics and physiological analyses for dissecting the toxic effects of halosulfuron-methyl on soybean seedlings (*Glycine Max* merr.). *Plant Physiol. Biochem.* **2020**, *157*, 303–315, doi:10.1016/j.plaphy.2020.10.033.
93. Zhong, Z.; Kobayashi, T.; Zhu, W.; Imai, H.; Zhao, R.; Ohno, T.; Rehman, S.U.; Uemura, M.; Tian, J.; Komatsu, S. Plant-derived smoke enhances plant growth through ornithine-synthesis pathway and ubiquitin-proteasome pathway in soybean. *J. Proteom.* **2020**, *221*, 103781, doi:10.1016/j.jprot.2020.103781.

94. Ban, Y.J.; Song, Y.H.; Kim, J.Y.; Baiseitova, A.; Lee, K.W.; Kim, K.D.; Park, K.H. Comparative investigation on metabolites changes in soybean leaves by ethylene and activation of collagen synthesis. *Ind. Crop. Prod.* **2020**, *154*, 112743, doi:10.1016/j.indcrop.2020.112743.
95. Yilmaz, A.; Rudolph, H.L.; Hurst, J.J.; Wood, T.D. High-Throughput Metabolic Profiling of Soybean Leaves by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **2015**, *88*, 1188–1194, doi:10.1021/acs.analchem.5b03340.
96. Yun, D.-Y.; Kang, Y.-G.; Kim, E.-H.; Kim, M.; Park, N.-H.; Choi, H.-T.; Go, G.H.; Lee, J.H.; Park, J.S.; Hong, Y.-S. Metabolomics approach for understanding geographical dependence of soybean leaf metabolome. *Food Res. Int.* **2018**, *106*, 842–852, doi:10.1016/j.foodres.2018.01.061.
97. Feng, Z.; Ding, C.; Li, W.; Wang, D.; Cui, D. Applications of metabolomics in the research of soybean plant under abiotic stress. *Food Chem.* **2020**, *310*, 125914, doi:10.1016/j.foodchem.2019.125914.
98. Seo, W.D.; Kang, J.E.; Choi, S.-W.; Lee, K.-S.; Lee, M.-J.; Park, K.-D.; Lee, J.H. Comparison of nutritional components (isoflavone, protein, oil, and fatty acid) and antioxidant properties at the growth stage of different parts of soybean [*Glycine Max* (L.) Merrill]. *Food Sci. Biotechnol.* **2017**, *26*, 339–347, doi:10.1007/s10068-017-0046-x.
99. Jiang, Z.-F.; Liu, D.-D.; Wang, T.-Q.; Liang, X.-L.; Cui, Y.-H.; Liu, Z.-H.; Li, W.-B. Concentration difference of auxin involved in stem development in soybean. *J. Integr. Agric.* **2020**, *19*, 953–964, doi:10.1016/s2095-3119(19)62676-6.
100. Hu, B.-Y.; Yang, C.-Q.; Iqbal, N.; Deng, J.-C.; Zhang, J.; Yang, W.-Y.; Liu, J. Development and validation of a GC–MS method for soybean organ-specific metabolomics. *Plant Prod. Sci.* **2018**, *21*, 215–224, doi:10.1080/1343943x.2018.1488539.
101. Dresler, S.; Wójciak-Kosior, M.; Sowa, I.; Strzemiński, M.; Sawicki, J.; Kováčik, J.; Blicharski, T. Effect of Long-Term Strontium Exposure on the Content of Phytoestrogens and Allantoin in Soybean. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 3864, doi:10.3390/ijms19123864.
102. Nam, K.-H.; Kim, D.Y.; Kim, H.J.; Park, I.-S.; Chung, Y.S.; Kim, S.Y.; Kim, C.-G. Global metabolite profiling based on GC–MS and LC–MS/MS analyses in ABF3-overexpressing soybean with enhanced drought tolerance. *Appl. Biol. Chem.* **2019**, *62*, 15, doi:10.1186/s13765-019-0425-5.
103. Coutinho, I.D.; Henning, L.M.M.; Döpp, S.A.; Nepomuceno, A.; Moraes, L.A.C.; Marcolino-Gomes, J.; Richter, C.; Schwalbe, H.; Colnago, L.A. Identification of primary

- and secondary metabolites and transcriptome profile of soybean tissues during different stages of hypoxia. *Data Brief* **2018**, *21*, 1089–1100, doi:10.1016/j.dib.2018.09.122.
- 104.Silva, F.A.C.; Carrão-Panizzi, M.C.; Blassioli-Moraes, M.C.; Panizzi, A.R. Influence of Volatile and Nonvolatile Secondary Metabolites From Soybean Pods on Feeding and on Oviposition Behavior of *Euschistus heros* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). *Environ. Entomol.* **2013**, *42*, 1375–1382, doi:10.1603/en13081.
 - 105.Deng, J.-C.; Yang, C.-Q.; Zhang, J.; Zhang, Q.; Yang, F.; Yang, W.-Y.; Liu, J. Organ-Specific Differential NMR-Based Metabonomic Analysis of Soybean [*Glycine Max* (L.) Merr.] Fruit Reveals the Metabolic Shifts and Potential Protection Mechanisms Involved in Field Mold Infection. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, doi:10.3389/fpls.2017.00508.
 - 106.Li, M.; Xu, J.; Wang, X.; Fu, H.; Zhao, M.; Wang, H.; Shi, L. Photosynthetic characteristics and metabolic analyses of two soybean genotypes revealed adaptive strategies to low-nitrogen stress. *J. Plant Physiol.* **2018**, *229*, 132–141, doi:10.1016/j.jplph.2018.07.009.
 - 107.Dillon, F.M.; Chludil, H.D.; Mithöfer, A.; Zavala, J.A. Solar UVB-inducible ethylene alone induced isoflavonoids in pods of field-grown soybean, an important defense against stink bugs. *Environ. Exp. Bot.* **2020**, *178*, 104167, doi:10.1016/j.envexpbot.2020.104167.
 - 108.Tsuno, Y.; Fujimatsu, T.; Endo, K.; Sugiyama, A.; Yazaki, K. Soyasaponins: A New Class of Root Exudates in Soybean (*Glycine Max*). *Plant Cell Physiol.* **2018**, *59*, 366–375, doi:10.1093/pcp/pcx192.
 - 109.ChemAxon-Software Solutions and Services for Chemistry & Biology. Available online: <https://chemaxon.com/products/marvin> (accessed on 8 April 2021).
 - 110.Djoumbou Feunang, Y.; Eisner, R.; Knox, C.; Chepelev, L.; Hastings, J.; Owen, G.; Fahy, E.; Steinbeck, C.; Subramanian, S.; Bolton, E.; et al. ClassyFire: Automated Chemical Classification with a Comprehensive, Computable Taxonomy. *J. Chemin.* **2016**, *8*, 1–20, doi:10.1186/s13321-016-0174-y.
 - 111.Salama, A.A.A.; Allam, R.M. Promising Targets of Chrysin and Daidzein in Colorectal Cancer: Amphiregulin, CXCL1, and MMP-9. *Eur. J. Pharmacol.* **2021**, *892*, 173763, doi:10.1016/j.ejphar.2020.173763.
 - 112.He, Y.; Huang, M.; Tang, C.; Yue, Y.; Liu, X.; Zheng, Z.; Dong, H.; Liu, D. Dietary Daidzein Inhibits Hepatitis C Virus Replication by Decreasing MicroRNA-122 Levels. *Virus Res.* **2021**, *298*, 198404, doi:10.1016/j.virusres.2021.198404.
 - 113.Yang, M.H.; Jung, S.H.; Chinnathambi, A.; Alahmadi, T.A.; Alharbi, S.A.; Sethi, G.; Ahn, K.S. Attenuation of STAT3 Signaling Cascade by Daidzin Can Enhance the Apoptotic

- Potential of Bortezomib against Multiple Myeloma. *Biomolecules* **2020**, *10*, 23, doi:10.3390/biom10010023.
- 114.Kazmi, Z.; Zeeshan, S.; Khan, A.; Malik, S.; Shehzad, A.; Seo, E.K.; Khan, S. Anti-Epileptic Activity of Daidzin in PTZ-Induced Mice Model by Targeting Oxidative Stress and BDNF/VEGF Signaling. *NeuroToxicology* **2020**, *79*, 150–163, doi:10.1016/j.neuro.2020.05.005.
 - 115.Xie, X.; Cong, L.; Liu, S.; Xiang, L.; Fu, X. Genistein Alleviates Chronic Vascular Inflammatory Response via the MiR-21/NF-KB P65 Axis in Lipopolysaccharide-Treated Mice. *Mol. Med. Rep.* **2021**, *23*, 1–1, doi:10.3892/mmr.2021.11831.
 - 116.Zang, Y.Q.; Feng, Y.Y.; Luo, Y.H.; Zhai, Y.Q.; Ju, X.Y.; Feng, Y.C.; Wang, J.R.; Yu, C.Q.; Jin, C.H. Glycitein Induces Reactive Oxygen Species-Dependent Apoptosis and G0/G1 Cell Cycle Arrest through the MAPK/STAT3/NF-KB Pathway in Human Gastric Cancer Cells. *Drug Dev. Res.* **2019**, *80*, 573–584, doi:10.1002/ddr.21534.
 - 117.Hwang, S.T.; Yang, M.H.; Baek, S.H.; Um, J.Y.; Ahn, K.S. Genistin Attenuates Cellular Growth and Promotes Apoptotic Cell Death Breast Cancer Cells through Modulation of ERalpha Signaling Pathway. *Life Sci.* **2020**, *263*, 118594, doi:10.1016/j.lfs.2020.118594.
 - 118.Zhou, Y.; Xu, B.; Yu, H.; Zhao, W.; Song, X.; Liu, Y.; Wang, K.; Peacher, N.; Zhao, X.; Zhang, H.T. Biochanin A Attenuates Ovariectomy-Induced Cognition Deficit via Antioxidant Effects in Female Rats. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 171, doi:10.3389/fphar.2021.603316.
 - 119.Xu, Y.; Zhang, Y.; Liang, H.; Liu, X. Coumestrol Mitigates Retinal Cell Inflammation, Apoptosis, and Oxidative Stress in a Rat Model of Diabetic Retinopathy via Activation of SIRT1. *Aging* **2021**, *13*, 5342–5357, doi:10.18632/aging.202467.
 - 120.Yamamoto, T.; Sakamoto, C.; Tachiwana, H.; Kumabe, M.; Matsui, T.; Yamashita, T.; Shinagawa, M.; Ochiai, K.; Saitoh, N.; Nakao, M. Endocrine Therapy-Resistant Breast Cancer Model Cells Are Inhibited by Soybean Glyceollin I through Eleanor Non-Coding RNA. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1–12, doi:10.1038/s41598-018-33227-y.
 - 121.Mansoori, M.N.; Raghuvanshi, A.; Shukla, P.; Awasthi, P.; Trivedi, R.; Goel, A.; Singh, D. Medicarpin Prevents Arthritis in Post-Menopausal Conditions by Arresting the Expansion of TH17 Cells and pro-Inflammatory Cytokines. *Int. Immunopharmacol.* **2020**, *82*, 106299, doi:10.1016/j.intimp.2020.106299.
 - 122.Luo, L.; Zhou, J.; Zhao, H.; Fan, M.; Gao, W. The Anti-Inflammatory Effects of Formononetin and Ononin on Lipopolysaccharide-Induced Zebrafish Models Based on

- Lipidomics and Targeted Transcriptomics. *Metabolomics* **2019**, *15*, 153, doi:10.1007/s11306-019-1614-2.
123. Tsai, W.; Nakamura, Y.; Akasaka, T.; Katakura, Y.; Tanaka, Y.; Shirouchi, B.; Jiang, Z.; Yuan, X.; Sato, M. Soyasaponin Ameliorates Obesity and Reduces Hepatic Triacylglycerol Accumulation by Suppressing Lipogenesis in High-fat Diet-fed Mice. *J. Food Sci.* **2021**, doi:10.1111/1750-3841.15696.
 124. Kim, H.J.; Choi, E.J.; Kim, H.S.; Choi, C.W.; Choi, S.W.; Kim, S.L.; Seo, W.D.; Do, S.H. Soyasaponin Ab Alleviates Postmenopausal Obesity through Browning of White Adipose Tissue. *J. Funct. Foods* **2019**, *57*, 453–464, doi:10.1016/j.jff.2019.03.051.
 125. Liu, X.; Chen, K.; Zhu, L.; Liu, H.; Ma, T.; Xu, Q.; Xie, T. Soyasaponin Ab Protects against Oxidative Stress in HepG2 Cells via Nrf2/HO-1/NQO1 Signaling Pathways. *J. Funct. Foods* **2018**, *45*, 110–117, doi:10.1016/j.jff.2018.03.037.
 126. Wang, F.; Gong, S.; Wang, T.; Li, L.; Luo, H.; Wang, J.; Huang, C.; Zhou, H.; Chen, G.; Liu, Z.; et al. Soyasaponin II Protects against Acute Liver Failure through Diminishing YB-1 Phosphorylation and Nlrp3-Inflammasome Priming in Mice. *Theranostics* **2020**, *10*, 2714–2726, doi:10.7150/thno.40128.
 127. Omar, A.; Kalra, R.S.; Putri, J.; Elwakeel, A.; Kaul, S.C.; Wadhwa, R. Soyasapogenol-A Targets CARF and Results in Suppression of Tumor Growth and Metastasis in P53 Compromised Cancer Cells. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1–13, doi:10.1038/s41598-020-62953-5.
 128. Jandacek, R.J. Linoleic Acid: A Nutritional Quandary. *Healthcare* **2017**, *5*, 25, doi:10.3390/healthcare5020025.
 129. Nouri, Z.; Fakhri, S.; El-Senduny, F.F.; Sanadgol, N.; Abd-Elghani, G.E.; Farzaei, M.H.; Chen, J.T. On the Neuroprotective Effects of Naringenin: Pharmacological Targets, Signaling Pathways, Molecular Mechanisms, and Clinical Perspective. *Biomolecules* **2019**, *9*, 690.
 130. Luo, L.; Zhou, J.; Zhao, H.; Fan, M.; Gao, W. The Anti-Inflammatory Effects of Formononetin and Ononin on Lipopolysaccharide-Induced Zebrafish Models Based on Lipidomics and Targeted Transcriptomics. *Metabolomics* **2019**, *15*, 153, doi:10.1007/s11306-019-1614-2.
 131. Imran, M.; Aslam Gondal, T.; Atif, M.; Shahbaz, M.; Batool Qaisarani, T.; Hanif Mughal, M.; Salehi, B.; Martorell, M.; Sharifi-Rad, J. Apigenin as an Anticancer Agent. *Phytother. Res.* **2020**, *34*, 1812–1828.

132. Yamamoto, T.; Sakamoto, C.; Tachiwana, H.; Kumabe, M.; Matsui, T.; Yamashita, T.; Shinagawa, M.; Ochiai, K.; Saitoh, N.; Nakao, M. Endocrine Therapy-Resistant Breast Cancer Model Cells Are Inhibited by Soybean Glyceollin I through Eleanor Non-Coding RNA. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1–12, doi:10.1038/s41598-018-33227-y.
133. Guo, Z.; Cao, W.; Zhao, S.; Han, Z.; Han, B. Protection against 1-Methyl-4-Phenyl Pyridinium-Induced Neurotoxicity in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells by Soyasaponin i by the Activation of the Phosphoinositide 3-Kinase/AKT/GSK3 β Pathway. *NeuroReport* **2016**, *27*, 730–736, doi:10.1097/WNR.0000000000000603.
134. Fouzder, C.; Mukhuty, A.; Mukherjee, S.; Malick, C.; Kundu, R. Trigonelline Inhibits Nrf2 via EGFR Signalling Pathway and Augments Efficacy of Cisplatin and Etoposide in NSCLC Cells. *Toxicol. Vitro.* **2021**, *70*, 105038, doi:10.1016/j.tiv.2020.105038.
135. Choi, M.; Mukherjee, S.; Yun, J.W. Trigonelline Induces Browning in 3T3-L1 White Adipocytes. *Phytother. Res.* **2021**, *35*, 1113–1124, doi:10.1002/ptr.6892.
136. Farid, M.M.; Yang, X.; Kuboyama, T.; Tohda, C. Trigonelline Recovers Memory Function in Alzheimer's Disease Model Mice: Evidence of Brain Penetration and Target Molecule. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 16424, doi:10.1038/s41598-020-73514-1.
137. Guo, X.; Wang, L.; Xu, M.; Bai, J.; Shen, J.; Yu, B.; Liu, Y.; Sun, H.; Hao, Y.; Geng, D. Shikimic Acid Prevents Cartilage Matrix Destruction in Human Chondrocytes. *Int. Immunopharmacol.* **2018**, *63*, 155–160, doi:10.1016/j.intimp.2018.07.021.
138. Ertugrul, B.; Iplik, E.S.; Cakmakoglu, B. In Vitro Inhibitory Effect of Succinic Acid on T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia Cell Lines. *Arch. Med. Res.* **2021**, *52*, 270–276, doi:10.1016/j.arcmed.2020.10.022.
139. Kim, H.S.; Yoo, H.J.; Lee, K.M.; Song, H.E.; Kim, S.J.; Lee, J.O.; Hwang, J.J.; Song, J.W. Stearic Acid Attenuates Profibrotic Signalling in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Respirology* **2021**, *26*, 255–263, doi:10.1111/resp.13949.
140. Liu, C.; Weir, D.; Busse, P.; Yang, N.; Zhou, Z.; Emala, C.; Li, X.M. The Flavonoid 7,4'-Dihydroxyflavone Inhibits MUC5AC Gene Expression, Production, and Secretion via Regulation of NF-KB, STAT6, and HDAC2. *Phytother. Res.* **2015**, *29*, 925–932, doi:10.1002/ptr.5334.
141. Chen, Y.; Guo, S.; Jiang, K.; Wang, Y.; Yang, M.; Guo, M. Glycitin Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury via Inhibiting NF-KB and MAPKs Pathway Activation in Mice. *Int. Immunopharmacol.* **2019**, *75*, 105749, doi:10.1016/j.intimp.2019.105749.

142. Baek, S.; Kim, J.; Moon, B.S.; Park, S.M.; Jung, D.E.; Kang, S.Y.; Lee, S.J.; Oh, S.J.; Kwon, S.H.; Nam, M.H.; et al. Camphene Attenuates Skeletal Muscle Atrophy by Regulating Oxidative Stress and Lipid Metabolism in Rats. *Nutrients* **2020**, *12*, 1–13, doi:10.3390/nu12123731.
143. Khoshnazar, M.; Parvardeh, S.; Bigdeli, M.R. Alpha-Pinene Exerts Neuroprotective Effects via Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Mechanisms in a Rat Model of Focal Cerebral Ischemia-Reperfusion. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* **2020**, *29*, 104977, doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104977.
144. Saeedi-Boroujeni, A.; Mahmoudian-Sani, M.R. Anti-Inflammatory Potential of Quercetin in COVID-19 Treatment. *J. Inflamm.* **2021**, *18*, 1–9, doi:10.1186/s12950-021-00268-6.
145. Bharath, B.; Perinbam, K.; Devanesan, S.; AlSalhi, M.S.; Saravanan, M. Evaluation of the Anticancer Potential of Hexadecanoic Acid from Brown Algae *Turbinaria Ornata* on HT-29 Colon Cancer Cells. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1235*, 130229, doi:10.1016/j.molstruc.2021.130229.
146. Liu, H.-M.; Li, H.-Y. Application and Conversion of Soybean Hulls. In *Soybean-The Basis of Yield, Biomass and Productivity*; InTech: London, UK, 2017.
147. Cabezudo, I.; Meini, M.R.; di Ponte, C.C.; Melnichuk, N.; Boschetti, C.E.; Romanini, D. Soybean (*Glycine Max*) Hull Valorization through the Extraction of Polyphenols by Green Alternative Methods. *Food Chem.* **2021**, *338*, 128131, doi:10.1016/j.foodchem.2020.128131.
148. de Oliveira Silva, F.; Perrone, D. Characterization and Stability of Bioactive Compounds from Soybean Meal. *Lwt* **2015**, *63*, 992–1000, doi:10.1016/j.lwt.2015.04.032.
149. Alvarez, M. v.; Cabred, S.; Ramirez, C.L.; Fanovich, M.A. Valorization of an Agroindustrial Soybean Residue by Supercritical Fluid Extraction of Phytochemical Compounds. *J. Supercrit. Fluids* **2019**, *143*, 90–96, doi:10.1016/j.supflu.2018.07.012.
150. Freitas, C.S.; da Silva, G.A.; Perrone, D.; Vericimo, M.A.; dos S. Baião, D.; Pereira, P.R.; Paschoalin, V.M.F.; del Aguila, E.M. Recovery of Antimicrobials and Bioaccessible Isoflavones and Phenolics from Soybean (*Glycine Max*) Meal by Aqueous Extraction. *Molecules* **2019**, *24*, 74, doi:10.3390/molecules24010074.
151. Nkurunziza, D.; Pendleton, P.; Chun, B.S. Optimization and Kinetics Modeling of Okara Isoflavones Extraction Using Subcritical Water. *Food Chem.* **2019**, *295*, 613–621, doi:10.1016/j.foodchem.2019.05.129.

152. Nile, S.H.; Nile, A.; Oh, J.W.; Kai, G. Soybean Processing Waste: Potential Antioxidant, Cytotoxic and Enzyme Inhibitory Activities. *Food Biosci.* **2020**, *38*, 100778, doi:10.1016/j.fbio.2020.100778.
153. Liu, W.; Zhang, H.X.; Wu, Z.L.; Wang, Y.J.; Wang, L.J. Recovery of Isoflavone Aglycones from Soy Whey Wastewater Using Foam Fractionation and Acidic Hydrolysis. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 7366–7372, doi:10.1021/jf401693m.
154. Chua, J.Y.; Liu, S.Q. Soy Whey: More than Just Wastewater from Tofu and Soy Protein Isolate Industry. *Trends Food Sci. Technol.* **2019**, *91*, 24–32.
155. Davy, P.; Vuong, Q.V. Soy Milk By-Product: Its Composition and Utilisation. *Food Rev. Int.* **2020**, doi:10.1080/87559129.2020.1855191.
156. Melini, F.; Melini, V.; Luziatelli, F.; Ficca, A.G.; Ruzzi, M. Health-Promoting Components in Fermented Foods: An Up-to-Date Systematic Review. *Nutrients* **2019**, *11*, 1189, doi:10.3390/nu11051189.
157. Dimidi, E.; Cox, S.R.; Rossi, M.; Whelan, K. Fermented Foods: Definitions and Characteristics, Impact on the Gut Microbiota and Effects on Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients* **2019**, *11*, 1806, doi:10.3390/nu11081806.
158. Şanlıer, N.; Gökcen, B.B.; Sezgin, A.C. Health Benefits of Fermented Foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2019**, *59*, 506–527.
159. Tamang, J.P.; Shin, D.H.; Jung, S.J.; Chae, S.W. Functional Properties of Microorganisms in Fermented Foods. *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 578.
160. Adebo, O.A.; Oyeyinka, S.A.; Adebisi, J.A.; Feng, X.; Wilkin, J.D.; Kewuyemi, Y.O.; Abrahams, A.M.; Tugizimana, F. Application of Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS)-Based Metabolomics for the Study of Fermented Cereal and Legume Foods: A Review. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2021**, *56*, 1514–1534, doi:10.1111/ijfs.14794.
161. Gupta, S.; Lee, J.J.L.; Chen, W.N. Analysis of Improved Nutritional Composition of Potential Functional Food (Okara) after Probiotic Solid-State Fermentation. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 5373–5381, doi:10.1021/acs.jafc.8b00971.
162. Chan, L.Y.; Takahashi, M.; Lim, P.J.; Aoyama, S.; Makino, S.; Ferdinandus, F.; Ng, S.Y.C.; Arai, S.; Fujita, H.; Tan, H.C.; et al. Eurotium Cristatum Fermented Okara as a Potential Food Ingredient to Combat Diabetes. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 1–9, doi:10.1038/s41598-019-54021-4.

- 163.Mok, W.K.; Tan, Y.X.; Lee, J.; Kim, J.; Chen, W.N. A Metabolomic Approach to Understand the Solid-State Fermentation of Okara Using *Bacillus Subtilis* WX-17 for Enhanced Nutritional Profile. *AMB Express* **2019**, *9*, 60, doi:10.1186/s13568-019-0786-5.
- 164.Mok, W.K.; Tan, Y.X.; Lyu, X.M.; Chen, W.N. Effects of Submerged Liquid Fermentation of *Bacillus Subtilis* WX-17 Using Okara as Sole Nutrient Source on the Composition of a Potential Probiotic Beverage. *Food Sci. Nutr.* **2020**, *8*, 3119–3127, doi:10.1002/fsn3.1541.
- 165.Gupta, S.; Chen, W.N. A Metabolomics Approach to Evaluate Post-Fermentation Enhancement of Daidzein and Genistein in a Green Okara Extract. *J. Sci. Food Agric.* **2021**, jsfa.11158, doi:10.1002/jsfa.11158.
- 166.Gupta, S.; Chen, W.N. Characterization and in Vitro Bioactivity of Green Extract from Fermented Soybean Waste. *ACS Omega* **2019**, *4*, 21675–21683, doi:10.1021/acsomega.9b01925.
- 167.Ghanem, K.Z.; Mahran, M.Z.; Ramadan, M.M.; Ghanem, H.Z.; Fadel, M.; Mahmoud, M.H. A Comparative Study on Flavour Components and Therapeutic Properties of Unfermented and Fermented Defatted Soybean Meal Extract. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 5998, doi:10.1038/s41598-020-62907-x.
- 168.Azi, F.; Tu, C.; Meng, L.; Zhiyu, L.; Cherinet, M.T.; Ahmadullah, Z.; Dong, M. Metabolite Dynamics and Phytochemistry of a Soy Whey-Based Beverage Bio-Transformed by Water Kefir Consortium. *Food Chem.* **2021**, *342*, 128225, doi:10.1016/j.foodchem.2020.128225.
- 169.Yang, J.; Wu, X. bin; Chen, H. lei; Sun-waterhouse, D.; Zhong, H. bo; Cui, C. A Value-Added Approach to Improve the Nutritional Quality of Soybean Meal Byproduct: Enhancing Its Antioxidant Activity through Fermentation by *Bacillus Amyloliquefaciens* SWJS22. *Food Chem.* **2019**, *272*, 396–403, doi:10.1016/j.foodchem.2018.08.037.
- 170.Liang, S.; Jiang, W.; Song, Y.; Zhou, S.F. Improvement and Metabolomics-Based Analysis of d -Lactic Acid Production from Agro-Industrial Wastes by *Lactobacillus Delbrueckii* Submitted to Adaptive Laboratory Evolution. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 7660–7669, doi:10.1021/acs.jafc.0c00259.
- 171.Kupski, L.; Telles, A.C.; Gonçalves, L.M.; Nora, N.S.; Furlong, E.B. Recovery of Functional Compounds from Lignocellulosic Material: An Innovative Enzymatic Approach. *Food Biosci.* **2018**, *22*, 26–31, doi:10.1016/j.fbio.2018.01.001.
- 172.Yang, S.O.; Kim, S.H.; Cho, S.; Lee, J.; Kim, Y.S.; Yun, S.S.; Choi, H.K. Classification of Fermented Soymilk during Fermentation by ¹H NMR Coupled with Principal Component

Analysis and Elucidation of Free-Radical Scavenging Activities. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2009**, 73, 1184–1188, doi:10.1271/bbb.80743.

- 173.Simu, S.Y.; Castro-Aceituno, V.; Lee, S.; Ahn, S.; Lee, H.K.; Hoang, V.A.; Yang, D.C. Fermentation of Soybean Hull by *Monascus Pilosus* and Elucidation of Its Related Molecular Mechanism Involved in the Inhibition of Lipid Accumulation. An in Sílico and in Vitro Approach. *J. Food Biochem.* **2018**, 42, e12442, doi:10.1111/jfbc.12442.

CAPÍTULO II

PERFIL METABÓLICO DOS SUBPRODUTOS DA SOJA: UMA ABORDAGEM ABRANGENTE

Metabolite profiling of soy by-products: a comprehensive approach

Felipe Sanchez Bragagnolo ^{1,2}, Gerardo Álvarez-Rivera ², Márcia Cristina Breitzkreitz ³, Elena Ibáñez ², Alejandro Cifuentes ², and Cristiano Soleo Funari ^{1*}

¹ School of Agricultural Sciences, São Paulo State University (UNESP), Botucatu 18610-034, SP, Brazil

² Laboratory of Foodomics, Institute of Food Science Research (CIAL-CSIC), 28049 Madrid, Spain

³ Institute of Chemistry, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo 13083-971, Brazil

* Author to whom correspondence should be addressed.

Journal of Agricultural and Food Chemistry 2022, 70, 23, 7321–7341

<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c01050>

Received: February 10, 2022; Revised: May 22, 2022; Accepted: May 23, 2022; Published: June 2, 2022

Resumo

A soja é a principal cultura de oleaginosa, uma vez que é amplamente utilizada para produzir biocombustível e alimentos. Porém, as outras partes da planta são deixadas no chão após a colheita, sendo que o acúmulo desses subprodutos no solo pode causar problemas ambientais. Este trabalho apresenta pela primeira vez um perfil metabólico abrangente de subprodutos de soja coletados diretamente do solo logo após a colheita mecânica dos grãos. Utilizando-se de uma extração com duas fases líquidas (bifásica) usando *n*-heptano e EtOH-H₂O 7:3 (v/v), gerou-se extratos que foram por cromatografia gasosa e cromatografia líquida de ultra-alta eficiência, ambos acoplados à espectrometria de massa. Um total de 146 metabólitos, incluindo flavonas, flavonols, isoflavonoides, ácidos graxos, esteroides, mono-, sesqui-, di-, e triterpenóides, foram identificados em subprodutos de soja e soja. Estes provaram ser fontes de uma ampla gama de metabólitos bioativos, sugerindo assim que eles podem ser valorizados, reduzindo potenciais problemas ambientais e em consonância com um modelo de economia circular.

Palavras-chave: Metabolômica; Valorização dos resíduos; Bioeconomia; Biorrefinaria; Química verde; Soja.

Introdução

As plantas são importantes fontes de compostos com uma ampla gama de usos terapêuticos [1]. Subprodutos agrícolas, uma fonte altamente abundante de produtos naturais, ainda podem ser considerados subexplorados para esta finalidade [2–4]. A maioria destes materiais é atualmente usada para aplicações de baixo valor agregado, como alimentação animal, produção de energia, ou simplesmente deixados no campo com o objetivo de manter a fertilidade do solo [2–4]. No entanto, um acúmulo excessivo desses subprodutos, principalmente de colheitas consecutivas, também pode contribuir para a infestação de pragas, emissão de gases de efeito estufa, desregulamentação do microbiota do solo e contaminação da água e do solo [4–7]. Espera-se que esses problemas aumentem devido à alta demanda por alimentos causada pelo crescimento populacional [8]. Os esforços para mitigar tais problemas por meio de abordagens sustentáveis de química e engenharia são defendidos pela Organização das Nações Unidas (ONU), pela Agência Europeia do Meio Ambiente, entre outras instituições. Essas instituições alertam para a necessidade urgente de converter subprodutos agrícolas em matérias-primas para produtos de alto valor agregado que empregam tecnologias verdes [9,10].

A cultura de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) merece atenção especial, já que é a maior cultura de oleosa em todo o mundo [11]. A produção de soja e subprodutos associados, que são deixados nos campos (ou seja, galhos, folhas, vagens e raízes), foi cerca de 362 e 597 milhões de toneladas em 2020/21, respectivamente [12,13]. Estudos químicos de plantas de soja em diferentes estágios de crescimento relataram uma ampla gama dinâmica de metabólitos em seus diferentes órgãos, como flavonoides, isoflavonóides, lipídios de prenol, ácidos graxos e outros ácidos orgânicos, com aplicações potenciais em indústrias cosméticas, alimentícias, químicas e farmacêuticas [14–16]. No entanto, pelo que sabemos, a literatura não relata o perfil metabólito dos subprodutos de soja deixados no chão após a colheita. Trabalhos anteriores foram focados apenas em isoflavonóides e alcaloide (trigonellina) em tais materiais [17,18].

Desta forma, um procedimento abrangente de extração e identificação para identificar provisoriamente uma ampla gama de metabólitos em subprodutos de soja seria desejável estimar aplicações alternativas para eles. Trabalhos com cana-de-açúcar e subprodutos de café evidenciaram que a melhor condição para um tipo de subproduto não seria necessariamente a melhor para outro [19,20]. Em outras palavras, uma otimização deve ser proposta para cada tipo de matriz complexa. O planejamento experimental (DoE) deve ser preferido em comparação a uma abordagem de tentativa e erro para alcançar uma otimização global do

procedimento de extração em um número mínimo de experimentos [21]. Ao contrário do DoE, uma abordagem de tentativa e erro é muitas vezes uma estratégia de consumo de tempo e recurso (ou seja, solventes e energia), envolvendo um elevado número de experimentos sem levar a otimização confiável, em uma clara contradição com os princípios da Química Verde [22]

Portanto, este trabalho teve como objetivo realizar o perfil metabólico, pela primeira vez, de subprodutos de soja coletados diretamente do solo logo após a colheita mecânica (galhos, folhas, vagens e raízes). Para alcançar esse objetivo, inicialmente otimizou-se o (i) método de cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplado a um detector de matriz de fotodiodos e espectrometria de massas (UHPLC-PDA/UV-MS), (ii) um método cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) e (iii) uma extração bifásica para extrair simultaneamente compostos polares à não polares. Posteriormente, (iv) foram aplicados os procedimentos otimizados para a identificação de metabólitos em cada subproduto de soja (e nos grãos, que foram utilizados como material de referência) utilizando uma estratégia de desreplicação que cruza informações espectrais. A rede molecular social global de produtos naturais (GNPS) foi empregada para identificação de compostos de alta e média polaridade em extratos hidroetanólicos, enquanto os dados do GC-MS foram combinados com as bibliotecas NIST e Fiehn.

Material e métodos

Reagentes e materiais

O etanol de grau HPLC e o acetonitrila de grau MS e o metanol foram adquiridos da Merck (Alemanha). P.A. (grau para análise) ácido fórmico e *n*-heptano da Sigma Aldrich (Alemanha).

Material vegetal

Subprodutos de soja de cultivares NA5909 foram coletados diretamente do solo após a colheita mecânica do grão na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista (FCA-UNESP) em Botucatu, Estado de São Paulo (-22,8296354, -48,42553) e a Fazenda Santa Fé, em Pardinho, Estado de São Paulo (-23,0268717, -48,3859183). Os materiais coletados foram então separados em galhos, folhas, vagens e raízes. Porções de massa iguais do mesmo tipo de material (por exemplo, vagens) dos dois locais foram misturadas e moídas em um moinho analítico básico (IKA[®] A11, Alemanha). Para fins de otimização de extração, o

material resultante foi separado por faixas de granulometria em um agitador de tamises eletromagnética (Bertel, Brasil).

Otimização de métodos por Design de Experimentos (DoE)

Otimizações foram realizadas utilizando o software Protimiza Experimental Design® (Protimiza Experimental Design, Brasil) e o software GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, EUA).

Otimização do método de cromatografia líquida de alto desempenho acoplado à matriz de fotodiodos e espectrometria de massa (UHPLC-PDA/UV-MS)

As análises de cromatografia líquida foram realizadas utilizando-se um sistema UHPLC Nexera UC (Shimadzu, Japão), composto por duas bombas LC-30AD, SIL-30AC auto-injetor, forno de coluna CTO-20AC, detector de rede de fotodiodos SPD-M20A, desgasser unit DGU-20A5R, acoplado a um espectrômetro de massa quadrupolo LCMS-2020 equipado com uma fonte de ionização ESI e um módulo de comunicação CBM-20A. As separações foram realizadas em uma coluna Zorbax Eclipse Plus C18, 150 mm × 2,1 mm; 1,8 µm (Agilent Technologies, EUA), uma coluna amplamente utilizada que já foi empregada para metabolômica do grão da soja [23–25]. Um 1 µL UltiMate™ 3000 Pré-Aquecedor (Thermo Fisher Scientific, EUA) foi instalado dentro do compartimento da coluna. Foi empregado um design composto central de dois fatores (CCRD, $\alpha = (2^k)^{1/4}$). Os % iniciais de B (MeOH) (x_1) e % de ácido fórmico (HCOOH) nas fases móveis (x_2) foram os fatores selecionados. A vazão e a temperatura de análise foram mantidas em 0,3 mL/min e 30 °C, respectivamente. Uma alíquota de 2 µL de um extrato EtOH:H₂O 7:3 (v/v) (preparado como o ponto central descrito na seção "otimização do método de maceração dinâmica de duas fases líquidas (2-Mac)") foi filtrada com um filtro de seringa de 0,22 µm nylon antes da injeção no sistema. O delineamento dos compostos central rotacional (DCCR), bem como os resultados são mostrados na Tabela 1. As respostas monitoradas foram o número total de picos detectados pelo PDA/UV a 254 nm (y_1) (as amostras aqui analisadas eram esperadas para serem ricas em subclasses de flavonoides que absorvem neste comprimento de onda) e a soma dos picos em modo de ionização positiva (ESI+) e negativa (ESI-) para análise de MS (y_2 e y_3 , respectivamente). Apenas foram considerados picos com sinal/ruído (S/N) superiores a 3 [26]. Os parâmetros do espectrômetro

de massa foram definidos como: fluxo de gás de nebulização a 1,5 L/min; fluxo de gás de secagem a 15 L/min; temperatura do bloco de calor a 400 °C; temperatura da linha de dissolução a 250 °C, e um detector de tensão de 0,1 kV. A condição otimizada foi H₂O (A) e MeOH (B), ambas acidificadas com ácido 0,1% paramórmico (v/v) na seguinte eluição gradiente: 15-100% B de 0 a 60 min, a 0,3 mL/min e 30 °C. Os dados foram processados usando o software LabSolutions da Shimadzu.

Otimização do método da cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massa (GC-MS)

As análises de cromatografia gasosa foram realizadas utilizando-se um cromatógrafo GC-MS Clarus 680 (Perkin Elmer, EUA) acoplado a um Detector de Massa Clarus SQ 8 T. As separações cromatográficas foram realizadas utilizando-se uma coluna PerkinElmer Elite-5MS (30 m × 0,25 mm, 0,25 µm). Foi utilizado um delineamento DCCR de dois fatores para otimizar a separação cromatografia, onde x_1 = taxa de temperatura e x_2 = fluxo de gás transportador (Tabela 2). O número total de picos foi a resposta monitorada. A separação otimizada final foi: a temperatura do forno foi mantida isotérmica a 150 °C por 2 min e depois aumentou para 350 °C à taxa de 7 °C/min. As temperaturas do injetor GC e da linha de transferência MS foram fixas em 330 °C e 310 °C, respectivamente. O volume de injeção do extrato de n-heptano não concentrado (ponto central descrito em 2,3,3) foi de 2 µL com fluxo dividido de 5 ml/min. O gás hélio foi utilizado como gás transportador a uma vazão constante de 1,6 ml/min, e 6 min de atraso de solvente. A ionização da amostra foi realizada no modo EI (70 eV), e a faixa de massa de aquisição foi fixada em 50-600 amu.

Otimização do método de maceração dinâmica de duas fases líquidas (2-Mac)

Maceração dinâmica de duas fases líquidas (2-Mac) com agitação magnética com sensor de temperatura (Heidolph MR Hei-Tec, Alemanha) foi selecionada como a técnica de extração a ser otimizada. Uma mistura das diferentes partes dos subprodutos de soja coletadas diretamente do solo no dia da colheita mecânica, além da soja (60 mg de grão, galhos, folhas, vagens e raízes, num total de 300 mg) foi adicionada a um béquer de 22,5 mm de diâmetro interno. Em seguida, 3 mL de EtOH-H₂O 7:3 (v/v) e 3 mL de n-heptane foram adicionados no béquer. Os outros parâmetros variaram de acordo com um design Doehlert de quatro fatores, como

mostrado na Tabela 3. Todos os extratos produzidos foram centrifugados a 4000 rpm por 5 min (Eppendorf 5810 R, Alemanha) para acelerar a separação de fases. Os extratos de EtOH-H₂O 7:3 (v/v) e n-heptano produzidos simultaneamente foram filtrados (filtro de nylon de 0,22 µm) e analisados por UHPLC-PDA/UV-MS e GC-MS, respectivamente. A soma dos picos observados em ambos os tipos de cromatogramas foi selecionada como a resposta (y) a ser monitorada em cada experimento apresentado na Tabela 3. A condição final otimizada de extração foi Tempo: 35 min; Temperatura: 45 °C; Agitação magnética: 1400 rpm; Granulometria do material vegetal: 48-115 mesh. Para fins de anotação de pico, essa condição foi aplicada às partes individuais de subprodutos de soja ou soja que foram então analisados por UHPLC-QToF-MS/MS e GC-QToF MS.

Cromatografia líquida de alto desempenho acoplada à espectrometria de massa de tempo de voo (UHPLC-QToF-MS/MS)

O perfil metabólico de extratos concentrados de EtOH-H₂O 7:3 (v/v) (10 mg/mL) foi realizado em um sistema Agilent 1290 UHPLC (Agilent Technologies, EUA) acoplado a um espectrômetro de massa de quadrupole Agilent 6540 (QToF-MS), equipado com uma fonte ortogonal de ESI (Agilent Jet Stream, EUA). A condição UHPLC foi a condição otimizada descrita anteriormente. Além disso, uma análise UHPLC-QToF-MS/MS mais curta no modo negativo foi realizada usando uma coluna Zorbax Eclipse Plus C18, 100 × 2,1 mm; 1,8 µm (Agilent Technologies, EUA), e H₂O e ACN, ambos acidificados com ácido 0,01% paramórmico (v/v) (A e B, respectivamente) na seguinte evolução gradiente: 0-30% B em 0-7 min, 30-80% B em 7-9 min, 80-100% B em 9-11 min, 100% B em 11-13 min, e 0% B em 13-14 min. A vazão e a temperatura de análise foram mantidas em 0,5 mL/min e 30 °C, e o volume de injeção amostral foi de 5 µL. Os parâmetros de MS foram tensão capilar, 4000 V; pressão nebulizadora, 40 psi; taxa de fluxo de gás de secagem, 10 L/min; temperatura do gás, 350 °C; tensão de skimmer, 45 V; tensão fragmentor, 110 V. Ambos os modos MS e Auto MS/MS foram adquiridos nos valores m/z de 50 e 1100 e 50-800, respectivamente, e a uma taxa de varredura de 5 espectros por segundo. O software Agilent Mass Hunter de análise qualitativa (B.07.00) foi aplicado para processamento de dados pós-aquisição. Os metabólitos presentes nos extratos EtOH-H₂O 7:3 (v/v) foram anotados usando redes moleculares sociais de produtos naturais globais (GNPS) (<http://gnps.ucsd.edu>) e software MZmine 2.53 (<https://mzmine.github.io/>) [28]. Primeiro, os dados MS/MS foram convertidos em formato

mzML com software MSConvert de pacote ProteoWizard 3.0.6002 (ProteoWizard, EUA) [29–31].

Os arquivos convertidos foram carregados para a plataforma GNPS, e uma rede molecular foi criada usando o fluxo de trabalho on-line (<https://ccms-ucsd.github.io/GNPSDocumentation/>). Os dados foram filtrados removendo todos os íons de fragmentos ms/MS dentro de ± 17 Da dos espectros precursores m/z. MS/MS foram filtrados por janela, escolhendo apenas os seis íons de fragmento superiores na janela ± 50 Da em todo o espectro. As tolerâncias de íons de íons precursores e de íons de fragmentos de MS/MS foram definidas como 0,02 Da. Uma pontuação cosseno acima de 0,65 e mais de quatro picos combinados foram usados para criar as bordas da rede. Os espectros na rede foram pesquisados contra bibliotecas espectrais do GNPS. Os espectros da biblioteca foram filtrados da mesma forma que os dados de entrada. As partidas entre espectros de rede e espectros de biblioteca foram necessárias para ter uma pontuação acima de 0,65 e pelo menos quatro picos combinados. MolNetEnhancer, uma ferramenta do GNPS, e cytoscape versão 3.7.2 (Cytoscape Consortium, EUA) foram usados para a visualização da rede. Os espectros de íons do produto apresentados no GNPS foram verificados manualmente com anotação de literatura prévia. A tolerância a erros de massa adotada foi ≤ 10 ppm (Tabela 4). A classificação final dos compostos foi realizada utilizando-se jchem para Excel 21.1.0.787 - ChemAxon (<https://www.chemaxon.com>) e NPClassifier, com a classificação final utilizando ClassyFire.[32,33]

Cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massa de tempo de voo (GC-QToF-MS)

O perfil metabólito de extratos concentrados de n-heptano (10 mg/mL) foi feito usando um sistema Agilent 7890B (Agilent Technologies, EUA) acoplado a um quadrupole time-of-flight (QToF) 7200 (Agilent Technologies, EUA) equipado com uma interface de ionização eletrônica (EI). Uma Coluna Capilar Agilent Zorbax DB5-MS + 10 m Duragard (30 m $\times$ 250 μ m $\times$ 0,25 μ m), semelhante à coluna utilizada na otimização do método GC-MS, foi empregada para separação cromatográfica. O volume de injeção amostral foi de 1 μ L utilizando um fluxo dividido de 8,4 mL/min, e os outros parâmetros foram os mesmos do método GC-MS otimizado. Os metabólitos presentes nos extratos de n-heptano foram anotados usando o match

de espectros de massa na ferramenta Agilent Mass Hunter Unknown Analysis e bancos de dados espectrais em massa (ou seja, NIST MS Search v.2.0 e Fiehn Lib).

Resultados e discussão

Otimização de métodos analíticos

Como o principal objetivo deste trabalho foi identificar o maior número possível de metabólitos nos diferentes subprodutos da cultura da soja, os métodos foram otimizados para obter o maior número de picos cromatográficos com sinal/ruído ≥ 3 . [19,34] Para a otimização das separações, utilizando-se um projeto central composto rotacional (DCCR) de dois fatores, os sistemas UHPLC-PDA/UV-MS e GC-MS foram utilizados devido à sua maior disponibilidade quando comparados com os sistemas posteriormente empregados na etapa de aplicação, quando espectrômetros de massa de alta resolução foram utilizados para identificação provisória de compostos. Nesta etapa de otimização, as amostras injetadas nos sistemas UHPLC-PDA/UV-MS e GC-MS foram as preparadas utilizando os solventes EtOH-H₂O 7:3 (v/v) e um extrato de n-heptano, respectivamente, preparado com uma mistura de subprodutos de soja e o grão (material de referência) por maceração dinâmica de duas fases líquidas (2-Mac). A condição de extração foi a do ponto central do desenho experimental que deve ser utilizado posteriormente para a otimização da condição de extração (Tabela 3). Uma vez alcançadas as otimizações UHPLC-PDA/UV-MS e GC-MS, elas foram utilizadas para monitorar a eficiência de extração durante a otimização da própria extração de 2 Mac. Em ambos os casos, os extratos EtOH:H₂O 7:3 (v/v) produzidos simultaneamente e n-heptano por 2-Mac foram injetados nos sistemas cromatográficos logo após a filtragem [21]. Isso significa não realizar passo de concentração e resuspensão para melhorar o rendimento da amostra enquanto economiza solventes e energia, em consonância com os princípios 1, 2, 6, 7, 9, 10, 11 e 12 dos 12 Princípios da Química Analítica Verde (GAC).[35]

Otimização do método UHPLC-PDA/UV-MS

As variáveis e níveis selecionados para a CCRD (Tabela 1) foram baseados em testes preliminares e em revisão da literatura. A porcentagem inicial de B (MeOH) foi definida como fator na DCCR (Tabela 1), pois testes preliminares com fase móvel variando de 5 a 100% de MeOH levaram a picos principalmente espalhados na segunda metade do cromatógrafo [23–25,36]. Portanto, encontrar o gradiente de B com a distribuição de picos mais adequada através do cromatograma levaria ao maior número de picos identificados. Por outro lado, % HCOOH

na fase móvel foi selecionada como o outro fator no DCCR, pois esse ácido tem sido utilizado em trabalhos metabolômicos de soja e poderia melhorar a separação cromatográfica e a eficiência de ionização na espectrometria de massa [23–25,37–40]. O metanol foi escolhido como o modificador orgânico, pois está disponível como solvente de grau MS, sendo classificado como solvente "recomendado" no guia de seleção de solventes CHEM21 [41]. Embora a acetonitrila também esteja disponível como solvente de grau MS, ela é classificada como "problemática" de acordo com Prat et al. (2016).[41]

Tabela 1. Condições experimentais determinadas pelo design rotativo composto central de dois fatores para otimização de uma condição UHPLC-PDA/UV-MS para extratos feitos a partir de EtOH-H₂O 7:3 (v/v)

Experimento	% inicial de B (x_1) ^a	% de HCOOH no M.P. (x_2) ^a	Número total de picos		
			254 nm (y_1)	ESI (+) (y_2)	ESI (-) (y_3)
1	-1 (7.90)	-1 (0.16)	41	72	37
2	1 (22.10)	-1 (0.16)	36	75	39
3	-1 (7.90)	1 (0.44)	29	70	30
4	1 (22.10)	1 (0.44)	27	70	31
5	-1.41 (5)	0 (0.30)	32	73	33
6	1.41 (25)	0 (0.30)	31	70	33
7	0 (15)	-1.41 (0.10)	41	81	42
8	0 (15)	1.41 (0.50)	32	72	36
9 (CP) ^b	0 (15)	0 (0.30)	40	73	35
10 (CP) ^b	0 (15)	0 (0.30)	41	73	36
11 (CP) ^b	0 (15)	0 (0.30)	40	74	36
12 (CP) ^b	0 (15)	0 (0.30)	40	73	40
13 (CP) ^b	0 (15)	0 (0.30)	42	77	39

^a Valores codificados são dados sem suportes, enquanto os valores reais correspondentes são indicados em Suportes;

^b CP: ponto central.

Considerando os resultados UHPLC-PAD/UV em 254 nm (Tabela 1), fatores x_{12} , x_2 e x_{22} apresentaram influência significativa no número de picos cromatográficos (y_1) em nível de

confiança de 95%, com valor p de $5,7 \times 10^{-5}$, $8,1 \times 10^{-5}$ e $8,5 \times 10^{-3}$, respectivamente. Quando se considera os cromatogramas UHPLC-MS em nível de confiança de 95%, x_1^2 e x_2 foram fatores significativos, com valor p de $2,7 \times 10^{-2}$ e $5,2 \times 10^{-3}$ para ESI+ (y_2), e $3,9 \times 10^{-2}$ e $1,7 \times 10^{-3}$ para ESI- (y_3), respectivamente. Os modelos matemáticos resultantes de UHPLC-PAD/UV a 254 nm, UHPLC-MS em resultados de modo positivo e negativo (Tabela 1) são apresentados nas Equações 1, 2 e 3, respectivamente.

$$y_1 = 40.60 - 4.74 x_1^2 - 4.22 x_2 - 2.24 x_2^2 \quad (\text{Equação 1})$$

$$y_2 = 74.48 - 1.90 x_1^2 - 2.47 x_2 \quad (\text{Equação 2})$$

$$y_3 = 37.52 - 2.60 x_1^2 - 2.94 x_2 \quad (\text{Equação 3})$$

Os coeficientes de determinação (R^2) dos modelos descritos pelas Equações 1, 2 e 3 foram 0,92, 0,66 e 0,77, respectivamente. A significância estatística dos modelos foi verificada pelo teste F na ANOVA. As regressões foram significativas ($p < 0,05$) sem falta de ajuste; portanto, os dados experimentais foram descritos com sucesso pelos modelos. A Figura S1 ilustra a superfície de resposta do modelo para a resposta y_1 , que prevê o maior número de picos (43) ao usar 15% de MeOH e 0,16-0,30% de HCOOH. Assim, a menor concentração de HCOOH na faixa ideal (0,16%) foi preferível reduzir a quantidade de HCOOH utilizada, em consonância com o princípio 7 do GAC. [35]. Além disso, as condições ideais previstas para os modos negativos e positivos de MS (y_2 e y_3 , respectivamente) foram de 15% de MeOH e 0,10% de HCOOH, o que levaria a 42 e 78 picos, respectivamente. Ambas as condições previstas ideais foram testadas experimentalmente em triplicado, resultando em 40 ± 3 , 42 ± 0 e 79 ± 1 para UHPLC-PAD/UV a 254 nm, e UHPLC-MS em modos negativos e positivos, respectivamente. Todos esses valores coincidiram com os previstos, evidenciando que as otimizações para ambos os detectores foram alcançadas. Cromatogramas representativos das condições otimizadas são mostrados na Figura 1, com distribuições claras de picos em todo o cromatograma.

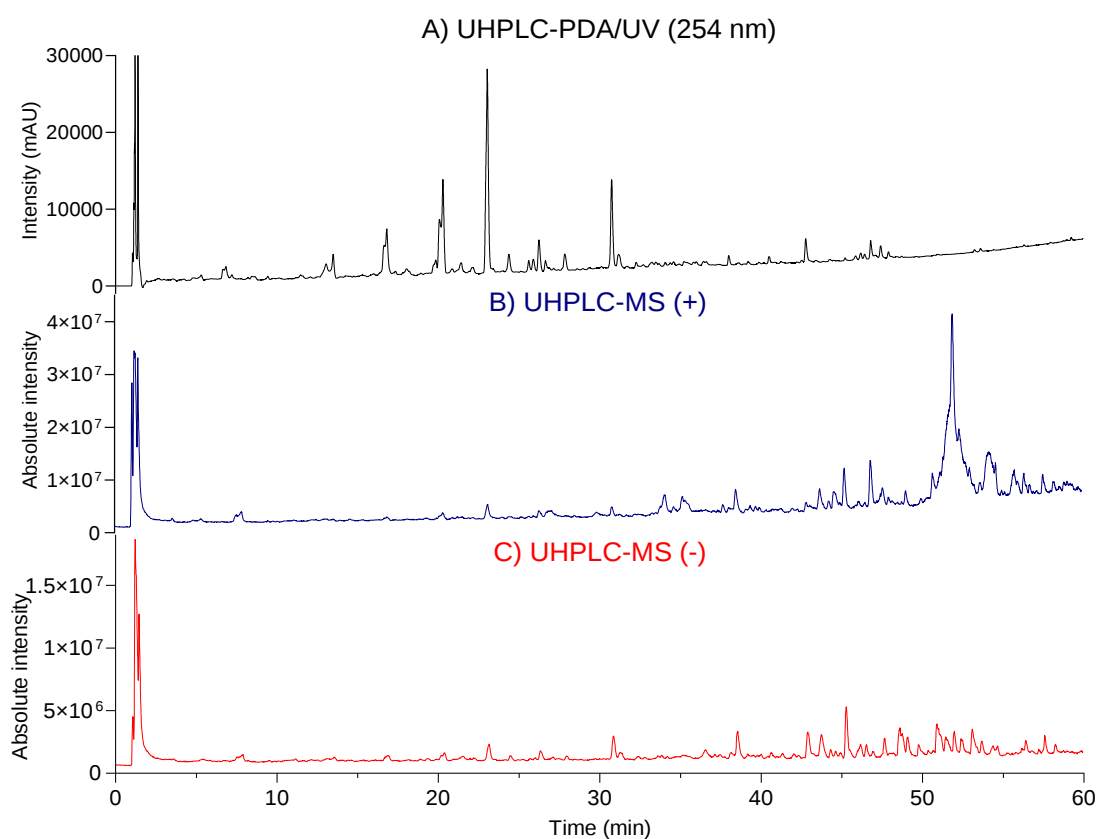


Figura 1. Cromogramas UHPLC-PDA/UV-MS representativos de uma mistura de subprodutos de soja (galhos, folhas, vagens e raízes) e com o grão. Coluna: Agilent Zorbax Eclipse Plus coluna C18 (150 mm × 2,1 mm × 1,8 μm). Fase móvel: 0,1 % HCOOH em H₂O e MeOH de 15 a 100 % de MeOH em 60 min. Taxa de fluxo: 0,3 mL/min. Temperatura da análise: 30 °C. Volume de injeção: 2 μL de extrato de EtOH:H₂O 7:3 (v/v) não concentrado.

Otimização do método GC-MS

Outro DCCR de dois fatores foi aplicado para otimizar a separação GC-MS para a análise de extratos de n-heptano obtidos por 2-Mac. Os experimentos do CCRD e seus resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Design rotacional composto central de dois fatores para a otimização de uma condição GC-MS para extratos de *n*-heptano

Experimento	Rampa de temperatura (x_1) ^a (°C/min)	Gás de arraste (x_2) ^a (mL/min)	Número total de picos (GC-MS)
1	-1 (4.60)	-1 (1.20)	56
2	1 (22.10)	-1 (1.20)	51
3	-1 (4.60)	1 (1.80)	44
4	1 (22.10)	1 (1.80)	61
5	-1.41 (4)	0 (1.50)	41
6	1.41 (8)	0 (1.50)	65
7	0 (6)	-1.41 (1.00)	50
8	0 (6)	1.41 (2.00)	56
9 (CP) ^b	0 (6)	0 (1.50)	67
10 (CP) ^b	0 (6)	0 (1.50)	65
11 (CP) ^b	0 (6)	0 (1.50)	66
12 (CP) ^b	0 (6)	0 (1.50)	59
13 (CP) ^b	0 (6)	0 (1.50)	61

^a Valores codificados são dados sem suportes, enquanto os valores reais correspondentes são indicados em Suportes;

^b Ponto central.

Em 95% de nível de confiança, fatores x_1 , x_{12} , x_{22} , e sua interação (x_1x_2) mostrou influência significativa no número de picos, com valor p de $3,5 \times 10^{-3}$, $7,9 \times 10^{-3}$, $7,9 \times 10^{-3}$ e $2,4 \times 10^{-2}$, respectivamente. Equação 4 é resultante de tal modelo matemático.

$$y_4 = 63.60 + 5.74 x_1 - 5.30 x_1^2 - 5.30 x_2^2 + 5.50 x_1 x_2 \text{ (Equação 4)}$$

O R^2 do modelo descrito pela Equação 2 foi de 0,85. A significância estatística do modelo foi verificada pelo teste F na ANOVA e avaliação dos p-valores. A regressão foi significativa ($p=0,002$) sem falta de ajuste, indicando que os modelos descrevem bem os dados experimentais. A Figura S2 ilustra a superfície de resposta do modelo para y_4 , que previu o maior número de picos (66) ao usar 7 °C/min e 1. 6 mL/min. Assim, a condição ideal prevista foi testada em triplicado, resultando em picos de 66 ± 3 , correspondendo ao valor previsto e

evidenciando novamente que a otimização foi alcançada. Um cromatograma representativo com a condição ideal é fornecido na Figura 2.

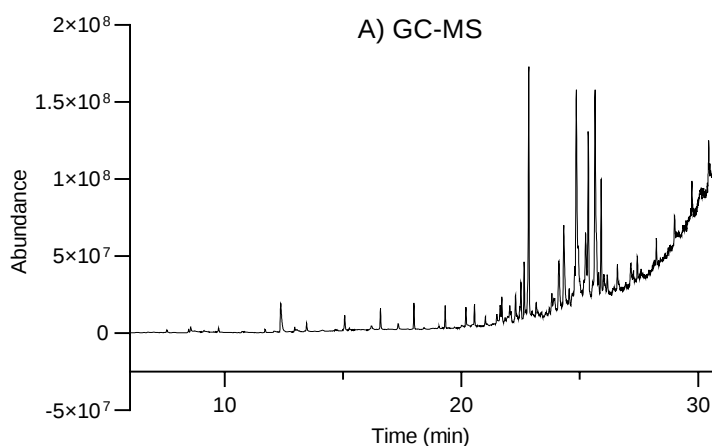


Figura 2. 1 Representante otimizado do cromatograma GC-MS da mistura de subprodutos de soja (galhos, folhas, vagens e raízes) e grão. Coluna: Coluna PerkinElmer Elite-5MS (30 m × 0,25 mm, 0,25 µm). Temperatura da linha de transferência do injetor e MS: 330 e 310 °C, respectivamente. Taxa de fluxo de hélio: 1,6 mL/min. Temperatura do forno: 150 °C (2 min); seguido por 350 °C à taxa de 7 °C/min. Volume de injeção: 2 µL do extrato n-heptano não concentrado com um split de 5 mL/min.

Otimização de uma maceração dinâmica de duas fases líquidas (2-Mac)

O design Doehlert foi aplicado para otimizar um 2-Mac. As condições experimentais e as respostas correspondentes estão listadas na Tabela 3. A resposta monitorada (y_5) foi a soma dos picos dos extratos EtOH-H₂O 7:3 (v/v) e n-heptano, conforme determinado com os métodos UHPLC-PDA/UV-MS e GC-MS previamente otimizados, respectivamente [19].

Tabela 3. Design Doehlert com quatro variáveis (x) normalizadas, utilizadas para a otimização de uma extração de fase de dois líquidos por maceração dinâmica, e o resultado para cada experimento (y).

Experimento	Tempo (min) (x_1) ^a	Temperatura (°C) (x_2) ^a	Agitação (rpm) (x_3) ^a	Granulometria (mesh) (x_4) ^a	Número total de picos (y) ^b
1	0 (20)	0 (35)	-0,75 (700)	1 (48)	268
2	0 (20)	1 (45)	0 (1000)	0 (31)	277
3	1 (35)	0,5 (40)	0 (1000)	0 (31)	274
4	0,33 (25)	0,5 (40)	1 (1400)	0 (31)	254
5	0,33 (25)	0,5 (40)	0,25 (1100)	1 (48)	293
6	0 (20)	-1 (25)	0 (1000)	0 (31)	212
7	-1 (5)	-0,5 (30)	0 (1000)	0 (31)	199
8	-0,33 (15)	-0,5 (30)	-1 (600)	0 (31)	255
9	-0,33 (15)	-0,5 (30)	-0,25 (900)	-1 (14)	183
10	-1 (5)	0,5 (40)	0 (1000)	0 (31)	244
11	-0,33 (15)	0,5 (40)	-1 (600)	0 (31)	239
12	-0,33 (15)	0,5 (40)	-0,25 (900)	-1 (14)	189
13	1 (35)	-0,5 (30)	0 (1000)	0 (31)	249
14	0,67 (30)	0 (35)	-1 (600)	0 (31)	235
15	0,67 (30)	0 (35)	-0,25 (900)	-1 (14)	222
16	0,33 (25)	-0,5 (30)	1 (1400)	0 (31)	236
17	-0,67 (10)	0 (35)	1 (1400)	0 (31)	233
18	0 (20)	0 (35)	0,75 (1300)	-1 (14)	206
19	0,33 (25)	-0,5 (30)	0,25 (1100)	1 (48)	279
20	-0,67 (10)	0 (35)	0,25 (1100)	1 (48)	244
21 (CP) ^c	0 (20)	0 (35)	0 (1000)	0 (31)	228
22 (CP) ^c	0 (20)	0 (35)	0 (1000)	0 (31)	268
23 (CP) ^c	0 (20)	0 (35)	0 (1000)	0 (31)	264
24 (CP) ^c	0 (20)	0 (35)	0 (1000)	0 (31)	238
25 (CP) ^c	0 (20)	0 (35)	0 (1000)	0 (31)	258

^a Valores codificados são dados sem suportes, enquanto os valores reais correspondentes são indicados em Suportes;

^b A soma dos picos obtidos por UHPLC-UV/MS (UV a 254 nm, e MS em modos positivos e negativos) e GC-MS para EtOH-H₂O 7:3 (v/v) e extrato de n-heptano, respectivamente;

^c Ponto central.

Em nível de confiança de 95%, as variáveis experimentais x_1 , x_2 e x_4 apresentam uma influência significativa no número total de picos, com p-valores de $2,5 \times 10^{-3}$, $3,1 \times 10^{-3}$ e $1,1 \times 10^{-6}$, respectivamente, levando ao modelo matemático mostrado na Equação 5:

$$y_5 = 241.88 + 19.80 x_1 + 22.20 x_2 + 35.55 x_4 \quad (\text{Equação 5})$$

O R^2 foi de 0,77, e a significância estatística do modelo foi confirmada pelo teste-F e avaliação dos p-valores. A regressão foi significativa ($p=8,2 \times 10^{-7}$) sem falta de ajuste, indicando que o modelo descreve satisfatoriamente os dados experimentais. A Figura S3 ilustra a superfície de resposta do modelo para y_5 . Os coeficientes das variáveis foram todos positivos, portanto, a resposta mais alta seria alcançada definindo os níveis das variáveis x_1 , x_2 , e x_4 ao seu mais alto, que correspondem a 35 minutos de tempo de extração, 45 °C, e tamanhos de partículas de 48-115 Malha. A rotação da barra magnética (x_3) foi fixada a 1400 rpm. A condição ideal prevista levaria a 270 picos. Em seguida, essa condição ideal e a melhor condição experimental do próprio CCRD original (exp. 5 da Tabela 3) foram realizadas em triplicado no mesmo dia, levando a 275 ± 6 e 270 ± 13 , respectivamente. Este resultado é compatível com a resposta ideal prevista, indicando que outra otimização foi alcançada com sucesso. Os cromatogramas de UHPLC-PDA/UV-MS e GC-MS obtidos para os extratos EtOH-H₂O 7:3 (v/v) e n-heptano produzidos a partir da condição de extração ideal são apresentados nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

Aplicando as condições otimizadas para o perfil metabólico dos subprodutos de soja

Uma vez otimizados os métodos de separação e extração, o próximo passo foi aplicar as condições ideais de separação para o primeiro perfil metabólito não-alvo de subprodutos coletados diretamente do solo após a colheita mecânica. Devido ao fato de que espectrômetros de massa de alta resolução foram utilizados nesta etapa, foram necessários ajustes em alguns parâmetros para chegar às melhores condições de identificação, conforme mencionado nos métodos UHPLC-QToF-MS/MS e GC-QToF-MS. Duas cultivares NA5909 foram amostradas desde que esta cultivar foi amplamente cultivado no Brasil, que é o maior produtor de soja. Os resultados confirmaram que foi realizado um procedimento abrangente e otimizado. Considerando a anotação dos compostos nos extratos EtOH-H₂O 7:3 (v/v) e n-heptano, foram identificados respectivamente 76, 76, 66 e 79 compostos para galhos, folhas, vagens e raízes, respectivamente. Foram 50 na commodity da soja, o grão (Tabelas 4 e 5). Os compostos anotados provisoriamente foram agrupados de acordo com o Classyfire e resumidos na Figura 65

3 [33]. Considerando todas as matrizes juntas, a classe dos ácidos graxos foi o grupo mais representativo, com 30 metabólitos. Os ácidos graxos são formados pelo alongamento em cadeia de um acetil-CoA com malonyl-CoA ou metilmalonil-CoA e contêm uma vasta funcionalidade como lipídios biológicos [42]. Flavonoides e isoflavonóides foram o segundo e terceiro grupos mais representados, com 16 e 15 metabólitos, respectivamente (Figura 3, Tabela 4). Ambas têm sido atividades amplamente conhecidas na defesa vegetal, além de benefícios para a saúde humana [43,44]. Em seguida, apareceram lipídios de prenol (14), esteroides e derivados de esteroides (10), e ácidos carboxílicos e derivados (8) (Figura 3, Tabelas 4 e 5). Estes correspondem a substâncias fundamentais nas plantas, sendo o precursor de vários metabólitos especializados e constituindo vitaminas, mono-, sesqui-, e triterpenos, e outros compostos de alto valor agregado [42]. A abundância desses metabólitos em subprodutos de soja aumenta seu potencial como fonte de compostos bioativos, especialmente para a indústria alimentícia e farmacêutica. Segue-se uma análise mais detalhada por extrato/matriz.

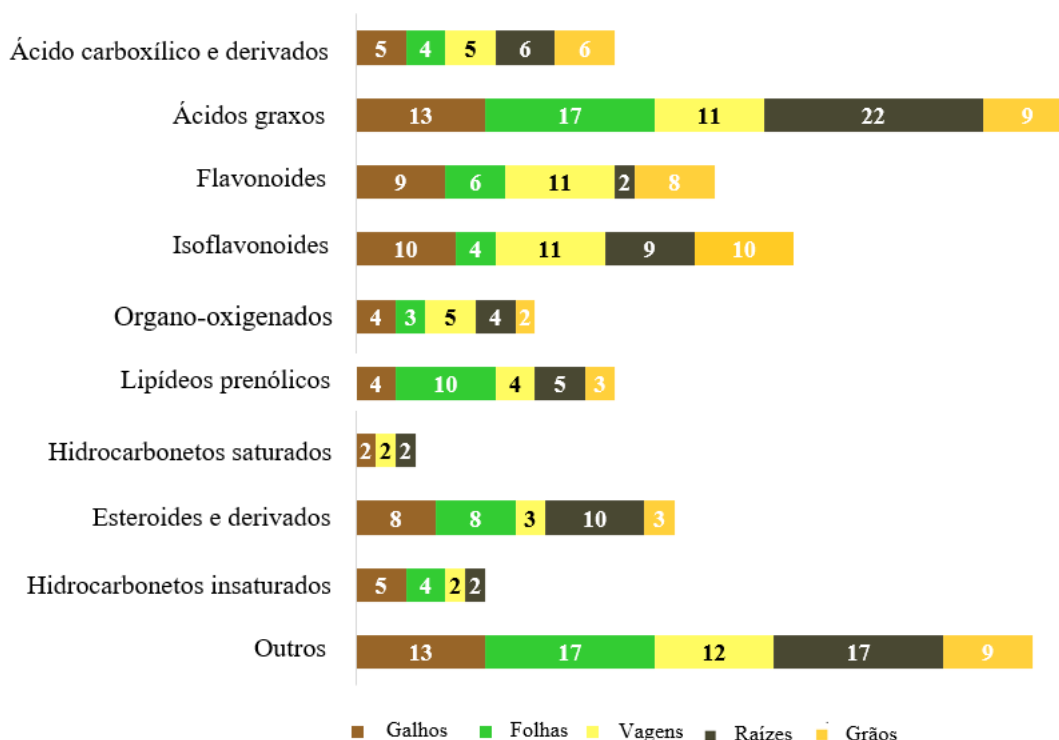


Figura 3. Número de compostos identificados nos diferentes extratos de subprodutos e soja. Eles foram agrupados de acordo com o Classyfire [33]. Para anotação do composto, consulte Tabelas 4 e 5.

Anotação de compostos nos extratos de EtOH-H₂O 7:3 (v/v) por UHPLC-ESI-QToF-MS/MS

Os extratos de EtOH-H₂O 7:3 (v/v) dos subprodutos individuais, bem como da soja, foram analisados por UHPLC-ESI-QToF-MS. A anotação dos íons foi realizada comparando os dados de MS/MS com a biblioteca de referência espectral do GNPS [29]. Além disso, os candidatos obtidos pelo GNPS tiveram sua compatibilidade com as massas adquiridas de alta resolução, bem como com relatórios prévios de sua ocorrência em subprodutos de soja [14].

Um total de 67 metabólitos foram identificados nos extratos de EtOH-H₂O 7:3 (v/v) de peças de soja resumidos na Tabela 4. Dezesesseis deles eram isoflavonóides, uma classe de compostos que têm sido amplamente conhecidos por suas propriedades bioativas. Foram 11, 10, 10, 9 e 4 em vagens, galhos, soja, raízes e folhas, respectivamente (Tabela 4). Formononetina 7-O-glucoside (ononin) e genisteína, que são isoflavonóides, foram identificados em todos os subprodutos de soja (Tabela 4). Ononina tem sido relatado pelo seu potencial efeito anti-angiogênese e neuroprotetor, enquanto a administração genisteína tem sido relacionada com a redução de alguns fatores de risco cardiovascular [45–47]. Além disso, uma revisão sistemática sobre fitoestrogênios e sintomas da menopausa apontou para o potencial de extratos com altos níveis de genisteína (> 30 mg/d) no tratamento para efeitos climatéricos. [48] Os flavonoides corresponderam a 16 compostos, sendo 11, 9, 8, 6 e 2 identificados em vagens, galhos, soja, folhas e raízes, respectivamente, sendo quatro deles identificados apenas na soja (Tabela 4). Os flavonoides glicosídeos, como kaempferol 3-O-glucosideo (astragalina), kaempferol 3-O-sophorosideo (sophoraflavonolosideo), e luteolina 7-O-glucoside (cynarosideo), foram identificados em pelo menos um subproduto de soja. Entre eles, sophoraflavonolosideo só esteve presente na soja (Tabela 4). Estes compostos mostraram propriedades antitumorais e anti-inflamatórias.[49–51]

Tabela 4. Lista de compostos identificados provisoriamente nos extratos EtOH-H₂O 7:3 (v/v) dos subprodutos de soja, galhos (B), folhas (L), vagens (P) e raízes (R) e sementes (S) por UHPLC-ESI-QToF-MS.

Número do pico	Tr (min)	Identificação	Classificação	Fórmula molecular	Ion molecular	Massa mensurada (Δ ppm)	MS/MS fragmentos (abundância relativa)	B	L	P	R	S	Ref.
1	1.54	Acetyl-L-Carnitina	Ácidos graxos	C ₉ H ₁₇ NO ₄	[M+H] ⁺	204.123(-6.5)	85.0289 (100), 43.0190 (41.9), 87.0419 (29.8)		X		X		*
2	1.57	Adenina	Imidazopyrimidina	C ₅ H ₅ N ₅	[M+H] ⁺	136.0618(0.9)	119.0360 (100), 94.0520 (34.8), 82.0490 (17.1)	X	X	X	X		[52]
3	1.79	5'-Deoxy-5'-(methylsulfinyl)adenosina	5'-deoxyribonucleoside	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₄ S	[M+H] ⁺	314.0918(2.7)	136.0639 (100), 97.03099 (61.2), 164.0570 (10.7)	X			X		[52–54]
4	1.86	Meglutol	Ácidos graxos	C ₆ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	161.0455(8.4)	57.0359 (100), 59.0149 (33.1), 41.0040 (32.1)	X	X	X	X	X	[55]
5	1.88	Adenosina	Purine nucleosideo	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	[M+H] ⁺	268.104(-3.5)	136.0619 (100), 137.0610 (11), 119.0350 (8.8)	X	X	X	X	X	[52–54]

6	1.93	Tirosina	Ácido carboxílico e derivados	C ₉ H ₁₁ NO ₃	[M+H] ⁺	182.0812(0.2)	91.0530 (100), 56.9430 (59.8), 136.0740 (49.6)					X	X	[52, 53]
7	2.32	Ácido pantothenico	Ácido carboxílico e derivados	C ₉ H ₁₇ NO ₅	[M-H] ⁻	218.1034(7.8)	71.0459 (100), 44.0149 (72.1), 88.0459 (64.6)	X	X	X	X	X		[52]
8	2.37	N-Fructosyl isoleucina	Ácido carboxílico e derivados	C ₁₂ H ₂₃ NO ₇	[M+H] ⁺	294.1547(-4.2)	230.1269 (100), 258.1340 (99.9), 86.0940 (88.1)	X	X	X	X			*
9	2.58	3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-6-[(2R,3R,4R)-3,4-dihydroxy-4-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]oxymethyl]-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxy-2-methylpyran-4-ona	Organo-oxigenio	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₂	[M+H] ⁺	421.1341(2.5)	127.0390 (100), 69.0329 (11.3), 128.0410 (7.4)	X	X	X	X			*
	2.95				[M+Na] ⁺	443.116(-4.9)	317.0830 (100), 149.0189 (29.5), 214.0879 (21.2)							
10	2.61	Leucina	Ácido carboxílico e derivados	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	132.1019(6)	72.9369 (100), 43.0499 (98.7), 44.0489 (71)	X	X	X	X	X		[52, 56, 57]
11	2.77	Pelargonina	Flavonoide	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	[M]	595.1657(5.6)	271.0639 (199), 433.1099 (77.9), 272.0669 (55.2)				X	X		*
12	2.81	Dianthosideo	Organo-oxigenio	C ₁₂ H ₁₆ O ₈	[M+H] ⁺	289.0918(1.1)	127.0390 (100), 256.0559 (11.1), 128.0449 (10.6)	X	X	X	X			*

13	2.92	Benzoic acid + 2O, O-Hex	Organo-oxigenio	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	[M-H] ⁻	315.0722(4.9)	109.0299 (100), 153.0209 (41.3)	X	X	X	X	X	*
14	3.43	Glutamyltyrosina	Ácido carboxílico e derivados	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₆	[M+H] ⁺	311.1238(0.1)	136.0740 (100), 84.0439 (98), 165.0540 (77.3)			X		X	[58]
15	3.47	Ácido D-pantothenic	Organo-oxigenio	C ₉ H ₁₇ NO ₅	[M+H] ⁺	220.1179(-3.4)	90.0540 (100), 58.0639 (27.8), 98.0220 (22.8)			X	X	X	[52]
16	3.64	Coatlina B	Linear 1,3-diarylpropanoide	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	451.1246(5.4)	149.0489 (100), 176.0359 (79.8), 207.0429 (77.8)				X		*
17	4.15	2,6-Dihydroxy-2-[(4-hydroxyphenyl)methyl]-4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[[[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-1-benzofuran-3-one	Flavonoide	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	595.1668(1.3)	269.0469 (100), 259.0639 (82.9), 125.0250 (47.1)					X	*
18	4.22	1-[2,4-Dihydroxy-3-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]phenyl]-2-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)propan-1-one	Linear 1,3-diarylpropanoide	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	435.1297(4.9)	315.089 (100), 163.0410 (81.2), 190.0290 (76.5)	X		X	X	X	*
19	4.25	3,5-Dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one	Flavonoide	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	449.1089(5.5)	125.0260 (100), 259.0639 (46.8), 269.0480 (46)	X		X	X	X	*

20	4.36	12-Hydroxyjasmonate sulfate	Ácidos graxos	C ₁₂ H ₁₈ O ₇ S	[M-H] ⁻	305.07(9.4)	96.9629 (100), 59.0139 (43.7), 79.9580 (20.1)	X	X	X	X	X	*
21	4.39	Salicylamide	Fenol	C ₇ H ₇ NO ₂	[M-H] ⁻	136.0404(7.3)	41.9990 (100), 93.0350 (99.2), 91.0199 (33.2)	X		X	X		*
22	4.64	Ácido 3-[(1-Carboxyvinyl)oxy]benzoic	Benzeno e substitutos derivados	C ₁₀ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	207.0299(9.2)	93.0329 (100), 79.9560 (40.4), 135.0379 (25.3)				X		*
23	4.69	Ácido 4-Hydroxycinnamic	Ácido cinámico e derivados	C ₉ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	163.0401(8.8)	119.0490 (100), 93.0339 (53.6), 117.0189 (19.2)	X	X		X	X	[56, 57]
24	4.79	Isoflavona base + 2O, O-Hex	Isoflavonoide	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M+HCOO] ⁻	461.1089(1.9)	253.0529 (100), 44.9980 (48.6), 252.0449 (48.3)	X		X	X	X	*
25	5.00	3-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-5-[(3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxochromen-4-one	Isoflavonoide	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+FA-H] ⁻	491.1195(4.3)	283.0620 (100), 282.0580 (41.1), 445.1170 (36.5)					X	*
26	5.08	N-Acetyltryptophan	Ácido carboxílico e derivados	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₃	[M-H] ⁻	245.0932(9.1)	74.0250 (100), 58.0330 (63.3), 116.0500 (40.4)	X		X	X	X	[59]

27	5.15	Kaempferol 3-O-sophoroside	Flavonoide	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M-H] ⁻	609.1461(3.3)	284.0350 (100), 285.0419 (60.5), 255.0319 (28)	X	X	X		X	[54]
28	5.16	Prunina	Flavonoide	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	433.114(6.6)	151.0040 (100), 119.0490 (58.1), 271.0640 (53.4)					X	[60]
29	5.32	Daidzina	Isoflavonoide	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	415.1035(6.1)	252.0460 (100), 253.0520 (58.5), 223.0429 (35.6)	X		X	X	X	[17,54,57,61-68]
30	5.52	D-Tryptophano	Indoles e derivatives	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	205.0972(-0.8)	146.0579 (100), 118.0660 (36.9), 144.0800 (25.6)	X	X	X	X	X	[54,57,62]
31	5.52	L-Tryptophano	Indoles e derivatives	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	205.0972(-0.8)	118.0650 (100), 91.0530 (97.5), 115.0540 (65.7)	X	X	X	X	X	[54,57,62]
32	5.54	Indole-3-carboxyaldehyde	Indoles e derivatives	C ₉ H ₇ NO	[M-H] ⁻	144.0455(6.3)	115.0429 (100), 99.9260 (59.9), 65.9990 (44.1)	X		X	X		*
33	5.62	Luteolina 7-O-glucosideo	Flavonoide	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.0933(6.3)	285.0429 (100), 286.0469 (34.9), 284.0360 (30.4)			X			[57]

34	5.65	5,7-Dihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-[3,4,5-trihydroxy-6-[[[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxychromen-4-one	Flavonoide	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	623.1618(3.6)	299.0230 (100), 314.0469 (56.4), 300.0419 (35.5)	X						*
35	5.78	Methylthioadenosine	5'-deoxyribonucleoside	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	[M+H] ⁺	298.0968(0.9)	136.0619 (100), 84.9589 (22.4), 61.0099 (11.2)					X		[53, 54]
36	17.91 6.19	Apigenina 7-O-glucoside ^y	Flavonoide	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺ [M-H] ⁻	433.1129(1.1) 431.0984(5.6)	271.0580 (100), 272.0660 (20.7), 273.0650 (2.1) 268.0400 (100), 269.0459 (25.4), 211.0420 (8)	X	X	X		X		[69]
37	6.05	Kaempferol 3-O-glucosideo	Flavonoide	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.0933(3.6)	284.0350 (100), 255.0319 (88.3), 227.0379 (79.2)	X	X	X				[70]
38	6.26	Ácido isoleucyl-glutamico	Ácido carboxílico e derivados	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₅	[M+H] ⁺	261.1445(3.5)	84.0439 (100), 86.0960 (87.5), 44.0499 (15)	X	X			X	X	*
39	6.37	Isoflavone base + 4O, O-MalonylHex	Flavonoide	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	533.0937(4.5)	285.0429 (100), 489.1090 (75), 284.0350 (58.6)	X			X			*
40	6.38	Ácido benzenesulfonimidico	Benzene e substituos derivados	C ₆ H ₇ NO ₂ S	[M-H] ⁻	156.0125(7.2)	63.9630 (100), 79.9639 (97.6), 92.0500 (73)				X	X	X	*

41	6.89 22.10	Formononetina 7-O-glucosideo	Isoflavonoide	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	[M+HCOO] ⁻ [M+H] ⁺	475.1246(3.4) 431.1337(-2.2)	44.9980 (100), 267.0690 (91.4), 252.0460 (54.8) 269.0790 (100), 270.0820 (20.6), 213.0899 (10.9)	X	X	X	X		[54,61]
42	6.97	Genisteina	Isoflavonoide	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.0455(8)	117.0350 (100), 63.0239 (64.8), 65.029 (57.1)	X	X	X	X	X	[17,61-64,68]
43	6.98	Ácido kynurenic	Quinolina e derivativo	C ₁₀ H ₇ NO ₃	[M+H] ⁺	190.0499(4.9)	116.0479 (100), 89.0390 (83.8), 144.0420 (29.9)		X	X			[60]
44	7.01	Isoliquiritigenina	Linear 1,3-diarylpropanoide	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	[M-H] ⁻	255.0663(9.1)	91.0189 (100), 119.0490 (81.7), 44.9990 (63.5)	X	X	X	X		[71]
45	7.36	Biochanina A	Isoflavonoide	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	283.0612(5.3)	91.0189 (100), 211.0429 (91.1), 135.0099 (83.4)	X	X		X		[54]
46	7.57	Ácido 4-O-Beta-D-glucosyl-trans-4-coumarica	Organo-oxigenio	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	[M+NH ₄] ⁺	344.134(-1.7)	147.0440 (100), 165.0540 (84.8), 85.0299 (60.3)			X			*
47	8.15	Naringenina	Flavonoide	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	271.0612(9.2)	119.0500 (100), 65.0029 (54.2), 107.0139 (47.2)			X		X	[59]

48	8.62	Retusina 7-methyl ether	Isoflavonoide	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	[M-H] ⁻	297.0768(8.9)	239.0380 (199), 195.0470 (85.5), 117.0320 (80.5)	X	X	X	X		*
49	8.95	Neobavaisoflavona	Isoflavonoide	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	[M-H] ⁻	321.1132(9.6)	265.0530 (100), 277.0540 (58.3), 91.0190 (38.3)	X			X		[57, 61]
50	9.07	Ácido (2S,3S,4S,5R,6R)-6- [[[(3S,6aR,6bS,8aS,14bR)-8a-carboxy- 4,4,6a,6b,11,11,14b-heptamethyl- 1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a- tetradecahydropicen-3-yl]oxy]-3,4,5- trihydroxyoxane-2-carboxylic	Lípídeos de prenol	C ₃₆ H ₅₆ O ₉	[M-H] ⁻	631.3852(4)	75.0090 (100), 85.0289 (86.9), 113.0210 (78.3)		X				*
51	9.09	2-Methyl-4-oxo-4H-pyran-3-yl 6-O-(4- carboxy-3-hydroxy-3-methylbutanoyl)- beta-D-glucopyranosideo	Saccharolípídeo	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₂	[M+H] ⁺	433.1341(- 5.4)	127.0390 (100), 128.0410 (6.8), 85.0279 (6.6)	X	X	X	X	X	*
52	9.60	Ácido 9-hidroxy-10,12- octadecadienoico	Ácido graxo	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	[M-H] ⁻	295.2279(9.6)	277.2210 (100), 195.1410 (68.4), 59.0149 (56.9)		X	X	X	X	[72]
53	10.69 52.56	1-(9Z-Octadecenoyl)-sn-glycero-3- phosphoethanolamina	Glycerophospholípídeo	C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P	[M+HCOO]] ⁻ [M+H] ⁺	564.3307(3.2) 520.3398(- 2.4)	279.2359 (100), 78.9589 (32.3), 44.9980 (24.1) 184.0690 (100), 104.1029 (30.4), 89.9280 (19.4)	X	X		X	X	*

54	11.23	2,4,6-Trihydroxy-2-[(4-hydroxyphenyl)methyl]-1-benzofuran-3-ona	Aurone flavonoide	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	[M+H] ⁺	289.0707(-3)	243.0630 (100), 215.0690 (68.8), 149.0240 (63.7)						X	*
55	12.28	Loliolideo	Benzofurano	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	[M+H] ⁺	197.1172(-6.2)	133.1000 (100), 107.0859 (81.2), 179.1049 (44)		X					*
56	14.08	Biochanin A 7-O-glucosideo	Isoflavonoide	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	447.1286(-4.6)	285.0729 (100), 286.0780 (19.6), 270.0509 (9.3)			X			X	[54]
57	16.56	Undecaethyleno glycol	Organo-oxigênio	C ₂₂ H ₄₆ O ₁₂	[M+H] ⁺	503.3062(-6)	45.0330 (100), 89.0589 (96.6), 133.0839 (34.9)	X						*
58	17.03	3-[(2S,4S,6R)-6-[(2R,3R,4R,5S,6S)-3,5-dihydroxy-6-methyl-4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxymethyl]-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxy-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one	Flavonoide	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	[M+Na] ⁺	779.2005(-3.7)	493.1530 (100), 494.1539 (29.7), 347.0929 (8.7)	X	X	X				*
59	17.25	Genistina [‡]	Isoflavonoide	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.1129(-2.8)	271.0589 (100), 272.0629 (22.8), 153.0180 (7.5)	X		X	X	X		[17,5 7,61– 65,67]

60	17.28	Salipurposideo	Flavonoide	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	[M+Na] ⁺	457.1105(-8.1)	185.0429 (100), 295.0549 (91.8), 337.0520 (74.8)						X	*
61	17.78 18.54	Kaempherol 3-O-(2,6-di-O-rhamnosyl)galactosideo	Flavonoide	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	[M+H] ⁺ [M+Na] ⁺	741.2237(-2.6) 763.2056(-3.4)	287.0549 (100), 129.0540 (25.4), 288.0570 (19) 477.1579 (100), 478.1549 (23.6), 331.1000 (22)	X	X	X				[62]
62	18.02	Kaempferol 3-O-beta-sophorosideo	Flavonoide	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M+Na] ⁺	633.1426(1.9)	347.0939 (100), 348.0989 (14.8), 308.0270 (7.2)	X	X	X			X	[54]
63	20.57	6"-O-Malonylglycitina	Isoflavonoide	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₃	[M+H] ⁺	533.129(-4.8)	118.0640 (100), 91.0530 (64.8), 146.0580 (55.4)			X				[54,6 2– 64]
64	20.76	6"-O-Malonyldaidzina	Isoflavonoide	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₂	[M+H] ⁺	503.1184(-5.4)	255.0650 (100), 256.0660 (21.7), 199.0750 (2.36)	X		X			X	[17,5 4,57, 61– 67]
65	20.99	6"-O-Malonylgenistina	Isoflavonoide	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃	[M+H] ⁺	519.1133(-4.1)	271.0590 (100), 272.0650 (24.8), 153.0170 (3.0)						X	[54,5 7,61– 65,67]
66	25.33	Daidzeina	Isoflavonoide	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M+H] ⁺	255.0652(-2.3)	137.0220 (100), 91.0530 (89.9), 199.0749 (73.9)	X		X	X	X	X	[17,5 4,56, 57,61 –68]

67	27.22	Formononetina 7-O-glucosideo-6"-O-malonato	Isoflavonoide	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M+H] ⁺	517.1341(-4.4)	269.0799 (100), 270.0840 (17.5), 271.0880 (1.3)			X		X	[57]
----	-------	--	---------------	---	--------------------	----------------	---	--	--	---	--	---	------

*Significa que nenhum composto correspondente foi relatado em "soja" ou "Glycine max" no SciFinder.

‡Apigenina 7-O-glucoside e genistina apresentam a mesma fórmula molecular e íons de fragmento semelhantes em M.

É importante destacar que compostos identificados em extratos de EtOH-H₂O 7:3 (v/v) de subprodutos de soja, como daidzeína, daidzina, genisteína, genistina e glycitina são classificados como fitotoxinas [6]. Zoccolo (2010) [73] e posteriormente Hama et al. (2021) [6] relataram a presença desses compostos em solos agrícolas e córregos próximos às culturas de soja, que por sua vez estavam próximos a assentamentos humanos. Assim, a recuperação desses isoflavonóides de pelo menos parte dos subprodutos da soja seria uma vantagem do ponto de vista ambiental para a diminuição dos potenciais efeitos indesejáveis associados ao grande acúmulo de isoflavonóides no ambiente. [17] Isso estaria em consonância com uma "produção responsável" de soja, conforme recomendado pelo número 12 dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU. Além disso, essa prática pode potencialmente levar a ganhos econômicos na cadeia produtiva da soja, desenvolvendo extratos comerciais de valor agregado padronizados em isoflavonas bioativas a partir de subprodutos em uma abordagem biorrefinaria.

Anotação de compostos nos extratos de n-heptano por GC-QToF-MS

Os extratos de n-heptano dos subprodutos individuais, bem como da soja, foram analisados por GC-QToF-MS (Figura S4). Os dados de MS foram combinados com as bibliotecas NIST e Fiehn. Foram alcançados fatores de alta correspondência (>70) entre o espectro de MS dos candidatos e dessas bibliotecas, conforme demonstrado na Tabela 5. Um total de 79 metabólitos foram identificados provisoriamente em extratos de subprodutos de soja ou soja, conforme resumido na Tabela 5. A maioria deles (50) foi identificada pela primeira vez em tecidos de plantas de soja, o que pode ser porque poucos trabalhos na literatura utilizaram solventes não-polares para a extração e análises subsequentes de peças de soja ou subprodutos [74,75]. Os solventes não-polares, como o hexano, têm sido usados principalmente para “desengordurar” as matrizes vegetais por extrações de líquido sólido ou líquido-líquido em um pré-tratamento da amostra chamada "eliminação de interferentes lipofílicos" [19,20]. O extrato ou fração não polar produzidos são frequentemente descartados sem análise de sua composição, potencialmente perdendo informações fitoquímicas valiosas como confirmado neste trabalho. Vinte e seis metabólitos identificados provisoriamente em extratos de n-heptano foram ácidos graxos, que é o grupo com maior número de compostos anotados (Tabela 5). A maioria desses compostos foi identificada nas raízes da soja (18),

seguida por folhas (13), galhos (11), vagens (8) e grão (6). Ácidos graxos, como os ácidos hexadecenóicos, octadecanoicos e eicosanoicos, têm sido usados em indústrias dermatológicas, nutracêuticas e outras, pois apresentam propriedades anti-inflamatórias e atividades antibacterianas [76,77]. O segundo grupo mais representativo de compostos presentes nos extratos de n-heptano foram esteroides e seus derivados, com 14 compostos anotados. Particularmente, α -tocopherol, campesterol e estigmas foram identificados em todos os subprodutos da soja. α -Tocopherol tem sido usado em aplicações nutracêuticas e dermatológicas, pois apresenta benefícios antioxidantes, anti-inflamatórios e outros benefícios para a saúde humana [78,79]. Por outro lado, campesterol e estigmasterol têm sido explorados para o tratamento potencial do câncer de ovário humano e propriedades neuroprotetoras, respectivamente [80,81]. Além disso, lipídios de prenol, fitosteróides, hidrocarbonetos insaturados e saturados foram identificados em subprodutos de soja, representando uma variedade diversificada de compostos nesses materiais.

Tabela 5. Lista de compostos provisoriamente identificados nos extratos de n-heptano dos subprodutos de soja, galhos (B), folhas (L), vagens (P) e raízes (R), e sementes por GC-QToF-MS.

Número do pico	Tr (min)	Identificação	Classificação	Fator de similaridade	Fórmula molecular	B	L	P	R	S	Ref.
1	7.29	4-Noneno, 3-metil-, (Z)-	Hidrocarbonetos insaturados	89.5	C ₁₀ H ₂₀		X				*
2	7.30	1-Penteno, 3,3-dimetil-	Hidrocarbonetos insaturados	74.3	C ₇ H ₁₄			X			*
3	7.42	(S)-3-Etil-4-metilpentanol	Compostos organooxigenados	73.7	C ₈ H ₁₈ O		X				*
4	7.61	1,3-Dioxolano, 4-metil-2-propil-	Dioxolanos	72.3	C ₇ H ₁₄ O ₂			X			*
5	7.62	Ácido decanóico, 3-metil-	Ácidos graxos	79	C ₁₁ H ₂₂ O ₂		X				[82]
6	7.68	2-hidroxidecanoato de metilo	Ácidos graxos	76.9	C ₁₁ H ₂₂ O ₃		X				*
7	7.78	Ciclohexano (1,2-dimetilbutil)-	Hidrocarbonetos saturados	72.8	C ₁₂ H ₂₄			X			*
8	7.95	Etanona, 1-ciclopropil-	Compostos organooxigenados	81	C ₅ H ₈ O	X					*
9	8.09	4-Octeno, 2,3,6,7-tetrametil-	Hidrocarbonetos insaturados	85.2	C ₁₂ H ₂₄	X	X	X			*
10	8.87	2,4-Dimetilciclopentanona	Compostos organooxigenados	83.5	C ₇ H ₁₂ O		X				*
11	9.05	5-Undeceno, 7-etenil-	Hidrocarbonetos insaturados	72.7	C ₁₃ H ₂₄		X				*
12	10.02	3-Tudo-1-ol	Ácidos graxos	71	C ₇ H ₁₄ O			X			[83]
13	10.08	cis-7,10-hexadecadienal	Ácidos graxos	90.6	C ₁₆ H ₂₈ O				X	X	*
14	10.17	5,7-dimetil-1,6-Octadieno, (R)-	Hidrocarbonetos insaturados	84.8	C ₁₀ H ₁₈				X		*

15	10.41	Ácido hexadecanóico	Ácidos graxos	89.5	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	X	X	X	X	X	[84]
16	10.50	Ácido 17-octadecinoico	Ácidos graxos	79.5	C ₁₈ H ₃₂ O ₂				X		*
17	11.22	1,4,9-Decatrieno, (E)-	Hidrocarbonetos insaturados	82.1	C ₁₀ H ₁₆				X		*
18	11.99	E-2-Octadecadecen-1-ol	Compuestos organooxygenados	72.7	C ₁₈ H ₃₆ O		X				*
19	12.03	Ciclopentano	Hidrocarbonetos insaturados	76.1	C ₅ H ₈	X					*
20	12.30	Phytol	Lípidios prenol	90.5	C ₂₀ H ₄₀ O		X				[85,86]
21	12.62	ácido trans-13-octadecenoico	Ácidos graxos	75.9	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	X	X	X		X	[87]
22	12.64	Ácido 9,12,15-octadecatrienoico, (Z,Z,Z)-	Ácidos graxos	90.2	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	X	X	X	X	X	[54,56,57]
23	12.68	Ácido oxálico, éster ciclo-hexílico	Ácidos carboxílicos e derivados	72.3	C ₁₄ H ₂₄ O ₄		X				*
24	12.75	ácido cis-vacênico	Ácidos graxos	89.7	C ₁₈ H ₃₄ O ₂				X		[88]
25	12.94	Ácido 9,12-octadecadienoico, éster metílico, (E,E)-	Ácidos graxos	80.7	C ₁₉ H ₃₄ O ₂				X		[89]
26	13.00	Ácido octadecanoico	Ácidos graxos	87	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	X	X	X	X	X	[90]
27	13.13	Nonanamida	Ácidos graxos	70.4	C ₉ H ₁₉ NO		X				*
28	13.17	Hexadecanamida	Ácidos graxos	81.3	C ₁₆ H ₃₃ NO	X			X		[70]
29	14.56	2-(2,3-dimetilciclopentil)propano-1-ol	Lípidios prenol	82.4	C ₁₀ H ₂₀ O		X				*
30	14.57	Ciclopentano, 1-metil-3-(1-metiletil)-	Hidrocarbonetos saturados	77.8	C ₉ H ₁₈				X		*
31	14.59	4-Undeceno, 6-metil-	Hidrocarbonetos insaturados	82.1	C ₁₂ H ₂₄	X					*
32	15.00	E, Z-2, 13-octadecadieno-1-ol	Ácidos graxos	71.2	C ₁₈ H ₃₄ O				X		*

33	15.00	Ciclohexanemetanol	Compostos organooxigenados	81.5	C ₇ H ₁₄ O		X				*
34	15.35	9-Octadecenamida, (Z)-	Ácidos graxos	88.7	C ₁₈ H ₃₅ NO				X		[91]
35	15.39	Ácido eicosanóico	Ácidos graxos	84.3	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	X	X	X	X		[92]
36	15.52	Biciclo[5.2.0]nonano, 4-metileno-2,8,8-trimetil-2-vinil-	Hidrocarbonetos insaturados	79	C ₁₅ H ₂₄		X				*
37	15.65	Tetradecanamida	Ácidos graxos	78.5	C ₁₄ H ₂₉ NO	X			X		[93]
38	16.60	Metil (8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-8,11,14,17-tetraenoato	Ácidos graxos	70.3	C ₂₁ H ₃₄ O ₂					X	*
39	16.61	1, Z-5, E-7-Dodecatriene	Hidrocarbonetos insaturados	74.3	C ₁₂ H ₂₀	X					*
40	16.96	5-Undeceno, 4-metil-	Hidrocarbonetos insaturados	77.6	C ₁₂ H ₂₄	X					*
41	17.89	Ácido heptanoico	Ácidos graxos	91.6	C ₇ H ₁₄ O ₂				X		[94]
42	19.16	5-Octen-4-ona, 7-metil-	Compostos organooxigenados	71.3	C ₉ H ₁₆ O				X		*
43	19.92	13-Docosenamida, (Z)-	Ácidos graxos	82.5	C ₂₂ H ₄₃ NO	X	X		X		*
44	20.30	Esqualeno	Lipídios prenol	88.2	C ₃₀ H ₅₀		X				[95]
45	20.30	(3E,7E)-4,8,12-Trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno	Lipídios prenol	76.6	C ₁₆ H ₂₆	X					*
46	20.87	Ácido docosanóico	Ácidos graxos	70.3	C ₂₂ H ₄₄ O ₂				X		[92]
47	21.18	Octano, 3-etil-2,7-dimetil-	Hidrocarbonetos saturados	76.6	C ₁₂ H ₂₆				X		*
48	21.19	Nonacosane	Hidrocarbonetos saturados	70.8	C ₂₉ H ₆₀			X			*
49	21.35	1,3-Bis-(2-ciclopropil,2-metilciclopropil)-mas-2-en-1-ona	Lipídios prenol	85.4	C ₁₈ H ₂₆ O		X		X		*
50	21.55	delta-tocoferol	Lipídios prenol	90.6	C ₂₇ H ₄₆ O ₂		X	X	X	X	[96]

51	22.10	Ergost-5-en-3-ol, acetato, (3.beta.,24R)-	Esteroides e derivados de esteroides	77.9	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	X	X	X			*
52	22.35	Cholesta-6,22,24-trieno, 4,4-dimetil-	Esteroides e derivados de esteroides	78.5	C ₂₉ H ₄₆	X	X		X		*
53	22.40	.beta.-Tocoferol	Lipídios prenol	84.1	C ₂₈ H ₄₈ O ₂		X				[97]
54	22.54	.gamma.-Tocoferol	Lipídios prenol	90.3	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	X	X		X	X	[96-98]
55	22.59	4,7,10,13,16,19-Ácido docosahexaenóico, éster metílico, (Z)	Ácidos graxos	73.8	C ₂₃ H ₃₄ O ₂				X		*
56	22.72	Cholesta-4,6-dien-3-ol, (3.beta.) -	Esteroides e derivados de esteroides	70.5	C ₂₇ H ₄₄ O		X				*
57	23.08	(S)-4-metiloctadecanal	Ácidos graxos	96.1	C ₁₉ H ₃₈ O	X	X	X	X		*
58	23.09	Heptacosane	Hidrocarbonetos saturados	79.8	C ₂₇ H ₅₆	X					[99,100]
59	23.09	(R)-4-metiloctadecanal	Ácidos graxos	94.1	C ₁₉ H ₃₈ O		X	X	X		*
60	23.29	alfa-tocoferol	Lipídios prenol	92.7	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	X	X	X	X	X	[97,98,101]
61	23.98	Ergosterol	Esteroides e derivados de esteroides	85.2	C ₂₈ H ₄₄ O	X	X		X		[102,103]
62	24.17	Campesterol	Esteroides e derivados de esteroides	83.7	C ₂₈ H ₄₈ O	X	X	X	X	X	[95,101]
63	24.40	Estigmasterol	Esteroides e derivados de esteroides	91.2	C ₂₉ H ₄₈ O	X	X	X	X	X	[103]

64	24.76	Obtusifoliol	Esteroides e derivados de esteroides	79.1	C ₃₀ H ₅₀ O		X				[91,104,105]
65	24.84	Cholesta-22,24-dien-5-ol, 4,4-dimetil-	Esteroides e derivados de esteroides	84.3	C ₂₉ H ₄₈ O				X		*
66	24.86	Vitamina A	Lipídios prenol	72	C ₂₀ H ₃₀ O			X			*
67	24.86	Pentacosano	Hidrocarbonetos saturados	88	C ₂₅ H ₅₂	X					[96,100]
68	24.96	.beta.-Sitosterol	Esteroides e derivados de esteroides	93.1	C ₂₉ H ₅₀ O	X	X		X	X	[103]
69	25.06	Estigmastanol	Esteroides e derivados de esteroides	77.9	C ₂₉ H ₅₂ O				X		[106,107]
70	25.29	Cholesta-8,24-dien-3-ol, 4-metil-, (3.beta.,4.alpha.) -	Esteroides e derivados de esteroides	72.4	C ₂₈ H ₄₆ O	X					*
71	25.38	Estigmastano, 3-oxo-	Esteroides e derivados de esteroides	79.8	C ₂₉ H ₅₀ O				X		*
72	25.46	2H-Ciclopropa[g]benzofurano, 4,5,5a,6,6a,6b-hexahidro-4,4,6b-trimetil-2-(1-metileténil)-	Diidrofuranos	85.6	C ₁₅ H ₂₂ O		X				*
73	25.46	Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-um	Esteroides e derivados de esteroides	79.9	C ₂₈ H ₄₀ O				X		*
74	25.52	4,22-Stigmastadiene-3-um	Esteroides e derivados de esteroides	86.9	C ₂₉ H ₄₆ O	X			X		*
75	25.72	Lupeol	Lipídios prenol	85.3	C ₃₀ H ₅₀ O	X		X	X		[105]
76	26.93	7,11,15-trimetil-3-metilidenehexadec-1-eno	Lipídios prenol	82.9	C ₂₀ H ₃₈		X				*

77	28.36	Linoleato de isopropilo	Ácidos graxos	81.7	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	X	X				*
78	30.11	Ácido eicosanóico, éster octadecilo	Ácidos graxos	73.2	C ₃₈ H ₇₆ O ₂	X	X				*
79	32.11	1,6,10,14-Hexadecatetraen-3-ol, 3,7,11,15-tetrametil-, (E,E)-	Lipídios prenol	77.5	C ₂₀ H ₃₄ O		X				*

**Significa que nenhum composto correspondente foi relatado em "soja" ou "Glycine max" no SciFinder.*

Referências

- [1] D.J. Newman, G.M. Cragg, Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019, *J Nat Prod.* 83 (2020) 770–803.
<https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>.
- [2] L. Ranaivoson, K. Naudin, A. Ripoché, F. Affholder, L. Rabeharisoa, M. Corbeels, Agro-ecological functions of crop residues under conservation agriculture. A review, *Agron Sustain Dev.* 37 (2017).
<https://doi.org/10.1007/s13593-017-0432-z>.
- [3] M.K. Rakkar, H. Blanco-Canqui, Grazing of crop residues: Impacts on soils and crop production, *Agric Ecosyst Environ.* 258 (2018) 71–90. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.018>.
- [4] J. v. Reinoso Moreno, G. Pinna-Hernández, M.D. Fernández Fernández, J.A. Sánchez Molina, F. Rodríguez Díaz, J.C. López Hernández, F.G. Acién Fernández, Optimal processing of greenhouse crop residues to use as energy and CO₂ sources, *Ind Crops Prod.* 137 (2019) 662–671.
<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2019.04.074>.
- [5] J.L.N. Carvalho, R.C. Nogueirol, L.M.S. Menandro, R. de O. Bordonal, C.D. Borges, H. Cantarella, H.C.J. Franco, Agronomic and environmental implications of sugarcane straw removal: a major review, *GCB Bioenergy.* 9 (2017) 1181–1195. <https://doi.org/10.1111/GCBB.12410>.
- [6] J.R. Hama, D.W. Kolpin, G.H. LeFevre, L.E. Hubbard, M.M. Powers, B.W. Strobel, Exposure and Transport of Alkaloids and Phytoestrogens from Soybeans to Agricultural Soils and Streams in the Midwestern United States, *Environ Sci Technol.* (2021) acs.est.1c01477.
<https://doi.org/10.1021/ACS.EST.1C01477>.
- [7] J. Mateo-Sagasta, S.M. Zadeh, H. Turrall, Water pollution from agriculture: A global review, 2017.
<http://www.fao.org/3/a-i7754e.pdf>.
- [8] ONU, World population prospects 2019, 2019.
- [9] United Nations, Transforming Our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development, 2018.
<https://doi.org/10.1891/9780826190123.ap02>.
- [10] European Environment Agency, Towards a green economy in Europe - EU environmental policy targets and objectives 2010-2050 — European Environment Agency, 2013.
<https://www.eea.europa.eu/publications/towards-a-green-economy-in-europe> (accessed January 5, 2022).
- [11] Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT, Crops - Production Quantity. (2020). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed February 2, 2021).
- [12] A. Krisnawati, M.M. Adie, Variability of Biomass and Harvest Index from Several Soybean Genotypes as Renewable Energy Source, in: *Energy Procedia*, Elsevier Ltd, 2015: pp. 14–21.
<https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.01.023>.
- [13] United States Department of Agriculture, Oilseeds: world markets and trade, 2021.

- [14] F.S. Bragagnolo, C.S. Funari, E. Ibáñez, A. Cifuentes, Metabolomics as a Tool to Study Underused Soy Parts: In Search of Bioactive Compounds, *Foods* 2021, Vol. 10, Page 1308. 10 (2021) 1308. <https://doi.org/10.3390/FOODS10061308>.
- [15] Z. Feng, C. Ding, W. Li, D. Wang, D. Cui, Applications of metabolomics in the research of soybean plant under abiotic stress, *Food Chem.* 310 (2020) 125914. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125914>.
- [16] E. Silva, J.R. Belinato, C. Porto, E. Nunes, F. Guimarães, M.C. Meyer, E.J. Pilau, Soybean Metabolomics Based in Mass Spectrometry: Decoding the Plant's Signaling and Defense Responses under Biotic Stress, *J Agric Food Chem.* 69 (2021) 7257–7267. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.0C07758>.
- [17] A.M. Carneiro, E.A. Moreira, F.S. Bragagnolo, M.S. Borges, A.C. Pilon, D. Rinaldo, C.S. Funari, Soya agricultural waste as a rich source of isoflavones, *Food Research International.* 130 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108949>.
- [18] J.R. Hama, D.W. Kolpin, G.H. LeFevre, L.E. Hubbard, M.M. Powers, B.W. Strobel, Exposure and Transport of Alkaloids and Phytoestrogens from Soybeans to Agricultural Soils and Streams in the Midwestern United States, *Environ Sci Technol.* 55 (2021) 11029–11039. <https://doi.org/10.1021/ACS.EST.1C01477>.
- [19] J. Assirati, D. Rinaldo, S.C. Rabelo, V. da S. Bolzani, E.F. Hilder, C.S. Funari, A green, simplified, and efficient experimental setup for a high-throughput screening of agri-food by-products – From polar to nonpolar metabolites in sugarcane solid residues, *J Chromatogr A.* 1634 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461693>.
- [20] M.R. da Silva, F.S. Bragagnolo, R.L. Carneiro, I. de Oliveira Carvalho Pereira, J.A.A. Ribeiro, C. Martins, R.E. Jelley, B. Fedrizzi, C.S. Funari, Metabolite characterization of fifteen by-products of the coffee production chain: from farm to factory, *Food Chem.* (2021) 130753. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130753>.
- [21] M.I. Rodrigues, A.F. Iemma, *Experimental Design and Process Optimization*, CRC Press, 2014. <https://doi.org/10.1201/b17848>.
- [22] J.B. Zimmerman, P.T. Anastas, H.C. Erythropel, W. Leitner, Designing for a green chemistry future, *Science* (1979). 400 (2020) 397–400.
- [23] E.M. Lee, S.J. Park, J.E. Lee, B.M. Lee, B.K. Shin, D.J. Kang, H.K. Choi, Y.S. Kim, D.Y. Lee, Highly geographical specificity of metabolomic traits among Korean domestic soybeans (*Glycine max*), *Food Research International.* 120 (2019) 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.021>.
- [24] Y. Lu, H. Lam, E. Pi, Q. Zhan, S. Tsai, C. Wang, Y. Kwan, S. Ngai, Comparative metabolomics in *Glycine max* and *Glycine soja* under salt stress to reveal the phenotypes of their offspring, *J Agric Food Chem.* 61 (2013) 8711–8721. <https://doi.org/10.1021/jf402043m>.
- [25] H.H. Song, H.W. Ryu, K.J. Lee, I.Y. Jeong, D.S. Kim, S.R. Oh, Metabolomics investigation of flavonoid synthesis in soybean leaves depending on the growth stage, *Metabolomics.* 10 (2014) 833–841. <https://doi.org/10.1007/s11306-014-0640-3>.
- [26] M. Sisa, S.L. Bonnet, D. Ferreira, J.H. van der Westhuizen, *Photochemistry of Flavonoids*, *Molecules* 2010, Vol. 15, Pages 5196–5245. 15 (2010) 5196–5245. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES15085196>.

- [27] J.A. Pérez-Serradilla, R. Japón-Luján, M.D. Luque de Castro, Simultaneous microwave-assisted solid-liquid extraction of polar and nonpolar compounds from alperujo, *Anal Chim Acta*. 602 (2007) 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.09.008>.
- [28] D. Ballesteros-Vivas, G. Álvarez-Rivera, S.J. Morantes, A. del P. Sánchez-Camargo, E. Ibáñez, F. Parada-Alfonso, A. Cifuentes, An integrated approach for the valorization of mango seed kernel: Efficient extraction solvent selection, phytochemical profiling and antiproliferative activity assessment, *Food Research International*. 126 (2019) 108616. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2019.108616>.
- [29] M. Wang, J.J. Carver, V. v. Phelan, L.M. Sanchez, N. Garg, Y. Peng, D.D. Nguyen, J. Watrous, C.A. Kapono, T. Luzzatto-Knaan, C. Porto, A. Bouslimani, A. v. Melnik, M.J. Meehan, W.T. Liu, M. Crüsemann, P.D. Boudreau, E. Esquenazi, M. Sandoval-Calderón, R.D. Kersten, L.A. Pace, R.A. Quinn, K.R. Duncan, C.C. Hsu, D.J. Floros, R.G. Gavilan, K. Kleigrew, T. Northen, R.J. Dutton, D. Parrot, E.E. Carlson, B. Aigle, C.F. Michelsen, L. Jelsbak, C. Sohlenkamp, P. Pevzner, A. Edlund, J. McLean, J. Piel, B.T. Murphy, L. Gerwick, C.C. Liaw, Y.L. Yang, H.U. Humpf, M. Maansson, R.A. Keyzers, A.C. Sims, A.R. Johnson, A.M. Sidebottom, B.E. Sedio, A. Klitgaard, C.B. Larson, C.A.P. Boya, D. Torres-Mendoza, D.J. Gonzalez, D.B. Silva, L.M. Marques, D.P. Demarque, E. Pociute, E.C. O'Neill, E. Briand, E.J.N. Helfrich, E.A. Granatosky, E. Glukhov, F. Ryffel, H. Houson, H. Mohimani, J.J. Kharbush, Y. Zeng, J.A. Vorholt, K.L. Kurita, P. Charusanti, K.L. McPhail, K.F. Nielsen, L. Vuong, M. Elfeki, M.F. Traxler, N. Engene, N. Koyama, O.B. Vining, R. Baric, R.R. Silva, S.J. Mascuch, S. Tomasi, S. Jenkins, V. Macherla, T. Hoffman, V. Agarwal, P.G. Williams, J. Dai, R. Neupane, J. Gurr, A.M.C. Rodríguez, A. Lamsa, C. Zhang, K. Dorrestein, B.M. Duggan, J. Almaliti, P.M. Allard, P. Phapale, L.F. Nothias, T. Alexandrov, M. Litaudon, J.L. Wolfender, J.E. Kyle, T.O. Metz, T. Peryea, D.T. Nguyen, D. VanLeer, P. Shinn, A. Jadhav, R. Müller, K.M. Waters, W. Shi, X. Liu, L. Zhang, R. Knight, P.R. Jensen, B. Palsson, K. Pogliano, R.G. Lington, M. Gutiérrez, N.P. Lopes, W.H. Gerwick, B.S. Moore, P.C. Dorrestein, N. Bandeira, Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking, *Nat Biotechnol*. 34 (2016). <https://doi.org/10.1038/nbt.3597>.
- [30] T. Pluskal, S. Castillo, A. Villar-Briones, M. Orešič, MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data, *BMC Bioinformatics*. 11 (2010). <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-395>.
- [31] M. Katajamaa, J. Miettinen, M. Orešič, MZmine: Toolbox for processing and visualization of mass spectrometry based molecular profile data, *Bioinformatics*. 22 (2006). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btk039>.
- [32] H. kim, M. Wang, C. Leber, L.-F. Nothias, R. Reher, K. bin Kang, J.J.J. van der Hooft, P. Dorrestein, W. Gerwick, G. Cottrell, NPClassifier: A Deep Neural Network-Based Structural Classification Tool for Natural Products, (2020). <https://doi.org/10.26434/CHEMRXIV.12885494.V1>.
- [33] Y. Djoumbou Feunang, R. Eisner, C. Knox, L. Chepelev, J. Hastings, G. Owen, E. Fahy, C. Steinbeck, S. Subramanian, E. Bolton, R. Greiner, D.S. Wishart, ClassyFire: automated chemical classification with a comprehensive, computable taxonomy, *J Cheminform*. 8 (2016) 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13321-016-0174-y>.
- [34] G.M. Leme, I.D. Coutinho, S. Creste, O. Hojo, R.L. Carneiro, V.D.S. Bolzani, A.J. Cavaleiro, HPLC-DAD method for metabolic fingerprinting of the phenotyping of sugarcane genotypes, *Analytical Methods*. 6 (2014) 7781–7788. <https://doi.org/10.1039/C4AY01750A>.

- [35] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik, The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 50 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>.
- [36] D.Y. Yun, Y.G. Kang, E.H. Kim, M. Kim, N.H. Park, H.T. Choi, G.H. Go, J.H. Lee, J.S. Park, Y.S. Hong, Metabolomics approach for understanding geographical dependence of soybean leaf metabolome, *Food Research International*. (2018). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.061>.
- [37] J. Liigand, A. Laaniste, A. Kruve, pH Effects on Electrospray Ionization Efficiency, *J Am Soc Mass Spectrom*. 28 (2017) 461–469. <https://doi.org/10.1007/s13361-016-1563-1>.
- [38] Z. Wu, W. Gao, M.A. Phelps, D. Wu, D.D. Miller, J.T. Dalton, Favorable Effects of Weak Acids on Negative-Ion Electrospray Ionization Mass Spectrometry, *Anal Chem*. 76 (2004) 839–847. <https://doi.org/10.1021/ac0351670>.
- [39] P. Liigand, K. Kaupmees, K. Haav, J. Liigand, I. Leito, M. Girod, R. Antoine, A. Kruve, Think Negative: Finding the Best Electrospray Ionization/MS Mode for Your Analyte, *Anal Chem*. 89 (2017) 5665–5668. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b00096>.
- [40] L.R. Snyder, J.W. Dolan, Optimizing selectivity during reversed-phase high performance liquid chromatography method development: Prioritizing experimental conditions, *J Chromatogr A*. 1302 (2013) 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.05.082>.
- [41] D. Prat, A. Wells, J. Hayler, H. Sneddon, C.R. McElroy, S. Abou-Shehadeh, P.J. Dunn, CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents, *Green Chemistry*. 18 (2016) 288–296. <https://doi.org/10.1039/c5gc01008j>.
- [42] E. Fahy, S. Subramaniam, H.A. Brown, C.K. Glass, A.H. Merrill, R.C. Murphy, C.R.H. Raetz, D.W. Russell, Y. Seyama, W. Shaw, T. Shimizu, F. Spener, G. van Meer, M.S. VanNieuwenhze, S.H. White, J.L. Witztum, E.A. Dennis, A comprehensive classification system for lipids, *J Lipid Res*. 46 (2005) 839–861. <https://doi.org/10.1194/JLR.E400004-JLR200>.
- [43] J.F. Wang, S.S. Liu, Z.Q. Song, T.C. Xu, C.S. Liu, Y.G. Hou, R. Huang, S.H. Wu, Naturally Occurring Flavonoids and Isoflavonoids and Their Microbial Transformation: A Review, *Molecules* 2020, Vol. 25, Page 5112. 25 (2020) 5112. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25215112>.
- [44] M. Sajid, S.R. Stone, P. Kaur, Recent Advances in Heterologous Synthesis Paving Way for Future Green-Modular Bioindustries: A Review With Special Reference to Isoflavonoids, *Front Bioeng Biotechnol*. 9 (2021) 532. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2021.673270/BIBTEX>.
- [45] G. Gong, Y. Zheng, X. Kong, Z. Wen, Anti-angiogenesis Function of Ononin via Suppressing the MEK/Erk Signaling Pathway, *J Nat Prod*. (2021). <https://doi.org/10.1021/ACS.JNATPROD.1C00008>.
- [46] X. Chen, M. Zhang, M. Ahmed, K.M. Surapaneni, V.P. Veeraraghavan, P. Arulselvan, Neuroprotective effects of ononin against the aluminium chloride-induced Alzheimer's disease in rats, *Saudi J Biol Sci*. 28 (2021) 4232–4239. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2021.06.031>.
- [47] A. Amerizadeh, S. Asgary, G. Vaseghi, Z. Farajzadegan, Effect of Genistein Intake on Some Cardiovascular Risk Factors: An Updated Systematic Review and Meta-analysis, *Curr Probl Cardiol*. (2021) 100902. <https://doi.org/10.1016/J.CPCARDIOL.2021.100902>.

- [48] A. Lethaby, J. Marjoribanks, F. Kronenberg, H. Roberts, J. Eden, J. Brown, Phytoestrogens for menopausal vasomotor symptoms, *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013 (2013). https://doi.org/10.1002/14651858.CD001395.PUB4/MEDIA/CDSR/CD001395/IMAGE_N/NCD001395-CMP-001-07.PNG.
- [49] M. Yang, W.-Y. Li, J. Xie, Z.-L. Wang, Y.-L. Wen, C.-C. Zhao, L. Tao, L.-F. Li, Y. Tian, J. Sheng, Astragalin Inhibits the Proliferation and Migration of Human Colon Cancer HCT116 Cells by Regulating the NF- κ B Signaling Pathway, *Front Pharmacol*. 0 (2021) 467. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.639256>.
- [50] T.H. Kim, S.K. Ku, J.S. Bae, Inhibitory effects of kaempferol-3-O-sophoroside on HMGB1-mediated proinflammatory responses, *Food and Chemical Toxicology*. 50 (2012) 1118–1123. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2011.12.004>.
- [51] M. Szekalska, K. Sosnowska, M. Tomczykowa, K. Winnicka, I. Kasacka, M. Tomczyk, In vivo anti-inflammatory and anti-allergic activities of cynaroside evaluated by using hydrogel formulations, *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 121 (2020) 109681. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.109681>.
- [52] Y. Zhong, Y. Zhao, Chemical composition and functional properties of three soy processing by-products (soy hull, okara and molasses), *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*. 7 (2015) 651–660. <https://doi.org/10.3920/QAS2014.0481>.
- [53] K.H. Nam, D.Y. Kim, H.J. Kim, I.S. Pack, H.J. Kim, Y.S. Chung, S.Y. Kim, C.G. Kim, Global metabolite profiling based on GC–MS and LC–MS/MS analyses in ABF3-overexpressing soybean with enhanced drought tolerance, *Appl Biol Chem*. 62 (2019) 15. <https://doi.org/10.1186/s13765-019-0425-5>.
- [54] E. Silva, J.P. da Graça, C. Porto, R. Martin do Prado, C.B. Hoffmann-Campo, M.C. Meyer, E. de Oliveira Nunes, E.J. Pilau, Unraveling Asian Soybean Rust metabolomics using mass spectrometry and Molecular Networking approach, *Sci Rep*. 10 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56782-4>.
- [55] M. Li, J. Xu, R. Guo, Y. Liu, S. Wang, H. Wang, A. Ullah, L. Shi, Identifying the metabolomics and physiological differences among Soja in the early flowering stage, *Plant Physiology and Biochemistry*. 139 (2019) 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.012>.
- [56] M. Li, J. Xu, X. Wang, H. Fu, M. Zhao, H. Wang, L. Shi, Photosynthetic characteristics and metabolic analyses of two soybean genotypes revealed adaptive strategies to low-nitrogen stress, *J Plant Physiol*. 229 (2018) 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.07.009>.
- [57] E. Silva, J. Perez Da Graça, C. Porto, R. Martin Do Prado, E. Nunes, F. Corrêa Marcelino-Guimarães, M. Conrado Meyer, E. Jorge Pilau, Untargeted metabolomics analysis by UHPLC-MS/MS of soybean plant in a compatible response to *Phakopsora pachyrhizi* infection, *Metabolites*. 11 (2021) 179. <https://doi.org/10.3390/metabo11030179>.
- [58] M. Shibata, M. Hirotaka, Y. Mizutani, H. Takahashi, T. Kawada, K. Matsumiya, Y. Hayashi, Y. Matsumura, Diversity of γ -glutamyl peptides and oligosaccharides, the “kokumi” taste enhancers, in seeds from soybean mini core collections, *Biosci Biotechnol Biochem*. 82 (2018) 507–514. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1436960>.
- [59] Z. Zhong, T. Kobayashi, W. Zhu, H. Imai, R. Zhao, T. Ohno, S. ur Rehman, M. Uemura, J. Tian, S. Komatsu, Plant-derived smoke enhances plant growth through ornithine-synthesis pathway and

ubiquitin-proteasome pathway in soybean, *J Proteomics*. 221 (2020).
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103781>.

- [60] Z. feng Jiang, D. dan Liu, T. qiong Wang, X. long Liang, Y. hai Cui, Z. hua Liu, W. bin Li, Concentration difference of auxin involved in stem development in soybean, *J Integr Agric*. 19 (2020) 953–964.
[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62676-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62676-6).
- [61] D.M. Zanzarin, C.P. Hernandez, L.M. Leme, E. Silva, C. Porto, R. Martin do Prado, M.C. Meyer, L. Favoreto, E. de O. Nunes, E.J. Pilau, Metabolomics of soybean green stem and foliar retention (GSFR) disease using mass spectrometry and molecular networking, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 34 (2020). <https://doi.org/10.1002/rcm.8655>.
- [62] Y.J. Ban, Y.H. Song, J.Y. Kim, A. Baiseitova, K.W. Lee, K.D. Kim, K.H. Park, Comparative investigation on metabolites changes in soybean leaves by ethylene and activation of collagen synthesis, *Ind Crops Prod*. 154 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112743>.
- [63] F.A.C. Silva, M.C.C. O-Panizzi, M.C. Blassioli-Moraes, A.R. Panizzi, Influence of volatile and nonvolatile secondary metabolites from soybean pods on feeding and on oviposition behavior of euschistus heros (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae), *Environ Entomol*. 42 (2013) 1375–1382.
<https://doi.org/10.1603/EN13081>.
- [64] Y. Tsuno, T. Fujimatsu, K. Endo, A. Sugiyama, K. Yazaki, Soyasaponins: A New Class of Root Exudates in Soybean (*Glycine max*), *Plant Cell Physiol*. 59 (2018) 366–375.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcx192>.
- [65] S. Dresler, M. Wójciak-Kosior, I. Sowa, M. Strzemiński, J. Sawicki, J. Kováčik, T. Blicharski, Effect of long-term strontium exposure on the content of phytoestrogens and allantoin in soybean, *Int J Mol Sci*. 19 (2018) 3864. <https://doi.org/10.3390/ijms19123864>.
- [66] I.D. Coutinho, L.M.M. Henning, S.A. Döpp, A. Nepomuceno, L.A.C. Moraes, J. Marcolino-Gomes, C. Richter, H. Schwalbe, L.A. Colnago, Identification of primary and secondary metabolites and transcriptome profile of soybean tissues during different stages of hypoxia, *Data Brief*. 21 (2018) 1089–1100. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.09.122>.
- [67] F.M. Dillon, H.D. Chludil, A. Mithöfer, J.A. Zavala, Solar UVB-inducible ethylene alone induced isoflavonoids in pods of field-grown soybean, an important defense against stink bugs, *Environ Exp Bot*. 178 (2020) 104167. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104167>.
- [68] W.D. Seo, J.E. Kang, S.W. Choi, K.S. Lee, M.J. Lee, K. do Park, J.H. Lee, Comparison of nutritional components (isoflavone, protein, oil, and fatty acid) and antioxidant properties at the growth stage of different parts of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill], *Food Sci Biotechnol*. 26 (2017) 339–347.
<https://doi.org/10.1007/s10068-017-0046-x>.
- [69] J. Zou, H. Yu, Q. Yu, X. Jin, L. Cao, M. Wang, M. Wang, C. Ren, Y. Zhang, Physiological and UPLC-MS/MS widely targeted metabolites mechanisms of alleviation of drought stress-induced soybean growth inhibition by melatonin, *Ind Crops Prod*. 163 (2021) 113323.
<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2021.113323>.
- [70] B. Zhao, S. Zhang, W. Yang, B. Li, C. Lan, J. Zhang, L. Yuan, Y. Wang, Q. Xie, J. Han, L.A.J. Mur, X. Hao, J.A. Roberts, Y. Miao, K. Yu, X. Zhang, Multi-omic dissection of the drought resistance traits of soybean landrace LX, *Plant Cell Environ*. 44 (2021) 1379–1398. <https://doi.org/10.1111/PCE.14025>.

- [71] H. Takahashi, K. Ochiai, K. Sasaki, A. Izumi, Y. Shinyama, S. Mohri, W. Nomura, H.-F. Jheng, T. Kawada, K. Inoue, T. Goto, Metabolome analysis revealed that soybean–*Aspergillus oryzae* interaction induced dynamic metabolic and daidzein prenylation changes, *PLoS One*. 16 (2021) e0254190. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0254190>.
- [72] N.S. Abeysekara, S. Swaminathan, N. Desai, L. Guo, M.K. Bhattacharyya, The plant immunity inducer picecolic acid accumulates in the xylem sap and leaves of soybean seedlings following *Fusarium virguliforme* infection, *Plant Science*. 243 (2016) 105–114. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2015.11.008>.
- [73] G.J. Zocolo, Occurrence of soy isoflavones in the environment and correlation with estrogenic activities: a case study in the region of Dourados (MS), State University of São Paulo, 2010.
- [74] M.Y. Mushtaq, Y.H. Choi, R. Verpoorte, E.G. Wilson, Extraction for Metabolomics: Access to The Metabolome, *Phytochemical Analysis*. 25 (2014) 291–306. <https://doi.org/10.1002/PCA.2505>.
- [75] R. Verpoorte, Y.H. Choi, N.R. Mustafa, H.K. Kim, Metabolomics: Back to basics, *Phytochemistry Reviews*. 7 (2008) 525–537. <https://doi.org/10.1007/S11101-008-9091-7/TABLES/2>.
- [76] U. Radzikowska, A.O. Rinaldi, Z.Ç. Sözen, D. Karaguzel, M. Wojcik, K. Cypryk, M. Akdis, C.A. Akdis, M. Sokolowska, The Influence of Dietary Fatty Acids on Immune Responses, *Nutrients* 2019, Vol. 11, Page 2990. 11 (2019) 2990. <https://doi.org/10.3390/NU11122990>.
- [77] H. Takigawa, H. Nakagawa, M. Kuzukawa, H. Mori, G. Imokawa, Deficient Production of Hexadecenoic Acid in the Skin Is Associated in Part with the Vulnerability of Atopic Dermatitis Patients to Colonization by *Staphylococcus aureus*, *Dermatology*. 211 (2005) 240–248. <https://doi.org/10.1159/000087018>.
- [78] K. Szewczyk, A. Chojnacka, M. Górnicka, Tocopherols and Tocotrienols—Bioactive Dietary Compounds; What Is Certain, What Is Doubt?, *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 6222. 22 (2021) 6222. <https://doi.org/10.3390/IJMS22126222>.
- [79] A. di Vincenzo, C. Tana, H. el Hadi, C. Pagano, R. Vettor, M. Rossato, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Metabolic Properties of Tocopherols and Tocotrienols: Clinical Implications for Vitamin E Supplementation in Diabetic Kidney Disease, *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol. 20, Page 5101. 20 (2019) 5101. <https://doi.org/10.3390/IJMS20205101>.
- [80] H. Bae, S. Park, C. Yang, G. Song, W. Lim, Disruption of Endoplasmic Reticulum and ROS Production in Human Ovarian Cancer by Campesterol, *Antioxidants* 2021, Vol. 10, Page 379. 10 (2021) 379. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10030379>.
- [81] R. Pratiwi, C. Nantasenamat, W. Ruankham, W. Suwanjang, V. Prachayasittikul, S. Prachayasittikul, K. Phopin, Mechanisms and Neuroprotective Activities of Stigmasterol Against Oxidative Stress-Induced Neuronal Cell Death via Sirtuin Family, *Front Nutr*. 0 (2021) 184. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.648995>.
- [82] J.-H. Lee, J.H. Lee, K.-T. Lee, Chemical and Volatile Characterization of Structured Lipid from Soybean Oil Containing Conjugated Linoleic Acid, *Journal of Food Science and Nutrition*. 8 (2003) 219–224. <https://www.dbpia.co.kr/Journal/articleDetail?nodeId=NODE00637208> (accessed September 12, 2021).

- [83] W. Hu, L. Zhang, P. Li, X. Wang, Q. Zhang, B. Xu, X. Sun, F. Ma, X. Ding, Characterization of volatile components in four vegetable oils by headspace two-dimensional comprehensive chromatography time-of-flight mass spectrometry, *Talanta*. 129 (2014) 629–635. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2014.06.010>.
- [84] B. Hu, C. Yang, N. Iqbal, J. Deng, J. Zhang, W. Yang, J. Liu, Development and validation of a GC–MS method for soybean organ-specific metabolomics, *Plant Prod Sci*. 21 (2018) 215–224. <https://doi.org/10.1080/1343943X.2018.1488539>.
- [85] M. Zhao, R. Guo, M. Li, Y. Liu, X. Wang, H. Fu, S. Wang, X. Liu, L. Shi, Physiological characteristics and metabolomics reveal the tolerance mechanism to low nitrogen in Glycine soja leaves, *Physiol Plant*. 168 (2020) 819–834. <https://doi.org/10.1111/PPL.13022>.
- [86] X. Wang, R. Guo, M. Li, Y. Liu, M. Zhao, H. Fu, X. Liu, S. Wang, L. Shi, Metabolomics reveals the drought-tolerance mechanism in wild soybean (*Glycine soja*), *Acta Physiol Plant*. 41 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2939-1>.
- [87] S. Gupta, J.J.L. Lee, W.N. Chen, Analysis of Improved Nutritional Composition of Potential Functional Food (Okara) after Probiotic Solid-State Fermentation, *J Agric Food Chem*. 66 (2018) 5373–5381. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.8B00971>.
- [88] J.-A. Xue, X. Mao, Z.-R. Yang, Y.-M. Wu, X.-Y. Jia, L. Zhang, A.-Q. Yue, J.-P. Wang, R.-Z. Li, Expression of yeast acyl-CoA-Δ9 desaturase leads to accumulation of unusual monounsaturated fatty acids in soybean seeds, *Biotechnology Letters* 2013 35:6. 35 (2013) 951–959. <https://doi.org/10.1007/S10529-013-1149-Y>.
- [89] G. Kongprawes, D. Wongsawaeng, P. Hosemann, K. Ngaosuwana, W. Kiatkittipong, S. Assabumrungrat, Improvement of oxidation stability of fatty acid methyl esters derived from soybean oil via partial hydrogenation using dielectric barrier discharge plasma, *Int J Energy Res*. 45 (2021) 4519–4533. <https://doi.org/10.1002/ER.6121>.
- [90] Y. Zhao, P. Cao, Y. Cui, D. Liu, J. Li, Y. Zhao, S. Yang, B. Zhang, R. Zhou, M. Sun, X. Guo, M. Yang, D. Xin, Z. Zhang, X. Li, C. Lv, C. Liu, Z. Qi, J. Xu, X. Wu, Q. Chen, Enhanced production of seed oil with improved fatty acid composition by overexpressing NAD⁺-dependent glycerol-3-phosphate dehydrogenase in soybean, *J Integr Plant Biol*. 63 (2021) 1036–1053. <https://doi.org/10.1111/JIPB.13094>.
- [91] J. Alberdi-Cedeño, M.L. Ibargoitia, G. Cristillo, P. Sopelana, M.D. Guillén, A new methodology capable of characterizing most volatile and less volatile minor edible oils components in a single chromatographic run without solvents or reagents. Detection of new components, *Food Chem*. 221 (2017) 1135–1144. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.11.046>.
- [92] G. Jing, D. Tang, Y. Yao, Y. Su, Y. Shen, Y. Bai, W. Jing, Q. Zhang, F. Lin, D. Guo, W. Zhang, Seed specifically over-expressing DGAT2A enhances oil and linoleic acid contents in soybean seeds, *Biochem Biophys Res Commun*. 568 (2021) 143–150. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2021.06.087>.
- [93] T.J.P. Oliveira, C.R. Cardoso, C.H. Ataíde, Fast pyrolysis of soybean hulls: analysis of bio-oil produced in a fluidized bed reactor and of vapor obtained in analytical pyrolysis, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2015 120:1. 120 (2015) 427–438. <https://doi.org/10.1007/S10973-015-4600-6>.

- [94] J.J. Jiménez, J.L. Bernal, M.J. Nozal, L. Toribio, J. Bernal, Profile and relative concentrations of fatty acids in corn and soybean seeds from transgenic and isogenic crops, *J Chromatogr A*. 1216 (2009) 7288–7295. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2009.08.015>.
- [95] E. Sipeniece, I. Mišina, Y. Qian, A. Grygier, N. Sobieszczańska, P.K. Sahu, M. Rudzińska, K.S. Patel, P. Górnaś, Fatty Acid Profile and Squalene, Tocopherol, Carotenoid, Sterol Content of Seven Selected Consumed Legumes, *Plant Foods for Human Nutrition* 2021 76:1. 76 (2021) 53–59. <https://doi.org/10.1007/S11130-020-00875-3>.
- [96] A.H. Ramos, N. da S. Timm, C.D. Ferreira, A.C. Antunes, J.F. Hoffmann, A. de O. Rios, M. de Oliveira, Effects of the intensification of soybean defects: Degradation metabolism of carbohydrates, organic acids, proteins, lipids, and phenolics, *J Food Process Preserv.* 45 (2021) e15516. <https://doi.org/10.1111/JFPP.15516>.
- [97] S. Ghosh, S. Zhang, M. Azam, J. Qi, A.M. Abdelghany, A.S. Shaibu, B.S. Gebregziabher, Y. Feng, Y. Huai, H.T.P. Htway, K.G. Agyenim-Boateng, Y. Liu, H. Feng, J. Li, W. Song, B. Li, J. Sun, Seed tocopherol assessment and geographical distribution of 1151 Chinese soybean accessions from diverse ecoregions, *Journal of Food Composition and Analysis*. 100 (2021) 103932. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2021.103932>.
- [98] H. Naegeli, J.L. Bresson, T. Dalmay, I.C. Dewhurst, M.M. Epstein, L.G. Firbank, P. Guerche, J. Hejatko, F.J. Moreno, E. Mullins, F. Nogué, N. Rostoks, J.J. Sánchez Serrano, G. Savoini, E. Veromann, F. Veronesi, F. Álvarez, M. Ardizzone, A. Fernandez, A. Gennaro, J.Á. Gómez Ruiz, D.M. Kagkli, A. Lanzoni, F.M. Neri, N. Papadopoulou, K. Paraskevopoulos, T. Raffaello, F. Streissl, G. de Sanctis, Assessment of genetically modified soybean GMB151 for food and feed uses, under Regulation (EC) No 1829/2003 (application EFSA-GMO-NL-2018-153), *EFSA Journal*. 19 (2021). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6424>.
- [99] T.C. Damato, L.D.M. Carrasco, A.M. Carmona-Ribeiro, R.V. Luiz, R. Godoy, D.F.S. Petri, The interactions between surfactants and the epicuticular wax on soybean or weed leaves: Maximal crop protection with minimal wax solubilization, *Crop Protection*. 91 (2017) 57–65. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2016.09.019>.
- [100] K.S. Kim, S.H. Park, D.K. Kim, M.A. Jenks, Influence of Water Deficit on Leaf Cuticular Waxes of Soybean (*Glycine max* [L.] Merr.), <https://doi.org/10.1086/510496>. 168 (2015) 307–316. <https://doi.org/10.1086/510496>.
- [101] O. Claux, V. Rapinel, P. Goupy, N. Patouillard, M.A. Vian, L. Jacques, F. Chemat, Dry and Aqueous 2-Methyloxolane as Green Solvents for Simultaneous Production of Soybean Oil and Defatted Meal, *ACS Sustain Chem Eng*. 9 (2021) 7211–7223. <https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.0C09252>.
- [102] H. Zhu, J. Chen, Z. He, W. Hao, J. Liu, E. Kwek, K.Y. Ma, Y. Bi, Plasma Cholesterol-Lowering Activity of Soybean Germ Phytosterols, *Nutrients* 2019, Vol. 11, Page 2784. 11 (2019) 2784. <https://doi.org/10.3390/NU11112784>.
- [103] A. Ranjan, N.M. Westrick, S. Jain, J.S. Piotrowski, M. Ranjan, R. Kessens, L. Stiegman, C.R. Grau, S.P. Conley, D.L. Smith, M. Kabbage, Resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean involves a reprogramming of the phenylpropanoid pathway and up-regulation of antifungal activity targeting ergosterol biosynthesis, *Plant Biotechnol J*. 17 (2019) 1567–1581. <https://doi.org/10.1111/pbi.13082>.

- [104] M. JA, D. AL, K. T, H. AM, N. WD, Soybean sterol composition and utilization by *Phytophthora sojae*, *Phytochemistry*. 58 (2001) 423–428. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00219-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00219-9).
- [105] B. Xu, L. Zhang, F. Ma, W. Zhang, X. Wang, Q. Zhang, D. Luo, H. Ma, P. Li, Determination of free steroidal compounds in vegetable oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry, *Food Chem.* 245 (2018) 415–425. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.10.114>.
- [106] J. Chen, G. Tang, J. Zhou, W. Liu, Y. Bi, The characterization of soybean germ oil and the antioxidative activity of its phytosterols, *RSC Adv.* 9 (2019) 40109–40117. <https://doi.org/10.1039/C9RA08771K>.
- [107] H. Zhu, J. Chen, Z. He, W. Hao, J. Liu, E. Kwek, Y. Zhao, K.Y. Ma, W.-S. He, Z.-Y. Chen, Soybean germ oil reduces blood cholesterol by inhibiting cholesterol absorption and enhancing bile acid excretion, *Food Funct.* 10 (2019) 1836–1845. <https://doi.org/10.1039/C8FO02585A>.

CAPÍTULO III

SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS NATURAIS PRESSURIZADOS: UMA ABORDAGEM ALTERNATIVA PARA OS SUBPRODUTOS AGRÍCOLAS DA SOJA

Pressurized Natural Deep Eutectic Solvents: An Alternative Approach To Agro-Soy By-Products

**Felipe Sanchez Bragagnolo ^{1,2}, Bárbara Socas-Rodríguez ², Jose A. Mendiola ²,
Alejandro Cifuentes ², Cristiano Soleo Funari ¹, Elena Ibáñez ²**

¹Green Biotech Network, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, Av. Universitária 3780, 18610-034, Botucatu, São Paulo, Brasil

²Laboratório de Foodomics, Institute of Food Science Research, CIAL, CSIC-UAM, Nicolas Cabrera 9, 28049 Madrid, Espanha

Resumo

A soja é utilizada principalmente para a produção de alimentos e biodiesel. Estima-se que cerca de 651 milhões de toneladas de galhos, folhas, vagens e raízes de soja serão deixados no solo após a colheita do grão em 2022/23. Esses subprodutos podem servir como uma fonte amplamente disponível e barata de metabólitos de alto valor agregado, como flavonoides, isoflavonóides e outros compostos fenólicos. Este trabalho teve como objetivo explorar abordagens verdes baseadas no uso de extração de líquidos pressurizados e expandido a gás com solventes eutéticos naturais profundos (NADES) para obter extratos ricos em fenólicos de subprodutos de soja. Os teores de fenólicos e flavonoides totais dos extratos gerados foram quantificados e comparados com solventes e técnicas convencionais. A extração com líquido pressurizado (PLE) utilizando cloreto de colina:ácido cítrico:água (1:1:11 - razão molar) a 120°C, 100 bar e 20 min, resultaram em uma condição otimizada para gerar frações ricas em fenólicos e flavonóides de subprodutos de soja. As partes individuais da soja foram extraídas nestas condições, com seu perfil metabólico obtido por UHPLC-ESI-QToF-MS/MS e potenciais propriedades. Os extratos de raízes de soja apresentaram a maior capacidade antioxidante ($207,48 \pm 40,23$ mg AA/g), três vezes maior que os extratos dos grãos de soja ($68,96 \pm 12,30$ mg AA/g). Além disso, os Parâmetros de Solubilidade de Hansen (HSP) foram aplicados para selecionar solventes eutéticos hidrofóbicos naturais profundos (NaHDES) como substituintes do *n*-heptano para a soja desengordurada. As extrações com candidatos a NaHDES alcançaram rendimento e perfil cromatográfico (GC-QToF-MS) semelhantes aos extratos de *n*-heptano.

Palavras-chave: Química Verde, Compostos Bioativos, Bioeconomia, Biorrefirina, NADES, Subprodutos da Soja, Líquidos Pressurizados.

Introdução

Compostos identificados em produtos naturais têm sido historicamente usados para desenvolver novos medicamentos, ingredientes para alimentos funcionais, produtos cosméticos e outras aplicações [1]. Culturas de commodities, como maçãs, café, azeitonas e soja, contêm vários metabólitos com potencial bioatividade [2–5]. A soja, principal oleaginosa do mundo, apresenta uma ampla gama de compostos fenólicos, principalmente isoflavonóides e flavonóides, resultando em crescente interesse em adicionar novos usos de alto valor agregado a este grão [5]. Genistina, uma isoflavona glicosilada, contém propriedades *in vitro* antiadipogênicas e antilipogênicas e propriedades preventivas ao câncer de mama [6,7]. A apigenina, um flavonóide, tem efeitos protetores contra doenças cardiometabólicas e tem sido sugerida como biopesticida [8,9]. Além disso, outros metabólitos bioativos identificados em subprodutos da agrícolas da soja coletados após a colheita do grão (ou seja, galhos, folhas, vagens e raízes) possibilitam novas aplicações ao uso desses materiais [10,11]. O grão da soja (commodity) tem sido uma das principais fontes de óleos vegetais, com produção estimada de 61 milhões de toneladas em 2022/23 [12]. O processo de desengorduramento do grão tem sido amplamente realizado utilizando hexano, um solvente tóxico e inflamável [13]. Solventes alternativos, como etanol, CO₂ supercrítico e 2-metiloxolano, são utilizados como opções viáveis e mais verdes para substituí-lo [13–15]. Além disso, novas alternativas como Solventes Eutéticos Hidrofóbicos Naturais Profundos (NaHDES) podem ser promissores solventes para procedimentos de desengorduramento. Além disso, uma abordagem *in silico* aplicando os parâmetros de solubilidade de Hansen (HSP) possibilita a seleção de solventes mais semelhantes ao hexano. Com base nos conceitos de solubilidade e "semelhante dissolve semelhante", os HSP promove a comparação entre diversos solventes e gera uma simulação computacional de sua interação [16]. Solventes com HSP semelhantes podem apresentar maior similaridade entre suas propriedades químicas e/ou físicas, significando uma ferramenta valiosa para substituir solventes convencionais e perigosos por solventes mais sustentáveis.

Nesse contexto, a química analítica verde deve ser empregada para agregar valor aos subprodutos agrícolas da soja, reduzindo potenciais problemas ambientais relacionados à sua extração e valorização, conforme sugere a meta 12, intitulada “Consumo e produção sustentáveis” dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU) [17]. Portanto, o uso de solventes e técnicas mais verdes estão de acordo com um procedimento sustentável, reduzindo energia, reagentes, além de aumentar a segurança da metodologia analítica aplicada. Solventes eutéticos naturais

profundos (NADES), que são compostos por metabólitos identificados em plantas e outros organismos, podem ser alternativas verdes para extrair compostos bioativos [18]. Duru et al. realizou a extração de isoflavonas de resíduos de raiz de kudzu e melaço de soja empregando NADES, obtendo frações com maior atividade antioxidante e estabilidade do que a extração metanólica [19].

Para alcançar um processo mais verde, a integração de solventes e técnicas verdes pode oferecer vantagens, como redução de tempo e energia, além do consumo de solvente. Nesse sentido, a extração por líquido pressurizado (PLE) tem mostrado benefícios significativos para a extração de fenólicos e outros compostos bioativos de matrizes naturais, apesar de ser pouco integrado com NADES como solventes [20–23]. No entanto, esta combinação foi realizada com sucesso para extrair antocianinas de um subproduto do processamento de jaboticaba, como demonstrado por Benvenuti et al.[23]. Além disso, líquidos expandidos por gás (GXLs), uma técnica promissora de extração, pode ser útil para diminuir a viscosidade do NADES por meio da adição de CO₂. Além disso, GXLs promove outras modificações nas propriedades físico-químicas dos solventes [24].

Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma abordagem alternativa para gerar frações ricas em fenólicos a partir de subprodutos de soja, ou seja, galhos, folhas, vagens e raízes coletadas logo após a colheita mecânica, combinando PLE e GXLs com NADES. Para isso, i) uma abordagem *in silico* usando HSP foi aplicada para selecionar um NaHDES para substituir o *n*-heptane no processo de desengorduramento do grão, em seguida a ii) a realização de extrações utilizando PLE e GXLs com cloreto de colina:ácido cítrico:água 1:1:11 (razão molar) (ChCl:Ca:H₂O) para gerar extratos ricos em fenólicos, e a partir da condição otimizada iii) extrair as partes individuais de subprodutos agrícolas da soja e grãos. Além disso, iv) verificar as espécies reativas de oxigênio (ROS) dos extratos, e v) o perfil metabólico pela cromatografia líquida ultra-alto desempenho acoplada à espectrometria de massa de alta resolução (UHPLC-QToF-MS/MS).

Material e métodos

Produtos químicos

Os solventes de grau HPLC acetonitrilo, *n*-heptano e etanol (EtOH), bem como mentol, eucaliptol, timol, cloreto de colina e ácido cítrico foram comprados da VWR Chemicals (Espanha). Padrões de 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazolina-6-sulfônico ácido) (ABTS), carbonato de sódio (Na₂CO₃), cloreto de alumínio (AlCl₃), persulfato de potássio (K₂S₂O₈),

fosfato desódico (Na_2HPO_4), fosfato monopotássio (KH_2PO_4), fluoresceína de sal de sódio, ácido gálico, ácido ascórbico e quercetina foram obtidos de Sigma-Aldrich (Espanha). Folin-Ciocalteu reagente fenol foi adquirido da Merck (Alemanha). 2,2-azobis (2-amidinopropne) dihidroclorato (AAPH) foi comprado da TCI Chemicals (Japão). A água ultrauso foi obtida a partir de um sistema Millipore (Billerica, EUA).

Material vegetal

Os galhos de soja, folhas, vagens, raízes e soja (cultivar NA5909) foram coletados após a colheita mecânica na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade do Estado de São Paulo - Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil (-22,8296354, -48,42553). Todas as partes foram moídas em um moinho analítico básico (IKA® A11, Alemanha) e separadas por granulometria em um agitador de tamis eletromagnética (Bertel, Brasil). Apenas partículas com $<0,25$ mm foram utilizadas para extração.

Extração líquida pressurizada (PLE)

As extrações líquidas pressurizadas (PLE) foram feitas em um dispositivo ASE 200 (Dionex, EUA) usando uma célula de aço inoxidável de 11 mL a 100 bars. O PLE foi realizado em duas etapas: i) um primeiro passo em que materiais com alto teor de substâncias lipofílicas (soja) são desengordurados, e ii) um segundo passo focado na extração fenólica. Vale ressaltar que, para aqueles materiais vegetais com baixo conteúdo de substâncias lipofílicas, a extração do PLE foi iniciada na segunda etapa.

O material de soja foi separado em: i) uma mistura de partes iguais de subprodutos de soja (250 mg de galhos, folhas, vagens e raízes – num total de 1 g), e ii) 1 g do grão de soja (material de referência). O material vegetal foi misturado com areia purificada, utilizada para evitar a compactação do material vegetal, em proporção de 1:2 m/m, o que facilitou a difusão do solvente no material, evitando caminhos preferenciais. Todas as extrações foram feitas em triplicada, e as amostras foram preservadas a -18 °C até uma análise posterior.

Primeira etapa PLE – Procedimento de desengorduramento

Primeiro, foi realizado um processo de desengorduramento, i.e., eliminação de interferentes lipofílicos, usando *n*-heptano como solvente de referência. O hexano é o solvente convencional usado para desengordurar a soja, porém o *n*-heptano contém HSP similares e é considerado mais verde [25]. O procedimento de extração foi realizado em três temperaturas (40, 80 e 120 °C) por 90 min, gerando curvas de extração cinética a partir da coleta das amostras a cada 10 min. O rendimento de extração acumulado (%) de cada extração foi medido por meio da concentração de cada extrato com um fluxo contínuo de gás nitrogênio. Para substituir o *n*-heptano, três candidatos a solventes eutéticos hidrofóbicos naturais profundos (NaHDES) foram selecionados usando parâmetros de solubilidade de Hansen (HSP), bem como considerando a toxicidade e disponibilidade de seus componentes [26,27]. O HSP de 108 candidatos a NaHDES, que já foram descritos na literatura, foram calculados usando o software HSPiP® v 5.0[28–45]. Portanto, os três parâmetros de HSP: δD , δP e δH , que correspondem a ligações de dispersão, força intermolecular dipolar e ligações de hidrogênio entre moléculas/solventes, foram estimados para cada mistura de NaHDES[16]. Além disso, Jchem (JChem for Excel 21.1.0.787, ChemAxon (<https://www.chemaxon.com>) e Microsoft Excel 365 (Microsoft Corporation, EUA) foram aplicados para calcular a porcentagem de volume de cada composto de NaHDES, bem como para gerar seus SMILES. O HSP dos componentes individuais de NaHDES foram estimados pela ferramenta "Do It Yourself" e o HSP final das misturas de NaHDES foi obtido usando a ferramenta "Solvent Optimizer" no software HSPiP® v 5.0[27]. A seleção do NaHDES foi baseada na distância (R_a – Equação 1) ao *n*-heptano (considerado como "soluto" na Equação 1). A Tabela S1 resume o HSP estimado de NaHDES e *n*-heptano listados, bem como a distância entre eles. Assim, os NaHDES selecionados foram preparados misturando seus componentes com uma barra de agitação magnética a 90°C até atingir um líquido límpido.[46]. A primeira etapa do PLE alternativo usando NaHDES foi testada em três temperaturas (90, 120 e 150 °C) por 20 min (duas extrações de 10 min cada). Os frascos com NaHDES foram mantidas a 90°C em todas as extrações (Figura S1). Os extratos resultantes foram concentrados por um fluxo contínuo de nitrogênio.

$$R_a = \sqrt{4(\delta D^{\text{solvent}} - \delta D^{\text{solute}})^2 + (\delta P^{\text{solvent}} - \delta P^{\text{solute}})^2 + (\delta H^{\text{solvent}} - \delta H^{\text{solute}})^2} \quad (\text{Equação 1})$$

Segunda etapa PLE – Extração fenólica

A segunda etapa do PLE foi primeiramente realizada e otimizada com o mix dos subprodutos da soja (ou seja, galhos, folhas, vagens e raízes). Posteriormente, foi aplicada a condição ideal para extrair os subprodutos de soja individualmente, bem como a soja desengordurada. Assim, dois solventes foram testados nesta etapa: i) EtOH-H₂O 7:3 (v/v), e ii) cloreto de colina:ácido cítrico:água 1:1:11 (razão molar) (ChCl:Ca:H₂O), que já foi aplicado e seus constituintes e razão otimizada para extração de isoflavonas e solubilização flavonóides[47,48]. ChCl:Ca:H₂O foi preparado como descrito na seção anterior. As extrações foram realizadas a três temperaturas (60, 90 e 120°C) durante 20 min (duas extrações de 10 min cada). Posteriormente, a condição com maior teor fenólico e flavonoide foi aplicada para extrair as partes de soja individualmente.

Extração convencional e alternativa de subprodutos agro-soja

Maceração dinâmica (Mac) e líquidos expandidos a gás (GXLs) foram realizados para extrair a mistura de subprodutos agrícolas de soja e comparar seu teor de fenólico e flavonoide totais com a extração de líquidos pressurizados (PLE). Os resultados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) e teste de múltiplas comparações de Tukey com um nível de significância de 5% no GraphPad Prism versão 9 (GraphPad Software, EUA).

Maceração dinâmica como técnica de extração de referência (Mac)

Maceração dinâmica (Mac) com agitação magnética foi selecionada como a técnica de extração convencional. Uma mistura de 100 mg de galhos, folhas, vagens e raízes – num total de 400 mgs, foi extraído com 8 mL de i) [11]EtOH-H₂O 7:3 (v/v), e ii) cloreto de colina:ácido cítrico:água 1:1:11 (razão molar - ChCl:Ca:H₂O), a 1500 rpm, 60°C para 35 min (IKA C-MAG HS 7, Alemanha).

Líquidos expandidos a gás (GXLs)

Como técnica alternativa, a extração de líquidos expandidos por gás (GXLs), que compreende a dição de porcentagens de CO₂ ao solvente extrator, foi combinada com NADES para obter uma nova metodologia de extração de fenólicos. Até onde sabemos, a literatura não

relata tal combinação. Assim, um extrator de fluido comprimido foi utilizado para extrações de Líquidos Expandidos a Gás (GXLs). O equipamento consiste em uma bomba de alta pressão PU-2080 Plus CO₂ (Jasco, Japão) e uma bomba binária Agilent 1200 (Agilent, EUA). Para as extrações, 1 g da mistura de subprodutos de soja (preparado conforme indicado acima) foi misturado com 2 g de areia do mar e adicionado em uma célula de extração de aço inoxidável de 20 mL com lâ de vidro em ambas as extremidades. A célula foi colocada em um forno de coluna Adept CE 4600 (Cecil, Reino Unido) a 60°C. A pressão foi mantida em 100 bar usando uma válvula dosadora manual (Swagelok, EUA)[49]. A vazão total foi estabelecida em 4 mL/min e foram testados 25, 50 e 75% de CO₂ em ChCl:Ca:H₂O. Todas as extrações foram feitas em triplicata e as amostras foram preservadas a -18 °C até análise posterior.

Determinação do conteúdo fenólico total (TPC)

O conteúdo fenólico total (TPC) foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu [50]. Primeiramente, 10 µL de extratos foram misturados com 600 µL de água ultrapura e reagidos com 50 µL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 1 min, 150 µL de 20% (p/v) de carbonato de sódio (Na₂CO₃) foram adicionados e o volume final foi ajustado para 1 mL com água. A amostra foi misturada e incubada por 2 h à temperatura ambiente no escuro. Posteriormente, 300 µL da mistura foram transferidos para um leitor de espectrofotômetro de microplacas de 96 poços (Synergy HT, EUA), e a absorbância foi medida em 760 nm. Os valores foram convertidos em mg GAE (equivalente de ácido gálico) nos extratos por uma curva de calibração (0–2 mg/mL) preparada com ácido gálico padrão. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico por g de material vegetal.

Determinação do conteúdo flavonoide total (TFC)

O conteúdo total de flavonoides (TFC) foi medido usando o método colorimétrico de cloreto de alumínio com algumas modificações [51]. Primeiro, 240 µL de soluções metanólicas de quercetina (4-14 µg/mL) foram usados para preparar a curva de calibração e 100 µL de extratos adicionando 60 µL de AlCl₃ 8 mM foram preenchidos em cada poço. A absorbância de cada amostra foi medida a 425 nm após 30 min de incubação no escuro. Os valores foram convertidos em mg QE (equivalente de quercetina) nos extratos. Os resultados foram expressos em µg equivalentes de quercetina por grama de material vegetal.

Ensaio de atividade antioxidante – espécies reativas de oxigênio (ROS)

O método da capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) foi realizado de acordo com Ou et al.[52] e Ninfali et al.[53]. As misturas de reação nos poços continham os seguintes reagentes: 100 µL de amostra de extrato em diferentes concentrações (5 µg-50 µg/mL) em EtOH-H₂O 9:1 (v/v), 100 µL de AAPH (590 mM) em 30 mM de solução salina tamponada com fosfato (PBS) a pH = 7,5, 25 µL de fluoresceína (10 µM) em tampão PBS e 100 µL de tampão PBS. A fluorescência foi medida ($\lambda_{\text{excitação}} = 485 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{emissão}} = 530 \text{ nm}$) a cada 5 minutos a 37°C por 1 hora. O ácido ascórbico foi usado como padrão de referência. A capacidade de cada extrato para sequestrar radicais peroxil foi calculada usando a Equação 2, onde As é a área sob a curva (AUC) de fluoresceína na amostra, At é a AUC do ácido ascórbico, Ab é a AUC do controle (em branco da extração), k é o fator de diluição, a é a concentração do ácido ascórbico em mg/mL,

$$ORAC \text{ (mg ascorbic acid equivalent/g)} = \left[\frac{As - Ab}{At - Ab} \right] kah \text{ (Equação 2)}$$

Cromatografia a gás acoplado à espectrometria de massa (GC-QToF-MS)

O perfil metabólito dos extratos de soja com n-heptane e NaHDES (10 mg/mL) foi realizado utilizando um sistema Agilent 7890B (Agilent Technologies, EUA) acoplado a um quadrupole time-of-flight (QToF) 7200 (Agilent Technologies, EUA) equipado com uma interface de ionização eletrônica (EI). As separações foram realizadas em uma Coluna Capilar de 30 m × 250 µm × 0,25 µm DB5-MS + 10 m Duragard Capillary Column (Zorbax, Agilent Technologies, EUA). As amostras foram diluídas à 1:10 em n-heptane e filtradas com um filtro de seringa de 0,22 µm de nylon antes da injeção. O volume de injeção foi de 1 µL utilizando um fluxo dividido de 8,4 mL/min. A taxa de fluxo de hélio foi de 0,8 mL/min. A temperatura do injetor foi de 250 °C. A temperatura do forno começou em 60°C (1 min), seguida por 325°C à taxa de 10 C°/min (10 min) e 11 min de atraso solvente. Os extratos de n-heptano e eucaliptol :mentol (1:1) foram anotados usando a correspondência de espectros de massa na ferramenta Agilent Mass Hunter Unknown Analysis e bancos de dados espectrais em massa (ou seja, NIST MS Search v.2.0 e Fiehn Lib).

Cromatografia líquida de alto desempenho acoplada à espectrometria de massa (UHPLC-QToF-MS/MS)

Extratos das partes individuais de soja, ou seja, galhos, folhas, vagens, raízes e soja, da condição ótima de PLE (ChCl:Ca:H₂O a 120°C), que apresentaram os maiores TPC e TFC) foram diluídos 1: 10 em EtOH-H₂O 7:3 (v/v) e filtrado com uma seringa-filtro de nylon de 0,22 µm antes da injeção. As análises foram realizadas em um sistema UHPLC Agilent 1290 (Agilent Technologies, EUA) acoplado a um espectrômetro de massa de tempo de voo quadrupolo Agilent 6540 (QToF-MS), equipado com uma fonte ESI ortogonal (Agilent Jet Stream, EUA). A análise em modo positivo e negativo foi realizada em coluna C18, 100 x 2,1 mm; 1,8 µm (Zorbax Eclipse Plus, Agilent Technologies, EUA) e H₂O e ACN, ambos acidificados com 0,01% de ácido fórmico (v/v) (A e B, respectivamente) na seguinte eluição de gradiente: 0–30% B em 0– 7 min, 30–80% B em 7–9 min, 80–100% B em 9–11 min, 100% B em 11–13 min e 0% B em 13–14 min. A taxa de fluxo foi mantida em 0,5 mL/min, a temperatura da coluna foi de 30 °C e o volume de injeção de amostra foi de 5 µL. Os parâmetros de MS foram os seguintes: voltagem capilar, 4000 V; pressão do nebulizador, 40 psi; caudal de gás de secagem, 10 L/min; temperatura do gás, 350°C; tensão do skimmer, 45 V; voltagem do fragmentador, 110 V. Os modos MS e Auto MS/MS foram configurados para adquirir valores de m/z variando entre 50 e 1100 e 50–800, respectivamente, a uma taxa de varredura de 5 espectros por segundo. O software de análise qualitativa Agilent Mass Hunter (B.07.00) foi usado para processamento de dados pós-aquisição. Os metabólitos presentes nos extratos foram anotados usando Global Natural Product Social Molecular Networking (GNPS) (<http://gnps.ucsd.edu>) 5 mL/min, a temperatura da coluna foi de 30 °C e o volume de injeção da amostra foi de 5 µL. Os parâmetros de MS foram os seguintes: voltagem capilar, 4000 V; pressão do nebulizador, 40 psi; caudal de gás de secagem, 10 L/min; temperatura do gás, 350°C; tensão do skimmer, 45 V; voltagem do fragmentador, 110 V. Os modos MS e Auto MS/MS foram configurados para adquirir valores de m/z variando entre 50 e 1100 e 50–800, respectivamente, a uma taxa de varredura de 5 espectros por segundo. O software de análise qualitativa Agilent Mass Hunter (B.07.00) foi usado para processamento de dados pós-aquisição. Os metabólitos presentes nos extratos foram anotados usando Global Natural Product Social Molecular Networking (GNPS) (<http://gnps.ucsd.edu>) 5 mL/min, a temperatura da coluna foi de 30 °C e o volume de injeção da amostra foi de 5 µL. Os parâmetros de MS foram os seguintes: voltagem capilar, 4000 V; pressão do nebulizador, 40 psi; caudal de gás de secagem, 10 L/min; temperatura do gás, 350°C; tensão do skimmer, 45 V; voltagem do

fragmentador, 110 V. Os modos MS e Auto MS/MS foram configurados para adquirir valores de m/z variando entre 50 e 1100 e 50–800, respectivamente, a uma taxa de varredura de 5 espectros por segundo. O software de análise qualitativa Agilent Mass Hunter (B.07.00) foi usado para processamento de dados pós-aquisição. Os metabólitos presentes nos extratos foram anotados usando Global Natural Product Social Molecular Networking (GNPS) (<http://gnps.ucsd.edu>) 40psi; caudal de gás de secagem, 10 L/min; temperatura do gás, 350°C; tensão do skimmer, 45 V; voltagem do fragmentador, 110 V. Os modos MS e Auto MS/MS foram configurados para adquirir valores de m/z variando entre 50 e 1100 e 50–800, respectivamente, a uma taxa de varredura de 5 espectros por segundo. O software de análise qualitativa Agilent Mass Hunter (B.07.00) foi usado para processamento de dados pós-aquisição. Os metabólitos presentes nos extratos foram anotados usando Global Natural Product Social Molecular Networking (GNPS) (<http://gnps.ucsd.edu>) 40psi; caudal de gás de secagem, 10 L/min; temperatura do gás, 350°C; tensão do skimmer, 45 V; voltagem do fragmentador, 110 V. Os modos MS e Auto MS/MS foram configurados para adquirir valores de m/z variando entre 50 e 1100 e 50–800, respectivamente, a uma taxa de varredura de 5 espectros por segundo. O software de análise qualitativa Agilent Mass Hunter (B.07.00) foi usado para processamento de dados pós-aquisição. Os metabólitos presentes nos extratos foram anotados usando Global Natural Product Social Molecular Networking (GNPS) (<http://gnps.ucsd.edu>) [54]. Primeiro, os dados MS foram convertidos para o formato mzML com o software MSConvert pacote ProteoWizard 3.0.6002 (ProteoWizard, EUA). Os arquivos convertidos foram carregados para a plataforma GNPS e uma rede molecular foi criada usando o fluxo de trabalho online (<https://ccms-ucsd.github.io/GNPSDocumentation/>). Os dados foram filtrados removendo todos os íons do fragmento MS/MS dentro de ± 17 Da do precursor m/z . Os espectros de MS/MS foram filtrados por janela escolhendo apenas os seis principais íons de fragmento na janela de ± 50 Da em todo o espectro. A massa do íon precursor e as tolerâncias do íon do fragmento MS/MS foram ajustadas para 0,02 Da. Uma pontuação de cosseno acima de 0,65 e mais de quatro picos combinados foram usados para criar as bordas da rede. Os espectros na rede foram pesquisados contra as bibliotecas espectrais do GNPS. Os espectros da biblioteca foram filtrados da mesma maneira que os dados de entrada. Os espectros de íons produto apresentados no GNPS foram verificados manualmente com anotação prévia da literatura. Além disso, isoflavonóides e flavonoides já identificados na soja têm seus espectros m/z e MS/MS pesquisados nos cromatogramas usando o software MZmine 2.53 (<https://mzmine.github.io/>) [55,56].

Resultados e discussão

Primeira etapa – Desengorduramento da soja com *n*-heptano e solventes metáticos naturais alternativos (NaHDES)

As curvas cinéticas correspondentes ao primeiro passo da extração por PLE da soja (incluindo soja e a mistura de subprodutos de soja) são mostradas na Figura 1. Tais curvas estão relacionadas ao rendimento acumulado (%) do procedimento de desengorduramento da soja (Figura 1A) e à mistura de subprodutos de soja (galhos, folhas, vagens e raízes – Figura 21B) utilizando *n*-heptano como solvente de referência. A extração da soja atingiu equilíbrio após 20 minutos de extração com rendimento acumulado de 21,14% a 120°C (Figura 1A). Por outro lado, o processo de desengorduramento para a mistura de subprodutos de soja resultou em um rendimento acumulado inferior a 3% para todas as temperaturas monitoradas e tempos de extração. Portanto, o primeiro passo por meio do PLE não foi aplicado ao mix das partes individuais dos subprodutos de soja, uma vez que envolveria um passo adicional com mais solvente e consumo de energia com um pequeno benefício em termos de rendimento.

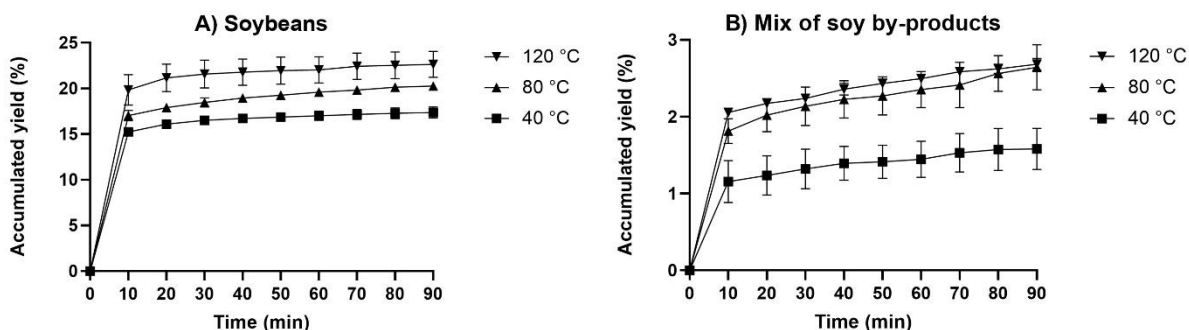


Figura 1. Curvas cinéticas baseadas nos rendimentos da soja e mistura de extratos de soja gerados pelo PLE utilizando *n*-heptano a três temperaturas diferentes (40, 80 e 120°C).

Como alternativa ao *n*-heptano, 108 candidatos a Solventes Eutéticos Hidrofóbicos Naturais (NaHDES), já descritos na literatura, foram selecionados *in silico* para desengordurar a soja [28–45]. Em contraste com a abordagem usual dos Parâmetros de Solubilidade de Hansen (HSP), quando o alvo é um composto bioativo, este trabalho usou um solvente, *n*-heptano, como alvo para encontrar outras opções semelhantes (e mais verdes). A abordagem HSP foi aplicada usando o software HSPiP®, permitindo o cálculo de HSP para NaHDES. Uma menor distância

(Ra) entre NaHDES e *n*-heptano significa uma maior similaridade entre eles e um potencial substituto para o solvente de referência. A Tabela S1 apresenta os valores de HSP e Ra de NaHDES, e a Tabela 1 contém os valores referidos dos três NaHDES e *n*-heptano selecionados. Eucaliptol:mentol 1:1 (EM) apresentou maior similaridade com o *n*-heptano, com Ra de 6,33. Tal candidato a NaHDES já foi aplicado para extrair astaxantina de resíduos de casca de caranguejo marrom [45]. EM foi a mistura à base de terpeno menos polar e viscosa no trabalho citado. O segundo candidato ao NaHDES selecionado foi cânfora:mentol (1:1) (CM), pois contém um dos mesmos constituintes que o primeiro, mentol, e Ra semelhante (5º lugar na Tabela S1 – Ra de 7,13). Reduz a necessidade de outras duas substâncias e contém uma diferença percentual de 3,63% em relação ao segundo classificado NaHDES, borneol:ácido oleico (1:4). A cânfora:timol (3:2) foi a terceira mistura escolhida por apresentar um dos mesmos constituintes desta última mistura e contém propriedades intermediárias entre as outras duas proporções (1:1 e 2:1) de seus componentes.

Tabela 1. Parâmetros de solubilidade de Hansen (δD , δP e δH) de *n*-heptano, o solvente de referência, e os três solventes eutéticos naturais hidrofóbicos selecionados (NaHDES).

Solventes	δD	δP	δH	Ra
<i>n</i> -Heptano (referencia)	15.30	0.00	0.00	0.00
Eucaliptol:mentol 1:1	16.59	3.17	4.82	6.33
Cânfora:mentol 1:1	16.91	4.28	4.71	7.13
Cânfora:timol 3:2	17.56	4.72	4.16	7.74

Em seguida, os três NaHDES selecionados foram inicialmente testados para desengordurar soja usando PLE a 90, 120 e 150°C. A temperatura de 120°C foi definida como a temperatura intermediária por ser a melhor temperatura para o *n*-heptano. Os rendimentos alcançados para as três misturas foram semelhantes aos observados para *n*-heptano, com um rendimento acumulado de 22,34±1,43% (Tabela 2 e Figura S2). O tempo de extração foi fixado em 20 min resultando no equilíbrio do rendimento acumulado com o solvente de referência, conforme descrito anteriormente. Não foram observadas diferenças estatísticas ($p>0,05$) para as três misturas nas três temperaturas. Isso significa que extrações com candidatos NaHDES a 90°C podem ser usadas com sucesso para substituir *n*-heptano para desengordurar soja a 120°C. Resultados semelhantes foram obtidos por Claux et al. [15]. Em seu trabalho, o desengorduramento da soja foi realizado usando 2-metiloxolano (2-MeTHF) puro e com adição

de água, resultando em um rendimento acumulado semelhante ($23,7 \pm 0,1$) ao obtido neste trabalho. Para as etapas seguintes, o EM foi selecionado como a melhor mistura para desengordurar a soja por apresentar rendimentos semelhantes às demais opções e seus componentes apresentarem menor toxicidade [57–60]. Gasparetto et al. destacaram alternativas verdes para extrair óleo de soja[61]. Solventes, como terpenos, éter ciclopentilmetílico (CPME) e 2-MeTHF, foram aplicados como substitutos eficientes ao hexano. Além disso, misturas de etanol com éster alquílico ou acetato de etila, bem como α -pineno foram estudadas para desengordurar soja, alcançando resultados promissores [62–64]. Além do HSP, o COSMO-RS (COnductor-like Screening MOdel for Real Solvents) também pode ser empregado para a triagem de solventes mais verdes para o processo de desengorduramento, conforme descrito por Sicaire et al. e Cascan et al. [65–67].

Tabela 2. Extração do processo de desengorduramento da soja empregando extração de líquidos pressurizados (PLE) com *n*-heptano em 40, 80, e 120°C e três candidatos selecionados NaHDES, eucaliptol:mentol (1:1), cânfora:mentol (1:1), cânfora:timol (3:2), a 90, 120 e 150°C.

Solventes	Temperatura (°C)	Rendimento da extração (%)
<i>n</i> -Heptano	40	16.08±0.12 ^e
	80	17.91±0.49 ^{d,e}
	120	21.15±1.51 ^{b,c}
Eucaliptol:mentol (1:1)	90	21.54±1.53 ^{a,b,c}
	120	22.12±0.93 ^{a,b,c}
	150	21.79±0.63 ^{a,b,c}
Cânfora:mentol (1:1)	90	20.32±0.86 ^{c,d}
	120	22.62±0.1 ^{a,b,c}
	150	23.97±0.55 ^a
Cânfora:timol (3:2)	90	21.32±1.37 ^{a,b,c}
	120	23.51±1.02 ^{a,b}
	150	23.84±0.55 ^{a,b}

* As letras em uma coluna indicam diferenças significativas entre solventes de extração para diferentes extratos ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Adicionalmente, a Figura 3 mostra os cromatogramas GC-QToF-MS das frações correspondentes à menor e maior temperatura das extrações pressurizadas de *n*-heptano (40 e 120°C) e EM (90°C e 150°C). Conforme representado nos cromatogramas, a temperatura não promoveu diferenças no perfil metabólico. Os compostos 1 e 2 foram identificados como ácido linolênico e δ -tocoferol, respectivamente. Nos cromatogramas de *n*-heptano, obteve-se maior intensidade de δ -tocoferol e, em contrapartida, o pico relacionado ao ácido linolênico foi mais intenso nos cromatogramas EM. Os picos marcados com (*) foram relacionados a contaminantes ftalatos identificados nos extratos de NaHDES. Outras análises devem ser empregadas com foco na substituição do *n*-heptano (hexano) pela soja desengordurada conforme proposto por Claux et al.[15].

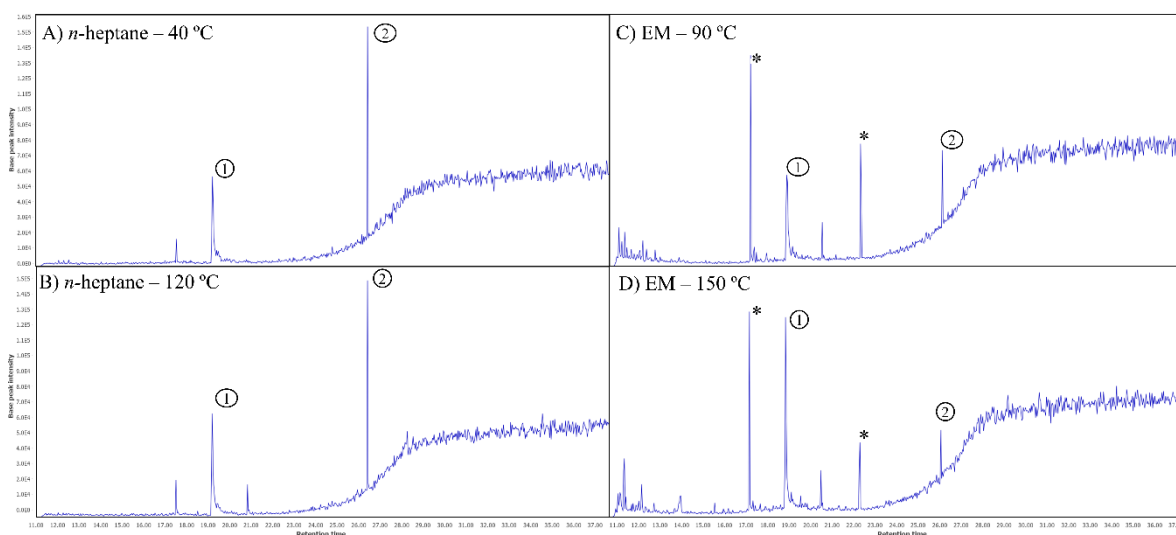


Figura 3. Cromatogramas GC-QToF-MS da temperatura mais baixa e alta dos extratos de *n*-heptano de soja a 40 (A) e 120°C (B) e eucaliptol:mentol (1:1) – EM a 90 (C) e 150°C (D) realizados pelo PLE.

Segunda etapa – Extração de compostos fenólicos

Os teores de flavonoides (TFC) e fenólicos (TPC) totais da mistura de subprodutos de soja foram definidos como a resposta para otimizar as condições pressurizadas para extrair as partes individuais da soja e grão, conforme apresentado a seguir. Primeiramente, o PLE foi realizado em três temperaturas: 60, 90 e 120°C; dois solventes: i) EtOH-H₂O 7:3 (v/v) e o NADES ii) cloreto de colina:ácido cítrico:água (1:1:11) (ChCl:Ca:H₂O); 20 min de extração,

pois foi o tempo em que se obteve o melhor resultado na primeira etapa do PLE (Figura S3). Tal NADES foi selecionado pois seus constituintes e proporção já foram otimizados para extrair isoflavonas e solubilizar flavonoides sob condições de baixa pressão[47,48]. Bajkacz e Adamek determinaram as melhores condições para extrair daidzina, genistina, genisteína e daidzeína de produtos de soja com cloreto de colina: ácido cítrico (razão molar de 1:1 com 30% de água) a 60 °C utilizando a extração assistida por ultrassom (UAE) [48]. Tang et al. verificaram que uma proporção e constituintes de NADES semelhantes, com ligeira modificação no teor de água (37%, o que significa ChCl:Ca:H₂O - 1:1:11), apresenta maior capacidade de extrair, separar ou purificar flavonóides, como fletina, florizina e naringina DC[47]. Nosso trabalho selecionou a relação NADES com 37% de água por fornecer um solvente de menor viscosidade, possibilitando sua pressurização pela bomba PLE. Além disso, as extrações de TPC e TFC de PLE foram comparadas com maceração dinâmica usando i) ChCl:Ca:H₂O (na mesma proporção acima) e ii) EtOH-H₂O 7:3 (v/v) a 60 °C como o método de referência. Além disso, líquidos expandidos por gás (GXLs) com ChCl:Ca:H₂O foram testados com três porcentagens de CO₂ (25, 50 e 75%) a 60 °C, a fim de reduzir a quantidade de NADES a ser empregada, favorecendo a viscosidade e a difusividade dos compostos no solvente. Problemas mecânicos relacionados a estabilidades da pressão do sistema em diferentes porcentagens de CO₂ determinaram a utilização de apenas 50% no NADES viscoso. Até onde sabemos, a literatura não relata a combinação de GXLs com NADES. Então, um equipamento GXLs com um sistema de controle de pressão mais robusto poderia ser proposto como uma potencial inovação para lidar com solventes de maior viscosidade, pois, como mencionado, poderia diminuir sua viscosidade, modificar o pH do meio de extração e alterar outras propriedades químicas e/ou físicas[24].

Os resultados de TFC e TPC de ChCl:Ca:H₂O pressurizado e EtOH-H₂O 7:3 (v/v), bem como GXLs e extrações de maceração dinâmica são exibidos na Tabela 3. ChCl:Ca:H₂O pressurizado a 90 e 120°C e EtOH-H₂O 7:3 (v/v) pressurizado a 120°C apresentaram resultados semelhantes ($p>0,05$). No entanto, as maiores médias de TFC e TPC foram alcançadas a 120°C e ChCl:Ca:H₂O, o que representa 369,74±8,78 µg QE/ge 5,63±1,11 mg GAE/g, respectivamente. Os menores TFC e TPC foram alcançados a 60°C por maceração dinâmica com EtOH-H₂O 7:3 (v/v), 136,30±23,8 µg QE/g, e ChCl:Ca:H₂O expandido por gás, cujo teor não foi detectado, respectivamente. Aboushanab et al. extraíram isoflavonas de raízes de kudzu e melão de soja usando cloreto de colina e ácido cítrico na proporção molar de 1:2 [68]. Eles alcançaram um TPC e TFC de 15,20±3,47 mg GAE/ge 6,12±0,51 mg QE/g, respectivamente,

em extratos de melão de soja. A comparação entre os resultados citados com o nosso trabalho é inadequada, pois concentraram tais frações previamente as análises citadas. Os extratos secos foram utilizados para realizar os ensaios, promovendo maior concentração de TPC e TFC[68]. Combinando extração de água quente pressurizada (PHWE) e NADES como modificadores, Loarce et al. desenvolveram uma abordagem promissora para extrair antocianinas de bagaço de uva[22]. Oito misturas de NADES foram testadas, e a melhor composição de NADES foi adicionada em três porcentagens em PHWE (10, 20 e 30%). Posteriormente, a melhor composição foi estudada em quatro temperaturas (40, 60, 80 e 100°C). Um PHWE com 30% cloreto de colina:ácido oxálico 1:1 (razão molar) gerou os melhores resultados. Em seu trabalho, maiores concentrações de NADES demonstraram um maior teor de antocianinas e piroantocianinas. Em contrapartida, as extrações feitas a 60, 80 e 100°C não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) nas respostas citadas. Rachmaniah et al. aplicaram NADES pressurizado para extrair alcalóides de *Narcissus pseudonarcissus*. Os melhores resultados foram obtidos usando ácido málico:sacarose:água (1:1:5) a 50 bar e 50°C, com resultados semelhantes à extração exaustiva de Soxhlet com metanol[69]. Além disso, Benvenuti et al. realizaram extrações pressurizadas de DES de subproduto do processamento de jaboticaba resultando em frações com potencial antioxidante, antidiabético e propriedades anti-obesidade[23]. A solução DES de cloreto de colina com propilenoglicol ou ácido málico combinado com PLE promoveu extratos com rendimentos 50% superiores à água, água acidificada (pH 1,5) e solução hidroetanólica (47% de EtOH em água), que representam os solventes convencionais para a extração de antocianinas.

Tabela 3. Teor de flavonoides (TFC) e de fenólicos (TPC) totais da mistura de subprodutos de soja (ou seja, galhos, folhas, vagens e raízes) de diferentes condições de extração.

Extracts	T (°C)	TFC ($\mu\text{g QE/g}$)	TPC (mg GAE/g)
GXLs - ChCl:Ca:H ₂ O (1:1:11)	60	136.30±23.8 ^f	¥
Mac - ChCl:Ca:H ₂ O (1:1:11)	60	216.10±40.7 ^{c,d}	0.82±0.13 ^e
Mac - EtOH-H ₂ O 7:3 (v/v)	60	114.21±2.90 ^f	1.83±0.21 ^{c,d,e}
PLE - ChCl:Ca:H ₂ O (1:1:11)	60	273.8±26.1 ^{b,c}	1.39±0.23 ^{d,e}
	90	323.57±16.68 ^{a,b}	4.29±1.15 ^{a,b}
	120	369.74±8.78 ^a	5.63±1.11 ^a

PLE - EtOH-H ₂ O 7:3 (v/v)	60	147.75±13.93 ^{e,f}	2.52±0.16 ^{c,d}
	90	201.39±8.14 ^{d,e}	3.47±0.09 ^{b,c}
	120	316.68±13.77 ^{a,b}	5.33±0.13 ^a

* As letras em uma coluna indicam diferenças significativas entre solventes de extração para diferentes extratos ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

¥ Quantidade não detectada

Análise dos subprodutos da soja e grão

Os maiores TPC e TFC para os extratos preparados a partir da mistura de subprodutos de soja foram obtidos com PLE a 120°C com ChCl:Ca:H₂O. Em seguida, esta condição foi aplicada para extrair subprodutos de soja individualmente e (previamente desengordurado por EM pressurizado); os resultados são apresentados na Tabela 4. Extratos de folhas de soja seguidos de vagens apresentaram as maiores TFC, 419,10±33,8 e 250,10±20,00 µg QE/g, respectivamente. Galhos, raízes e soja não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) no TFC. Para os subprodutos de soja, o valor médio de TPC foi de 8,45±2,26 mg GAE/g, sem diferença entre eles. No entanto, extratos dos grãos apresentaram o menor valor de TPC, 1,01±0,18 mg GAE/g. Comparações entre o teor de compostos bioativos, especificamente isoflavonas, de subprodutos de soja e soja foram relatados por Carneiro et al.[10]. Os autores verificaram que os subprodutos da soja (i.e., galhos, folhas e vagens) possuem 132% do total de isoflavonas quantificados na soja, representando que os subprodutos da soja são fontes potenciais de compostos fenólicos. Além disso, Cabezudo et al. obtiveram maior teor de compostos fenólicos na casca de soja, um subproduto da soja, do que no grão [70]. Eles realizaram uma extração verde com base em um tratamento de hidrólise alcalina, resultando em um TPC de 0,72 g equivalentes de ácido gálico por 100 g de casca de soja. Gupta e Chen obtiveram maior teor de daidzeína e genisteína em extratos fermentados de okara (subproduto do leite de soja) usando *Rhizopus oligosporus* em comparação com o material não fermentado [71]. Além disso, os extratos fermentados apresentaram TPC e TFC de 709,33±2,92 e 10,77±1,25 mg de equivalentes de ácido gálico e quercetina por g de amostras de okara, respectivamente.

Em relação às propriedades antioxidantes dos subprodutos de soja e extratos de commodities, a capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) foi determinada pelo método de capacidade de eliminação de ROS (Tabela 4). Os extratos de raiz de soja apresentaram a maior capacidade antioxidante, 207,48±40,23 mg AA/g, com três vezes mais

atividade que os extratos do grão, $68,96 \pm 12,30$. Folhas e galhos apresentaram capacidade antioxidante semelhante, com $124,75 \pm 12,71$ e $108,33 \pm 20,61$ mg AA/g. Em contraste, as vagens apresentaram o menor valor, $60,74 \pm 13,60$ mg AA/g. Dorta et al. compararam o TPC e ORAC de subprodutos de manga, concluindo que ambas as respostas não apresentaram correlação [72]. Em contraste, aplicando uma combinação de PLE e NADES, Benvenuti et al. encontraram uma correlação entre o TPC e a capacidade antioxidante de extratos de subprodutos do processamento de jaboticaba [23]. Além disso, concentrações intermediárias de DES, vazão e temperatura aumentaram o potencial antioxidante dos extratos. Realizando extração com água subcrítica combinada à NADES, Loarce et al. extratos realizados com maior teor de catequinas, taninos, ácidos hidroxicinâmicos e flavonóis de subprodutos da vinificação [21]. Além disso, constataram que os metabólitos bioativos citados contribuem para a capacidade antioxidante. De acordo com o melhor de nosso conhecimento, a literatura não relata a combinação de PLE e NADES para gerar frações ricas em fenólicos com alta capacidade antioxidante a partir de subprodutos agrícolas da soja, que têm sido descritos como fontes promissoras de compostos bioativos e pouco exploradas [73].

Tabela 4. O teor total de flavonoides (TFC) e fenólicos (TPC), bem como capacidade antioxidante (ORAC) dos extratos dos subprodutos de soja (ou seja, galhos, folhas, vagens e raízes) e soja feitos por meio de $\text{CHCl}_3:\text{CA}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1:11) a 120°C , 100 bar, e 20 min de extração.

Extratos	TFC ($\mu\text{g QE/g}$)	TPC (mg GAE/g)	ORAC (mg AA/g)
Galhos	154.00 ± 21.8^c	6.35 ± 1.67^a	$108.33 \pm 20.61^{b,c}$
Folhas	419.10 ± 33.8^a	9.73 ± 1.27^a	124.75 ± 12.71^b
Vagens	250.10 ± 20.00^b	9.28 ± 2.16^a	60.74 ± 13.60^c
Raízes	114.37 ± 14.68^c	8.44 ± 2.99^a	207.48 ± 40.23^a
Grão [‡]	154.00 ± 47.10^c	1.01 ± 0.18^b	$68.96 \pm 12.30^{b,c}$

* As letras em uma coluna indicam diferenças significativas entre os solventes de extração para diferentes extratos ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

‡ Soja desengorduramentada

Extratos de $\text{CHCl}_3:\text{Ca}:\text{H}_2\text{O}$ pressurizados também foram analisados por UHPLC-ESI-QToF-MS/MS. A anotação dos espectros MS/MS foi realizada comparando seus dados com a biblioteca de referência espectral GNPS e verificando manualmente pelo MZmine[54]. Além disso, os candidatos obtidos pelo GNPS tiveram sua compatibilidade contestada com a massa de alta resolução adquirida e com relatos anteriores de sua ocorrência em subprodutos de soja

[5]. A Tabela 5 resume a anotação dos metabólitos identificados, com foco nos metabólitos mais importantes da soja, flavonóides e isoflavonóides. Os isoflavonóides daidzina e genistina, bem como o flavonóide apigenina, foram encontrados em todas as partes da soja. Tais metabólitos foram relacionados a potenciais propriedades bioativas contra o câncer e capacidade anti-inflamatória[7,74–76]. Além disso, isoflavonóides bioativos, como formononetina 7-O-glicosídeo (ononina) e biochanina A 7-O-glicosídeo (astrosídeo), foram identificados em pelo menos um subproduto da soja. A ononina tem sido relacionada como uma droga antiparasitária, e o astrosídeo contém propriedades potenciais para maximizar a função da comunidade microbiana em animais [77,78].

Tabela 5. Lista de compostos provisoriamente identificados no extrato de ChCl:CA:H₂O (1:1:11) extratos de galhos (B), folhas (L), vagens (P), raízes (R) e soja (S) por UHPLC-ESI-QToF-MS/MS.

Número do pico	Tr (min)	Identificação	Classificação	Fórmula molecular	Ion molecular	Massa mensurada (Δ ppm)	MS/MS fragmentos (abundância relativa)	B	L	P	R	S
1	4.18	Licoagrosideo B	Glycosideo	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₂	[M+H] ⁺	433.1340 (3.8)	127.0380 (100), 85.0280 (7.8), 128.0420 (6.9)	X	X	X	X	X
2	5.06	Genistina	Isoflavonoide	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.1129 (-3.9)	255.0650 (100), 256.0680 (19.1), 199.0740 (9.1)	X	X	X	X	X
3	5.26	Daidzina	Isoflavonoid	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M+H] ⁺ [M+FA-H] ⁻	417.1180 (-0.4) 461.1089(-4.5)	255.0670 (100), 256.0660 (25.2), 257.0700 (6.3) 253.0490 (100), 252.0420 (61.1), 44.9990 (56.7)	X	X	X	X	X
4	5.30	Kaempferol 3-rutinoside 4'-glucosideo	Flavonoide	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	[M+H] ⁺	757.2186(6.6)	287.0540 (100), 85.0270 (28.6), 288.0570 (21.3)		X	X		
5	5.36	3-[[[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-Dihydroxy-3-[[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy]-6-[[[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy]methyl]oxan-2-yl]oxy]-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one	Flavonoide	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	[M+H] ⁺	757.2185 (3.8)	287.0550 (100), 288.0590 (20.1), 85.0270 (15.2)		X		X	
6	5.45	Biochanina A 7-O-glucosideo (astrosideo)	Isoflavonoide	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+Cl] ⁻	481.0907(-1.7)	283.0570 (100), 268.0370 (38.0), 284.0620 (17.2)			X		X

7	5.56	Glycitina	Isoflavonoide	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	447.1286(0.2)	285.0746 (100), 286.0786 (21.8), 448.2425 (8.6)	X	X	X		X
8	6.50	Malonyldaidzina	Isoflavonoide	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₂	[M+H] ⁺	503.1184 (4.2)	255.0647 (100), 70.0657 (20.4), 86.0949 (20.4)			X	X	X
9	7.10	6"-O-Acetyldaidzina	Isoflavonoide	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	459.1286(3.9)	255.0649 (100), 70.0658 (12.0), 471.2798 (10.1)					X
10	7.26	Formononetina 7-O-glucosideo (ononina)	Isoflavonoide	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	[M+H] ⁺	431.1336 (6.9)	269.0800 (100), 270.0830 (25.6), 254.0560 (11.6)	X	X	X		
11	7.41	4',6-Dimethoxyisoflavone-7-O-.beta.-D-glucopyranosideo (wistina)	Isoflavonoide	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₀	[M+H] ⁺	461.1442 (2.9)	299.0900 (100), 284.0670 (42.6), 300.0930 (19.0)		X			
12	8.45	Apigenina	Flavonoide	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.0455(-5.8)	269.0412 (100), 151.0321 (23.4), 223.8405 (21.9)	X	X	X	X	X

Apesar da alta temperatura, 120°C, que poderia afetar as formas glicosídicas dos flavonoides e isoflavonóides, 6"-O-acetildaidzina, malonildaidzina, daidzina, genistina, glicitina, bem como kaempferol 3-rutinosídeo 4'-glicosídeo, estes também foram identificados nos extratos. Rostagno et al. relataram que a degradação de malonil glicosídeo e glicosídeos ocorre acima de 100 e 150° C, respectivamente[79]. Portanto, a composição do NADES pode ter interferido no efeito da temperatura sobre flavonóides e isoflavonóides. No entanto, extratos à base de PLE-NADES foram diluídos antes da injeção nos sistemas MS como medida de precaução, o que pode ter diminuído a identificação de compostos minoritários. Metodologias alternativas para recuperação de compostos fenólicos de extratos de NADES, como extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE) e extração supercrítica de dióxido de carbono (SFC), podem ser abordagens viáveis para concentrar metabólitos alvo e reduzir a interferência dos componentes dos NADES, como mencionado por Mišan et al. [80].

Conclusão

A extração Líquida Pressurizada (PLE) utilizando cloreto de colina:ácido cítrico:água (1:1:11 – razão molar) a 120°C, 100 bar e 20 min (2 ciclos de 10 min) resultou em condições otimizadas para extrair fenólicos e flavonoides de subprodutos agrícolas de soja. Os extratos de folhas de soja obtidos nessas condições apresentaram o maior TFC, seguido por vagens, com 419,10±33,8 e 250,10±20,00 µg QE/g, respectivamente. Em relação ao TPC, os subprodutos da soja contêm conteúdo semelhante e são superiores ao grão, enquanto os extratos de raízes de soja apresentaram a maior capacidade antioxidante, 207,48±40,23 mg AA/g, três vezes maior do que o observado para extratos do grão, com 68,96± 12,30 mg AA/g. Além disso, compostos bioativos, como apigenina (flavonoide) bem como daidzin e genistin (isoflavonóides), foram identificados em extratos baseados em PLE-NADES de todas as partes da soja. Além disso, um novo processo de desengorduramentante foi desenvolvido utilizando candidatos naHDES pressurizados, com um perfil cromatográfico e de rendimento semelhante ao n-heptano, tornando-se uma alternativa nova e mais verde à extração convencional de óleo de soja.

Este trabalho promove novas percepções sobre o uso de NADES pressurizados e expandidos a gás, que foram pouco combinados e apresentam aplicações promissoras. Esses solventes podem ser alternativas verdes para extrair compostos bioativos e, combinados com técnicas pressurizadas, podem ser uma abordagem poderosa para gerar frações ricas em fenólicos com benefícios para a saúde humana. Além disso, o uso de um subproduto agrícola

abundante, ou seja, galhos de soja, folhas, vagens e raízes, que contém vários compostos bioativos, está relacionado a uma economia circular e mais verde, como sugerido pela meta 12, "Consumo e produção sustentáveis" dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU).

Referências

1. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products* (2020) 83:770–803. doi: 10.1021/ACS.JNATPROD.9B01285/SUPPL_FILE/NP9B01285_SI_009.PDF
2. Zhang F, Wang T, Wang X, Lü X. Apple pomace as a potential valuable resource for full-components utilization: A review. *Journal of Cleaner Production* (2021) 329:129676. doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2021.129676
3. da Silva MR, Bragagnolo FS, Carneiro RL, de Oliveira Carvalho Pereira I, Ribeiro JAA, Martins C, Jelley RE, Fedrizzi B, Funari CS. Metabolite characterization of fifteen by-products of the coffee production chain: from farm to factory. *Food Chemistry* (2021) 130753. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2021.130753
4. Suárez Montenegro ZJ, Álvarez-Rivera G, Mendiola JA, Ibáñez E, Cifuentes A. Extraction and Mass Spectrometric Characterization of Terpenes Recovered from Olive Leaves Using a New Adsorbent-Assisted Supercritical CO₂ Process. *Foods* 2021, Vol 10, Page 1301 (2021) 10:1301. doi: 10.3390/FOODS10061301
5. Bragagnolo FS, Funari CS, Ibáñez E, Cifuentes A. Metabolomics as a Tool to Study Underused Soy Parts: In Search of Bioactive Compounds. *Foods* 2021, Vol 10, Page 1308 (2021) 10:1308. doi: 10.3390/FOODS10061308
6. Choi YR, Shim J, Kim MJ. Genistin: A Novel Potent Anti-Adipogenic and Anti-Lipogenic Agent. *Molecules* 2020, Vol 25, Page 2042 (2020) 25:2042. doi: 10.3390/MOLECULES25092042
7. Hwang ST, Yang MH, Baek SH, Um JY, Ahn KS. Genistin attenuates cellular growth and promotes apoptotic cell death breast cancer cells through modulation of ERalpha signaling pathway. *Life Sciences* (2020) 263:118594. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118594
8. Xu Y, Li X, Wang H. Protective Roles of Apigenin Against Cardiometabolic Diseases: A Systematic Review. *Frontiers in Nutrition* (2022) 0:644. doi: 10.3389/FNUT.2022.875826

9. Schnarr L, Segatto ML, Olsson O, Zuin VG, Kümmerer K. Flavonoids as biopesticides – Systematic assessment of sources, structures, activities and environmental fate. *Science of The Total Environment* (2022) 824:153781. doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2022.153781
10. Carneiro AM, Moreira EA, Bragagnolo FS, Borges MS, Pilon AC, Rinaldo D, Funari CS. Soya agricultural waste as a rich source of isoflavones. *Food Research International* (2020) 130: doi: 10.1016/j.foodres.2019.108949
11. Bragagnolo FS, Álvarez-Rivera G, Breitzkreitz MC, Ibáñez E, Cifuentes A, Funari CS. Metabolite Profiling of Soy By-Products: A Comprehensive Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2022) 70:7321–7341. doi: 10.1021/ACS.JAFC.2C01050
12. Oilseeds: World Markets and trade | USDA Foreign Agricultural Service. <https://www.fas.usda.gov/data/oilseeds-world-markets-and-trade> [Accessed May 15, 2022]
13. Potrich E, Miyoshi SC, Machado PFS, Furlan FF, Ribeiro MPA, Tardioli PW, Giordano RLC, Cruz AJG, Giordano RC. Replacing hexane by ethanol for soybean oil extraction: Modeling, simulation, and techno-economic-environmental analysis. *Journal of Cleaner Production* (2020) 244:118660. doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2019.118660
14. Jokić S, Nagy B, Zeković Z, Vidović S, Bilić M, Velić D, Simándi B. Effects of supercritical CO₂ extraction parameters on soybean oil yield. *Food and Bioproducts Processing* (2012) 90:693–699. doi: 10.1016/J.FBP.2012.03.003
15. Claux O, Rapinel V, Goupy P, Patouillard N, Vian MA, Jacques L, Chemat F. Dry and Aqueous 2-Methyloxolane as Green Solvents for Simultaneous Production of Soybean Oil and Defatted Meal. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* (2021) 9:7211–7223. doi: 10.1021/ACSSUSCHEMENG.0C09252
16. Sánchez-Camargo A del P, Bueno M, Parada-Alfonso F, Cifuentes A, Ibáñez E. Hansen solubility parameters for selection of green extraction solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* (2019) 118:227–237. doi: 10.1016/J.TRAC.2019.05.046
17. UN DP. Goal 12: Responsible consumption and production. United Nations Development Programme (2016) <http://www.undp.org/content/undp/en/home/sustainable-development-goals/goal-12-responsible-consumption-and-production.html>
18. Choi YH, van Spronsen J, Dai Y, Verberne M, Hollmann F, Arends IWCE, Witkamp GJ, Verpoorte R. Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology? *Plant Physiology* (2011) 156:1701–1705. doi: 10.1104/PP.111.178426
19. Duru KC, Slesarev GP, Aboushanab SA, Kovalev IS, Zeidler DM, Kovaleva EG, Bhat R. An eco-friendly approach to enhance the extraction and recovery efficiency of isoflavones from kudzu roots

and soy molasses wastes using ultrasound-assisted extraction with natural deep eutectic solvents (NADES). *Industrial Crops and Products* (2022) 182:114886. doi: 10.1016/J.INDCROP.2022.114886

20. Alvarez-Rivera G, Bueno M, Ballesteros-Vivas D, Mendiola JA, Ibáñez E. “Pressurized liquid extraction.” In: Poole CF, editor. *Liquid-Phase Extraction. Handbooks in Separation Science*. Elsevier (2019). p. 375–398 doi: 10.1016/B978-0-12-816911-7.00013-X

21. Loarce L, Oliver-Simancas R, Marchante L, Díaz-Maroto MC, Alañón ME. Implementation of subcritical water extraction with natural deep eutectic solvents for sustainable extraction of phenolic compounds from winemaking by-products. *Food Research International* (2020) 137:109728. doi: 10.1016/J.FOODRES.2020.109728

22. Loarce L, Oliver-Simancas R, Marchante L, Díaz-Maroto MC, Alañón ME. Modifiers based on natural deep eutectic mixtures to enhance anthocyanins isolation from grape pomace by pressurized hot water extraction. *LWT* (2021) 149:111889. doi: 10.1016/J.LWT.2021.111889

23. Benvenuti L, Zielinski AAF, Ferreira SRS. Pressurized aqueous solutions of deep eutectic solvent (DES): A green emergent extraction of anthocyanins from a Brazilian berry processing by-product. *Food Chemistry: X* (2022) 13:100236. doi: 10.1016/J.FOCHX.2022.100236

24. Herrero M, Mendiola JA, Ibáñez E. Gas expanded liquids and switchable solvents. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* (2017) 5:24–30. doi: 10.1016/J.COGSC.2017.03.008

25. Prat D, Wells A, Hayler J, Sneddon H, McElroy CR, Abou-Shehadeh S, Dunn PJ. CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents. *Green Chemistry* (2015) 18:288–296. doi: 10.1039/c5gc01008j

26. Nowak PM, Wietecha-Posłuszny R, Pawliszyn J. White Analytical Chemistry: An approach to reconcile the principles of Green Analytical Chemistry and functionality. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* (2021) 138:116223. doi: 10.1016/J.TRAC.2021.116223

27. del Pilar Sánchez-Camargo A, Pleite N, Herrero M, Cifuentes A, Ibáñez E, Gilbert-López B. New approaches for the selective extraction of bioactive compounds employing bio-based solvents and pressurized green processes. *The Journal of Supercritical Fluids* (2017) 128:112–120. doi: 10.1016/J.SUPFLU.2017.05.016

28. van Osch DJGPGP, Dietz CHJTJT, van Spronsen J, Kroon MC, Gallucci F, van Sint Annaland M, Tuinier R, Van M, Annaland S, Tuinier R. A Search for Natural Hydrophobic Deep Eutectic Solvents Based on Natural Components. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* (2019) 7:2933–2942. doi: 10.1021/acssuschemeng.8b03520

29. Florindo C, Romero L, Rintoul I, Branco LC, Marrucho IM. From Phase Change Materials to Green Solvents: Hydrophobic Low Viscous Fatty Acid-Based Deep Eutectic Solvents. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* (2018) 6:3888–3895. doi: 10.1021/acssuschemeng.7b04235
30. Ribeiro BD, Florindo C, Iff LC, Coelho MAZ, Marrucho IM. Menthol-based eutectic mixtures: Hydrophobic low viscosity solvents. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* (2015) 3:2469–2477. doi: 10.1021/acssuschemeng.5b00532
31. Morelli DC, Bernardi G, Morés L, Pierri ME, Carasek E. A green - high throughput –extraction method based on hydrophobic natural deep eutectic solvent for the determination of emerging contaminants in water by high performance liquid chromatography – diode array detection. *Journal of Chromatography A* (2020) 1626:461377. doi: 10.1016/j.chroma.2020.461377
32. Ye X, Ye B, Xu J, Fang M, Dong D, Wu C, Lin X, Hu Y, Cao X, Mo W. A modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method with hydrophobic natural deep eutectic solvent as extractant and analyte protectant for analyzing pyrethroid residues in tomatoes. *Journal of Separation Science* (2020) 43:3546–3554. doi: 10.1002/jssc.202000547
33. Nia NN, Hadjmohammadi MR. Amino acids- based hydrophobic natural deep eutectic solvents as a green acceptor phase in two-phase hollow fiber-liquid microextraction for the determination of caffeic acid in coffee, green tea, and tomato samples. *Microchemical Journal* (2021) 164:106021. doi: 10.1016/j.microc.2021.106021
34. Haider MB, Dwivedi M, Jha D, Kumar R, Marriyappan Sivagnanam B. Azeotropic separation of isopropanol-water using natural hydrophobic deep eutectic solvents. *Journal of Environmental Chemical Engineering* (2021) 9:104786. doi: 10.1016/j.jece.2020.104786
35. Sereshti H, Semnani Jazani S, Nouri N, Shams G. Dispersive liquid–liquid microextraction based on hydrophobic deep eutectic solvents: Application for tetracyclines monitoring in milk. *Microchemical Journal* (2020) 158:105269. doi: 10.1016/j.microc.2020.105269
36. Sas OG, Castro M, Domínguez Á, González B. Removing phenolic pollutants using Deep Eutectic Solvents. *Separation and Purification Technology* (2019) 227:115703. doi: 10.1016/j.seppur.2019.115703
37. Hansen FA, Santigosa-Murillo E, Ramos-Payán M, Muñoz M, Leere Øiestad E, Pedersen-Bjergaard S. Electromembrane extraction using deep eutectic solvents as the liquid membrane. *Analytica Chimica Acta* (2021) 1143:109–116. doi: 10.1016/j.aca.2020.11.044
38. Florindo C, Branco LC, Marrucho IM. Development of hydrophobic deep eutectic solvents for extraction of pesticides from aqueous environments. *Fluid Phase Equilibria* (2017) 448:135–142. doi: 10.1016/j.fluid.2017.04.002

39. Fan Y, Wu H, Cai D, Yang T, Yang L. Effective extraction of harmine by menthol/anise alcohol-based natural deep eutectic solvents. *Separation and Purification Technology* (2020) 250:117211. doi: 10.1016/j.seppur.2020.117211
40. Li Y, Li X, Tang S, Yang Y. Emulsification liquid–liquid micro-extraction based on natural deep eutectic solvent for (triarylmethane) dyes determination. *Chemical Papers* (2020) 74:3617–3626. doi: 10.1007/s11696-020-01184-4
41. Lo C, Semerel J, van den Berg C, Wijffels RH, Eppink MHM. Eutectic solvents with tuneable hydrophobicity: lipid dissolution and recovery. *RSC Advances* (2021) 11:8142–8149. doi: 10.1039/d1ra00306b
42. Majidi SM, Hadjmohammadi MR. Hydrophobic borneol-based natural deep eutectic solvents as a green extraction media for air-assisted liquid-liquid micro-extraction of warfarin in biological samples. *Journal of Chromatography A* (2020) 1621:461030. doi: 10.1016/j.chroma.2020.461030
43. Ortega-Zamora C, González-Sálamo J, González-Sálamo J, Hernández-Sánchez C, Hernández-Sánchez C, Hernández-Borges J, Hernández-Borges J. Menthol-Based Deep Eutectic Solvent Dispersive Liquid-Liquid Microextraction: A Simple and Quick Approach for the Analysis of Phthalic Acid Esters from Water and Beverage Samples. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* (2020) 8:8783–8794. doi: 10.1021/acssuschemeng.0c02603
44. Santana-Mayor Á, Socas-Rodríguez B, Rodríguez-Ramos R, Herrera-Herrera A v., Rodríguez-Delgado MÁ. Quality assessment of environmental water by a simple and fast non-ionic hydrophobic natural deep eutectic solvent-based extraction procedure combined with liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of plastic migrants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2021) 413:1967–1981. doi: 10.1007/s00216-021-03166-1
45. Rodrigues LA, Pereira C v., Leonardo IC, Fernández N, Gaspar FB, Silva JM, Reis RL, Duarte ARC, Paiva A, Matias AA. Terpene-Based Natural Deep Eutectic Systems as Efficient Solvents to Recover Astaxanthin from Brown Crab Shell Residues. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* (2020) 8:2246–2259. doi: 10.1021/acssuschemeng.9b06283
46. Fernandes CC, Haghbakhsh R, Marques R, Paiva A, Carlyle L, Duarte ARC. Evaluation of Deep Eutectic Systems as an Alternative to Solvents in Painting Conservation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* (2021) 9:15451–15460. doi: 10.1021/ACSSUSCHEMENG.1C04591
47. Tang N, Zhong J, Yan W. Solubilities of three flavonoids in different natural deep eutectic solvents at T = (288.15 to 328.15) K. *Journal of Chemical and Engineering Data* (2016) 61:4203–4208. doi: 10.1021/acs.jced.6b00552

48. Bajkacz S, Adamek J. Evaluation of new natural deep eutectic solvents for the extraction of isoflavones from soy products. *Talanta* (2017) 168:329–335. doi: 10.1016/J.TALANTA.2017.02.065
49. Reyes FA, Mendiola JA, Ibañez E, del Valle JM. Astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis* using CO₂-expanded ethanol. *The Journal of Supercritical Fluids* (2014) 92:75–83. doi: 10.1016/J.SUPFLU.2014.05.013
50. Koşar M, Dorman HJD, Hiltunen R. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chemistry* (2005) 91:525–533. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2004.06.029
51. Woisky RG, Salatino A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. <http://dx.doi.org/101080/00218839199811100961> (2015) 37:99–105. doi: 10.1080/00218839.1998.11100961
52. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2001) 49:4619–4626. doi: 10.1021/JF010586O
53. Ninfali P, Mea G, Giorgini S, Rocchi M, Bacchiocca M. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition* (2005) 93:257–266. doi: 10.1079/BJN20041327
54. Wang M, Carver JJ, Phelan V v., Sanchez LM, Garg N, Peng Y, Nguyen DD, Watrous J, Kapon CA, Luzzatto-Knaan T, et al. Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature Biotechnology* (2016) 34: doi: 10.1038/nbt.3597
55. Katajamaa M, Miettinen J, Orešič M. MZmine: Toolbox for processing and visualization of mass spectrometry based molecular profile data. *Bioinformatics* (2006) 22: doi: 10.1093/bioinformatics/btk039
56. Pluskal T, Castillo S, Villar-Briones A, Orešič M. MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. *BMC Bioinformatics* (2010) 11:1–11. doi: 10.1186/1471-2105-11-395/TABLES/3
57. Registration Dossier - ECHA. <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/10569/7/3/2> [Accessed November 24, 2021]
58. Registration Dossier - ECHA. <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13231/7/3/2> [Accessed November 24, 2021]
59. Registration Dossier - ECHA. <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13758/7/3/4> [Accessed November 24, 2021]

60. Registration Dossier - ECHA. <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/11030/7/3/4> [Accessed November 24, 2021]
61. Gasparetto H, de Castilhos F, Paula Gonçalves Salau N. Recent advances in green soybean oil extraction: A review. *Journal of Molecular Liquids* (2022) 361:119684. doi: 10.1016/J.MOLLIQ.2022.119684
62. Dagostin JLA, Carpiné D, Corazza ML. Extraction of soybean oil using ethanol and mixtures with alkyl esters (biodiesel) as co-solvent: Kinetics and thermodynamics. *Industrial Crops and Products* (2015) 74:69–75. doi: 10.1016/J.INDCROP.2015.04.054
63. Dagostin JLA, Carpiné D, dos Santos PRS, Corazza ML. LIQUID-LIQUID EQUILIBRIUM AND KINETICS OF ETHANOLIC EXTRACTION OF SOYBEAN OIL USING ETHYL ACETATE AS CO-SOLVENT. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* (2018) 35:415–428. doi: 10.1590/0104-6632.20180352S20160175
64. Bertouche S, Tomao V, Hellal A, Boutekedjiret C, Chemat F. First approach on edible oil determination in oilseeds products using alpha-pinene. <http://dx.doi.org/101080/104129052013782473> (2013) 25:439–443. doi: 10.1080/10412905.2013.782473
65. Sicaire AG, Vian M, Fine F, Joffre F, Carré P, Tostain S, Chemat F. Alternative Bio-Based Solvents for Extraction of Fat and Oils: Solubility Prediction, Global Yield, Extraction Kinetics, Chemical Composition and Cost of Manufacturing. *International Journal of Molecular Sciences* 2015, Vol 16, Pages 8430-8453 (2015) 16:8430–8453. doi: 10.3390/IJMS16048430
66. Sicaire AG, Abert Vian M, Fine F, Carré P, Tostain S, Chemat F. Experimental approach versus COSMO-RS assisted solvent screening for predicting the solubility of rapeseed oil. *OCL* (2015) 22:D404. doi: 10.1051/OCL/2015010
67. Cascant MM, Breil C, Garrigues S, de la Guardia M, Fabiano-Tixier AS, Chemat F. A green analytical chemistry approach for lipid extraction: computation methods in the selection of green solvents as alternative to hexane. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2017) 409:3527–3539. doi: 10.1007/S00216-017-0323-9/FIGURES/7
68. Aboushanab SA, Shevyrin VA, Slesarev GP, Melekhin V v., Shcheglova A v., Makeev OG, Kovaleva EG, Kim KH. Antioxidant and Cytotoxic Activities of Kudzu Roots and Soy Molasses against Pediatric Tumors and Phytochemical Analysis of Isoflavones Using HPLC-DAD-ESI-HRMS. *Plants* 2022, Vol 11, Page 741 (2022) 11:741. doi: 10.3390/PLANTS11060741
69. Rachmaniah O, Wilson EG, Choi YH, Witkamp G-J, Verpoorte R. Pressurized Natural Deep Eutectic Solvent Extraction of Galanthamine and Related Alkaloids from *Narcissus pseudonarcissus*. *Planta Medica* (2022) doi: 10.1055/A-1803-3259

70. Cabezudo I, Meini MR, di Ponte CC, Melnichuk N, Boschetti CE, Romanini D. Soybean (*Glycine max*) hull valorization through the extraction of polyphenols by green alternative methods. *Food Chemistry* (2021) 338:128131. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128131
71. Gupta S, Chen WN. A metabolomics approach to evaluate post-fermentation enhancement of daidzein and genistein in a green okara extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (2021) n/a:jsfa.11158. doi: 10.1002/jsfa.11158
72. Dorta E, Rodríguez-Rodríguez EM, Jiménez-Quezada A, Fuentes-Lemus E, Speisky H, Lissi E, López-Alarcón C. Use of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay to Predict the Capacity of Mango (*Mangifera indica* L.) By-Products to Inhibit Meat Protein Oxidation. *Food Analytical Methods* (2017) 10:330–338. doi: 10.1007/S12161-016-0584-5/FIGURES/4
73. Bragagnolo FS, Álvarez-Rivera G, Breitreitz MC, Ibáñez E, Cifuentes A, Funari CS. Metabolite Profiling of Soy By-Products: A Comprehensive Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2022) 70:35. doi: 10.1021/ACS.JAFC.2C01050/SUPPL_FILE/JF2C01050_SI_001.PDF
74. Li B, Hu Y, Wu T, Feng Y, Jiang C, Du H, Lu S. Apigenin-oxymatrine binary co-amorphous mixture: Enhanced solubility, bioavailability, and anti-inflammatory effect. *Food Chemistry* (2022) 373: doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2021.131485
75. Jheng HF, Hayashi K, Matsumura Y, Kawada T, Seno S, Matsuda H, Inoue K, Nomura W, Takahashi H, Goto T. Anti-Inflammatory and Antioxidative Properties of Isoflavones Provide Renal Protective Effects Distinct from Those of Dietary Soy Proteins against Diabetic Nephropathy. *Molecular Nutrition & Food Research* (2020) 64:2000015. doi: 10.1002/MNFR.202000015
76. Ji X, Liu K, Li Q, Shen Q, Han F, Ye Q, Zheng C. A Mini-Review of Flavone Isomers Apigenin and Genistein in Prostate Cancer Treatment. *Frontiers in Pharmacology* (2022) 13:269. doi: 10.3389/FPHAR.2022.851589/BIBTEX
77. Harlow BE, Flythe MD, Kagan IA, Goodman JP, Klotz JL, Aiken GE. Isoflavone supplementation, via red clover hay, alters the rumen microbial community and promotes weight gain of steers grazing mixed grass pastures. *PLOS ONE* (2020) 15:e0229200. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0229200
78. Yang Z, Tan X, Zhang Z, Han J, Qu S, Liu T, Wang G. Ononin: A candidate anti-parasitic drug isolated from *Spatholobi caulis* against infections of *Dactylogyrus intermedius* (Monogenea). *Parasitology International* (2022) 88:102535. doi: 10.1016/J.PARINT.2021.102535
79. Rostagno MA, Palma M, Barroso CG. Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans. *Analytica Chimica Acta* (2004) 522:169–177. doi: 10.1016/J.ACA.2004.05.078

80. Mišan A, Nađpal J, Stupar A, Pojić M, Mandić A, Verpoorte R, Choi YH. The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector. <https://doi.org/10.1080/1040839820191650717> (2019) 60:2564–2592. doi: 10.1080/10408398.2019.1650717

PERSPECTIVAS FUTURAS E CONCLUSÃO

A finalização deste trabalho será realizada por meio da extração seletiva de dois compostos bioativos presentes nos subprodutos agrícolas da soja, a genisteína e apigenina. Por meio do uso de duas ferramentas *in silico*, Hansen solubility parameters (HSP) e Conductor-like Screening MOdel for Real Solvents (COSMO-RS), selecionará solventes orgânicos e solventes eutéticos naturais profundos (NADES) com maior capacidade de solubilizar os metabólitos alvos citados anteriormente. Adicionalmente, as variáveis referentes ao processo de extração serão otimizadas pelo uso do planejamento experimental (DoE), e os solventes/condição com maior rendimento serão aplicados a extração individual dos subprodutos da soja, a fim de quantificar a concentração de ambos os metabólitos nos galhos, folhas, vagens, raízes, e comparar aos grãos.

Concluindo, este trabalho englobou uma análise abrangente acerca da composição química dos subprodutos agrícolas da colheita da soja. Por meio de abordagens metabolômicas e aplicando conceitos da Química Verde, esta tese aborda a presença de metabólitos de alto valor agregado e demonstra a potencialidade do uso de tais resíduos. Empregando conceitos de biorefinaria e economia circular, galhos, folhas, vagens e raízes de soja, que são deixados no solo no pós-colheita, podem ser fontes ser utilizados como fontes abundantes de compostos bioativos, possibilitando, assim, a criação de novas cadeias produtivas empregando estes materiais.

ANEXOS

MATERIAL SUPLEMENTAR - CAPÍTULO I

Table S1. Metabolites identified in soy roots

Reference	Name ^a	Traditional name ^b	Class ^c	Subclass ^c
7	(2R)-2-amino-3-phosphonopropanoic acid	alanine, 3-phosphono-	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	1,3-cyclohexanedione	1,3 cyclohexanedione	Organooxygen compounds	Carbonyl compounds
7	1,5-anhydroglucitol	1,5-anhydroglucitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	1-methyladenosine	1-methyladenosine	Purine nucleosides	
7	2,3-dihydroxybenzoic acid	2,3-dihydroxy-benzoic acid	Benzene and substituted derivatives	Benzoic acids and derivatives
7	2,3-dihydropyridine	2,3-dihydropyridine	Pyridines and derivatives	Hydropyridines
2	2,4,6-Trihydroxy-2-[(4-hydroxyphenyl)methyl]-1-benzofuran-3-one	maesopsin	Aurone flavonoids	Auronols
7	2,4-diaminobutyric acid	2,4-diaminobutyric acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	2,6-diaminopimelic acid	2,6-diaminopimelic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	21-hydroxypregnenolone	21-hydroxypregnenolone	Steroids and steroid derivatives	Hydroxysteroids
7	2-amino-1-phenylethanol	β phenylethanolamine	Organonitrogen compounds	Amines

7	2-butyne-1,-diol	butynediol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
7	2-deoxy-D-galactose	2-deoxy-D-galactose	Fatty Acyls	Fatty alcohols
7	2-deoxy-D-glucose	deoxyglucose	Fatty Acyls	Fatty alcohols
7	2-deoxyerythritol	(2R)-1,2,4-butanetriol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
7	2'-deoxyguanosine	2-deoxyguanosine	Purine nucleosides	Purine 2'-deoxyribonucleosides
7	2-hydroxy-3-isopropylbutanedioic acid	3-isopropylmalic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	2-hydroxybutanoic acid	α -hydroxybutyric acid	Hydroxy acids and derivatives	Alpha hydroxy acids and derivatives
7	2-hydroxypyridine	2-hydroxypyridine	Pyridines and derivatives	Hydropyridines
7	2-hydroxyvaleric acid	pentanoic acid, 2-hydroxy-	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	2-keto-L-gulonic acid	2-keto-L-gulonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	2-monoolein	2-oleoylglycerol	Glycerolipids	Monoradylglycerols
7	2-monopalmitin	glyceryl 2-palmitate	Glycerolipids	Monoradylglycerols
7	3,6-anhydro-D-galactose	3,6-anhydrogalactose	Tetrahydrofurans	
7	3,7,12-trihydroxycoprostan	3,7,12-trihydroxycoprostan	Steroids and steroid derivatives	Cholestane steroids
7	3-aminoisobutyric acid	(+)- β -aminoisobutyric acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	3-aminopropionitrile	β aminopropionitrile	Organonitrogen compounds	Organic cyanides

7	3-cyanoalanine	3-cyanoalanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3,7	3-hydroxybutyric acid	3 hydroxybutyrate	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives
7	3-hydroxynorvaline	3-hydroxynorvaline	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	3-hydroxypropionic acid	3-hydroxy-propanoic acid	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives
7	3-methyloxindole	3-methyloxindole	Indoles and derivatives	Indolines
7	4-acetamidobutyric acid	4-acetamidobutyrate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	4-acetylbutyric acid	5-oxohexanoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	4-aminophenol	aminophenol	Benzene and substituted derivatives	Aniline and substituted anilines
7	4-androsten-11 beta-ol-3,17-dione	11 β -hydroxyandrostenedione	Steroids and steroid derivatives	Androstane steroids
7	4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid	vanillic acid	Benzene and substituted derivatives	Benzoic acids and derivatives
3,7	4-hydroxybutyrate	gamma-hydroxybutyrate	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3,7	4-hydroxycinnamic acid	hydroxycinnamic acid	Cinnamic acids and derivatives	Hydroxycinnamic acids and derivatives
7	4-hydroxypyridine	4-hydroxypyridine	Pyridines and derivatives	Hydropyridines
7	4-hydroxyquinazoline	4-quinazolinol	Diazanaphthalenes	Benzodiazines

7	4-methylbenzyl alcohol	4-methylbenzyl alcohol	Benzene and substituted derivatives	Benzyl alcohols
7	5,6-dihydrouracil	dihydrouracil	Diazines	Pyrimidines and pyrimidine derivatives
7	5,6-dimethylbenzimidazole	5,6-dimethylbenzimidazole	Benzimidazoles	
7	5-aminovaleric acid	5-aminovaleric acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	5-dihydrocortisol	5 α -tetrahydrocortisol	Steroids and steroid derivatives	Hydroxysteroids
7	5-dihydrocortisone	dihydrocortisone	Steroids and steroid derivatives	Hydroxysteroids
2	5-Hydroxy-6,8-dimethoxy-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-2-one	5-hydroxy-6,8-dimethoxy-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}chromen-2-one	Coumarins and derivatives	Coumarin glycosides
7	5-hydroxyindole-3-acetic acid	hydroxyindoleacetic acid	Indoles and derivatives	Indolyl carboxylic acids and derivatives
7	5-methoxytryptamine	5 methoxytryptamine	Indoles and derivatives	Tryptamines and derivatives
7	6-deoxy-D-glucose	L-rhamnose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates

7	6-hydroxy caproic acid dimer	6-hydroxyhexanoic acid	Hydroxy acids and derivatives	Medium-chain hydroxy acids and derivatives
1,2,4,6	6-O-Malonyldaidzin	malonyldaidzin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
2,4,6	6-O-Malonylgenistin	malonylgenistin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
7	6-phosphogluconic acid	6-phosphogluconic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
2	7,3',4'-Trihydroxyisoflavone	3',4',7-trihydroxyisoflavone	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
7	7,8-dimethylalloxazine	7,8-dimethylalloxazine	Pteridines and derivatives	Alloxazines and isomalloxazines
7	abietic acid	abietic acid	Prenol lipids	Diterpenoids
1	Acetate	acetate	Carboxylic acids and derivatives	Carboxylic acids
7	acetol	acetone alcohol	Organooxygen compounds	Carbonyl compounds
7	aconitic acid	aconitic acid	Carboxylic acids and derivatives	Tricarboxylic acids and derivatives
7	Adenine	adenine	Imidazopyrimidines	Purines and purine derivatives
7	adenosine-monophosphate	adenosine monophosphate	Purine nucleotides	Purine ribonucleotides
1,3,7	Alanine	L-alanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	allantoic acid	allantoic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	allantoin	allantoin	Azoles	Imidazoles

7	allylmalonic acid	2-allyl-malonic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	alpha-aminoadipic acid	aminoadipic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	alpha-D-glucosamine-phosphate	[(2R,3S,4R,5R,6S)-5-ammonio-3,4,6-trihydroxyoxan-2-yl]methyl phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	alpha-ecdysone	α -ecdysone	Steroids and steroid derivatives	Bile acids, alcohols and derivatives
7	alpha-santonin	santonin	Prenol lipids	Terpene lactones
7	aminomalonic acid	2-aminopropanedioic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	androstanediol	androstanediol	Steroids and steroid derivatives	Androstane steroids
7	androsterone	androsterone	Steroids and steroid derivatives	Androstane steroids
7	arbutin	arbutin	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	ascorbate	ascorbate	Dihydrofurans	Furanones
1,3,7	Asparagine	L-asparagine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Aspartic acid	aspartic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3,7	Benzoic acid	benzoic acid	Benzene and substituted derivatives	Benzoic acids and derivatives

7	benzoylformic acid	benzoylformic acid	Benzene and substituted derivatives	Benzoyl derivatives
7	beta-mannosylglycerate	(2R)-3-hydroxy-2- {[(2R,3S,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}propanoic acid	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
7	biotin	biotin	Biotin and derivatives	
7	bis(2-hydroxypropyl)amine	diisopropanolamine	Organonitrogen compounds	Amines
7	canavanine	canavanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	carbamoyl-aspartic acid	carbamylaspartic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	carbobenzyloxy-L-leucine	carbobenzoxy-L-leucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	cellobiose	cellobiose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	cellobiotol	(2S,3R,4R,5R)-4- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}hexane-1,2,3,5,6-pentol	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
7	cerotinic acid	heptacosanoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	chlorogenic acid	chlorogenic acid	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
7	cholecalciferol	cholecalciferol	Steroids and steroid derivatives	Vitamin D and derivatives
1	Choline	choline	Organonitrogen compounds	Quaternary ammonium salts

7	cis-1,2-dihydronaphthalene-1,2-diol	(1R,2S)-1,2-dihydronaphthalene-1,2-diol	Naphthalenes	
7	cis-gondoic acid	cis-11-eicosenoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	citramalic acid	citramalate, (+-)-	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
1,3	Citric acid	citric acid	Carboxylic acids and derivatives	Tricarboxylic acids and derivatives
7	conduritol b epoxide	conduritol b epoxide	Oxepanes	
2	Coumaric acid	para-coumaric acid	Cinnamic acids and derivatives	Hydroxycinnamic acids and derivatives
2	Coumaroyl-aspartic acid	N-coumaroyl-L-aspartic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
2,4	Coumestrol	coumestrol	Isoflavonoids	Coumestans
7	creatine	creatine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	cystine	cystine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	cytidine	cytidine	Pyrimidine nucleosides	
7	cytidine-monophosphate	poly C	Pyrimidine nucleotides	Pyrimidine ribonucleotides
7	cytosin	cytosine	Diazines	Pyrimidines and pyrimidine derivatives
1,2,3,4,5,6	Daidzein	daidzein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
1,2,4,6	Daidzin	daidzin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides

7	D-arabitol	adonitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	D-erythro-sphingosine	sphingosine	Organonitrogen compounds	Amines
7	D-galacturonic acid	D-galacturonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	d-glucoheptose	(2R,3R,4S,5R,6R)-2,3,4,5,6,7-hexahydroxyheptanal	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	D-glyceric acid	D-glyceric acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	D-glycerol-1-phosphate	α -glycerophosphate	Glycerophospholipids	Glycerophosphates
7	digitoxose	digitoxose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	diglycerol	α,α' -diglycerol	Glycerolipids	Monoradylglycerols
7	DL-dihydrosphingosine	2-aminooctadecane-1,3-diol	Organonitrogen compounds	Amines
7	D-talose	talose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	elaidic acid	(+)-propylene glycol	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	estriol	estriol	Steroids and steroid derivatives	Estrane steroids
1	Ethanol	ethyl alcohol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3,7	Ethanolamine	ethanolamine	Organonitrogen compounds	Amines

7	ferulic acid	ferulic acid	Cinnamic acids and derivatives	Hydroxycinnamic acids and derivatives
1	formic acid	formic acid	Carboxylic acids and derivatives	Carboxylic acids
2	Formononetin-7-O-glucoside	ononin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
2	Formononetin-7-O-glucoside- 6-O-malonate	3-oxo-3- {[(2R,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6- {[3-(4-methoxyphenyl)-4-oxochromen-7-yl]oxy} oxan-2-yl]methoxy} propanoic acid	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
1,7	Fructose	fructose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	fructose,6-biphosphate	fructose-2,6-diphosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Fructose-6-phosphate	fructose-6-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	fucose	fucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Fumaric acid	fumaric acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
1,3,7	GABA	gamma(amino)-butyric acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3,7	Galactinol	(1S,2R,3S,4S,5S,6R)-6- {[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} cyclohexane-1,2,3,4,5-pentol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Galactonic acid	galactonic acid	Hydroxy acids and derivatives	Medium-chain hydroxy acids and derivatives

3,7	Galactose	galactose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
2,6	Genistein	genistein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
2,4,6	Genistin	genistin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
7	gentiobiose	gentiobiose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	glucoheptonic acid	glucoheptonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Gluconic acid	gluconic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Gluconic lactone	gluconolactone	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	glucosaminic acid	glucosaminic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Glucose	glucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Glucose-1-phosphate	glucose-1-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Glucose-6-phosphate	glucose-6-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	glucuronic acid	D-glucuronic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates

1,3	Glutamic acid	L-glutamic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	glutamine	L-glutamine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	glutaraldehyde	glutaraldehyde	Organooxygen compounds	Carbonyl compounds
7	glutaric acid	glutaric acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
7	glutathione	glutathione	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
1,3,7	Glycine	glycine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
6	glycitein	glycitein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
2,6	Glycitin	glycitin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
7	glycocyanine	glycocyanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3,7	Glycolic acid	glycolic acid	Hydroxy acids and derivatives	Alpha hydroxy acids and derivatives
7	gly-pro	gly-pro	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	guanine	guanine	Imidazopyrimidines	Purines and purine derivatives
7	guanosine	guanosine	Purine nucleosides	
7	heptadecanoic acid	heptadecanoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates

7	histidine	L-histidine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	hydantoin	hydantoin	Azoles	Imidazoles
7	hydrocortisone	hydrocortisone	Steroids and steroid derivatives	Hydroxysteroids
1	Hydroxyisobutyrate	acetone	Hydroxy acids and derivatives	Alpha hydroxy acids and derivatives
7	hydroxyurea	hydroxyurea	Carboximide acids and derivatives	
7	iminodiacetic acid	iminodiacetic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	indole-3-acetamide	2-(1H-indol-3-yl)acetamide	Indoles and derivatives	Indoles
7	indolelactate	indole-3-lactic acid	Indoles and derivatives	Indolyl carboxylic acids and derivatives
7	isocitric acid	isocitric acid	Carboxylic acids and derivatives	Tricarboxylic acids and derivatives
3,7	Isoleucine	L-isoleucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	isomaltose	isomaltose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Itaconic acid	itaconic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
1	Lactate	lactate	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
7	lactic acid	lactic acid	Hydroxy acids and derivatives	Alpha hydroxy acids and derivatives

7	lactobionic acid	lactobionic acid	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
3,7	Lactose	lactose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	Lactulose	lactulose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	L-allothreonine	L-allothreonine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	L-cysteine	L-cysteine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	leucine	leucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	levoglucosan	levoglucosan	Oxepanes	
7	L-gulonolactone	L-gulonolactone	Lactones	Gamma butyrolactones
7	L-homoserine	L-homoserine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	lignoceric acid	lignoceric acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	linoleic acid	linoleic	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
7	linoleic acid methyl ester	methyl linoleate	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
7	linolenic acid	α -linolenic acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
3,7	L-malic acid	(-)-malic acid	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives

7	loganin	loganin	Prenol lipids	Terpene glycosides
7	L-threose	L-threose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1,7	Lysine	L-lysine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	maleamate	maleamate	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3	Maleic acid	maleic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
7	maleimide	maleimide	Pyrrolidines	Pyrrolidones
1	Malic acid	malic acid	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives
7	malonic acid	malonic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
6	malonylglycitin	malonylglycitin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
3,7	Maltose	maltose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	mannitol	mannitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Mannose	(+)-mannose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Melibiose	melibiose	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
3,7	Methyl palmitoleate	methyl palmitoleate	Fatty Acyls	Fatty acid esters
7	methyl phosphate	methyl phosphate	Organic phosphoric acids and derivatives	Phosphate esters
7	methyl yellow	dimethylaminoazobenzene	Azobenzenes	

7	monoolein	oleoyl glycerol	Glycerolipids	Monoradylglycerols
3,7	Monopalmitin	glyceryl palmitate	Glycerolipids	Monoradylglycerols
7	monostearin	glyceryl stearate	Glycerolipids	Monoradylglycerols
3,7	Mucic acid	mucin	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1,3,7	Myo-inositol	(-)-inositol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
7	myristic acid	myristic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	N,N-dimethylarginine	N,N-dimethylarginine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	N-acetyl-5-hydroxytryptamine	N-acetylserotonin	Indoles and derivatives	Hydroxyindoles
7	N-acetyl-beta-D-mannosamine	N-acetylmannosamine	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	N-acetyl-D-galactosamine	GalNAc	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	N-acetyltryptophan	N-acetyltryptophan	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	N-alpha-acetyl-L-ornithine	N-acetylornithine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	naringenin	naringenin	Flavonoids	Flavans
3	Naringin	naringin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
7	N-carbamylglutamate	N-carbamylglutamate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

2	Neobavaisoflavone	neobavaisoflavone	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
3,7	Neohesperidin	neohesperidin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
7	N-epsilon-acetyl-L-lysine	N6-acetyllysine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	N-ethylglycine	N-ethylglycine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	nicotinamide	nicotinamide	Pyridines and derivatives	Pyridinecarboxylic acids and derivatives
3	Nicotinic acid	niacin	Pyridines and derivatives	Pyridinecarboxylic acids and derivatives
7	N-methyl-DL-alanine	N-methyl-D-alanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	noradrenaline	noradrenaline	Phenols	Benzenediols
7	norleucine	norleucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	norvaline	norvaline	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	O-acetylserine	O-acetyl-L-serine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	oleic acid	oleic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	O-phosphonothreonine	O-phosphono-L-threonine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

7	O-phosphorylethanolamine	O-phosphorylethanolamine	Organic oxoanionic compounds	
7	ornithine	L-ornithine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	orotic acid	orotic acid	Diazines	Pyrimidines and pyrimidine derivatives
7	oxalacetic acid	oxalacetate	Keto acids and derivatives	Short-chain keto acids and derivatives
3,7	Oxalic acid	oxalic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
7	oxamic acid	oxamic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	oxamide	oxamide	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	oxoproline	pyroglutamate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	palatinitol	(2S,3R,4R,5R)-6-([(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}hexane-1,2,3,4,5-pentol; isomalt	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
7	palatinose	palatinose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	palmitic acid	palmitic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	palmitoleic acid	palmitoleic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates

7	pantothenic acid	pantothenic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	phenyl beta-D-glucopyranoside	phenyl β -D-glucoside	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	phenylacetaldehyde	phenylacetaldehyde	Benzene and substituted derivatives	Phenylacetaldehydes
7	phenylalanine	L-phenylalanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	Phosphate	phosphate	Non-metal oxoanionic compounds	Non-metal phosphates
7	phytosphingosine	phytosphingosine	Organonitrogen compounds	Amines
7	piceatannol	piceatannol	Stilbenes	
7	pimelic acid	pimelic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
1	Pinitol	ononitol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
7	pipecolinic acid	(+,-)-pipecolic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3,7	Proline	proline	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
7	prunin	prunin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
7	purine riboside	purine riboside	Purine nucleosides	
7	putrescine	putrescine	Organonitrogen compounds	Amines

7	pyridoxal phosphate	pyridoxal phosphate	Pyridines and derivatives	Pyridine carboxaldehydes
7	pyrogallol	pyrogallol	Phenols	Benzenetriols and derivatives
3,7	Pyruvic acid	pyruvic acid	Keto acids and derivatives	Alpha-keto acids and derivatives
7	quinic acid	(3R,5R)-1,3,4,5-tetrahydroxycyclohexane-1-carboxylic acid	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
7	Resveratrol	resveratrol	Stilbenes	
7	ribonic acid, gamma-lactone	ribonolactone	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Ribose	ribose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	ribose-5-phosphate	ribose-5-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	ribulose-5-phosphate	ribulose-5-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Saccharic acid	saccharic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	salicin	salicin	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	salicyl alcohol	saligenin	Benzene and substituted derivatives	Benzyl alcohols
7	salicylic acid	salicylic acid	Benzene and substituted derivatives	Benzoic acids and derivatives

3,7	Sedoheptulose	sedoheptulose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Serine	L-serine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Shikimic acid	(-)-shikimate	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
7	sophorose	sophorose	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
7	sorbitol	D-sorbitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	sorbose	sorbose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
6	Soyasapogenol A	(3R,4S,4aR,6aS,6bR,8aR,9S,10S,12aR,14bS)-9-(hydroxymethyl)-2,2,4a,6a,6b,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,7,8,8a,10,11,12,12b,13,14b-tetradecahydricene-3,4,10-triol	Prenol lipids	Triterpenoids
6	Soyasapogenol B	soyasapogenol B	Prenol lipids	Triterpenoids
6	soyasaponin A1 (deacetyl Ab)	soyasaponin A1	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin A2 (deacetyl Af)	(2S,3R,4S,5R,6R)-6- {[(6aR,6bS,8aR,9R,10S,12aR,14bR)-9- {[(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4- {[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6- (hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-10- hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b- heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a- tetradecahydricen-3-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-	Prenol lipids	Terpene glycosides

6	soyasaponin A4 (deacetyl Aa)	(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxane-2-carboxylic acid 6-({9-[(3,5-dihydroxy-4-{[3,4,5-tris(acetyloxy)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl)oxy]-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl} oxy)-5-{[4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-{[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin A5 (deacetyl Ae)	6-({9-[(3,5-dihydroxy-4-{[3,4,5-tris(acetyloxy)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl)oxy]-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl} oxy)-3,4-dihydroxy-5-{[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Aa	(2S,3S,4S,5R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9-{{[(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4- {[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-tris(acetyloxy)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-{{[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Ab	(2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9-{{[(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-tris(acetyloxy)-6-	Prenol lipids	Terpene glycosides

6	soyasaponin Ac	[(acetyloxy)methyl]oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5-{[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-{[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid 6-({9-[(3,5-dihydroxy-4- { [3,4,5-tris(acetyloxy)-6-[(acetyloxy)methyl]oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl} oxy)-5- { [4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy]oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid (2S,3S,4S,5R,6R)-6- { [(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9- { [(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4- { [(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-tris(acetyloxy)-6-[(acetyloxy)methyl]oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- { [(2S,3R,4S,5R)-4,5-dihydroxy-3- { [(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid (2S,3S,4S,5R,6R)-6- { [(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9- { [(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4-	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Ad	(2S,3S,4S,5R,6R)-6- { [(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9- { [(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4- { [(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-tris(acetyloxy)-6-[(acetyloxy)methyl]oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- { [(2S,3R,4S,5R)-4,5-dihydroxy-3- { [(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid (2S,3S,4S,5R,6R)-6- { [(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9- { [(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4-	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Ae	(2S,3S,4S,5R,6R)-6- { [(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9- { [(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4-	Prenol lipids	Terpene glycosides

		{[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-tris(acetyloxy)oxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-5-{[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}oxane-2-carboxylic acid		
6	soyasaponin Af	(2S,3S,4S,5R,6R)-6-{[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9-{[(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4-{[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-tris(acetyloxy)-6-[(acetyloxy)methyl]oxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-5-{[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Ah	(2S,3S,4S,5R,6R)-6-{[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9-{[(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4-{[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-tris(acetyloxy)-6-[(acetyloxy)methyl]oxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-10-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-5-{[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxy}oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	Soyasaponin Ba	(2S,3S,4S,5R,6R)-6-{[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9-	Prenol lipids	Terpene glycosides

		hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid		
6	Soyasaponin Bb	soyasaponin I	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	Soyasaponin Bc	soyasaponin II	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Be	dehydrosoyasaponin I	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Be'	dehydrosoyasaponin I	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Be isomer	dehydrosoyasaponin I	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Bg--1	5-{[4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-6-({9-[(5-hydroxy-6-methyl-4-oxo-2,3-dihydropyran-2-yl)oxy]-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl}oxy)oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin Bg--2	5-{[4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-6-({9-[(5-hydroxy-6-methyl-4-oxo-2,3-dihydropyran-2-yl)oxy]-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl}oxy)oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin III	soyasaponin III	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin IV	(2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9-hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-	Prenol lipids	Terpene glycosides

6	soyasaponin α a	heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-5- {[(2S,3R,4S,5S)-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxy} oxane-2-carboxylic acid (2S,3S,4S,5R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9S,10R,12aS,14aR,14bR)-9- {[(2S,3R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-4- {[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-tris(acetyloxy)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-10-hydroxy-4- (hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6- (hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid (2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9- [(5-hydroxy-6-methyl-4-oxo-2,3-dihydropyran-2-yl]oxy]-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6- (hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid (2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9- hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6- (hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin α g	heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6- (hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid (2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9- [(5-hydroxy-6-methyl-4-oxo-2,3-dihydropyran-2-yl]oxy]-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6- (hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid (2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9- hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6- (hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin β a	heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6- (hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid (2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9- hydroxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6- (hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-	Prenol lipids	Terpene glycosides

6	soyasaponin βg	trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid 5- {[4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-6-({9-[(5-hydroxy-6-methyl-4-oxo-2,3-dihydropyran-2-yl)oxy]-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl} oxy)oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin γa	(2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9-[(5-hydroxy-6-methyl-4-oxo-2,3-dihydropyran-2-yl)oxy]-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-5- {[[(2S,3R,4S,5S)-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxy} oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
6	soyasaponin γg	(2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9-[(5-hydroxy-6-methyl-4-oxo-2,3-dihydropyran-2-yl)oxy]-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-5- {[[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
7	spermidine	spermidine	Organonitrogen compounds	Amines
3,7	Stearic acid	stearic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
7	succinate semialdehyde	ketobutyrate	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates

1,3,7	Succinic acid	succinic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
1,3,7	Sucrose	sucrose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	sucrose-6-phosphate	sucrose-6-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	sulfuric acid	sulfuric acid	Non-metal oxoanionic compounds	Non-metal sulfates
7	synephrine	synephrine	Phenols	1-hydroxy-2-unsubstituted benzenoids
7	tagatose	tagatose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	tetrahydrocorticosterone	tetrahydrocorticosterone	Steroids and steroid derivatives	Hydroxysteroids
7	threitol	(-)-threitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	threo-beta-hydroxyaspartate	3-hydroxyaspartic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3,7	Threonic acid	threonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	threonine	L-threonine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

7	thymidine	thymidine	Pyrimidine nucleosides	Pyrimidine 2'-deoxyribonucleosides
7	thymol	thymol	Prenol lipids	Monoterpenoids
7	trans-3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde	sinapyl aldehyde	Phenols	Methoxyphenols
1,3,7	Trehalose	α,α' -trehalose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	tricetin	tricetin	Flavonoids	Flavones
7	tryptophan	L-tryptophan	Indoles and derivatives	Indolyl carboxylic acids and derivatives
7	tyrosine	L-tyrosine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3,7	Uracil	uracil	Diazines	Pyrimidines and pyrimidine derivatives
7	uracil-5-carboxylic acid	steviolbioside	Diazines	Pyrimidines and pyrimidine derivatives
7	uric acid	uric acid	Imidazopyrimidines	Purines and purine derivatives
3,7	Uridine	uridine	Pyrimidine nucleosides	
7	uridine monophosphate	uridine monophosphate	Pyrimidine nucleotides	Pyrimidine ribonucleotides
1,3,7	Valine	L-valine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

7	xylitol	D-xylitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,7	Xylose	α -D-xylopyranose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
7	zymosterol	zymosterol	Steroids and steroid derivatives	Cholestane steroids
1	α -Glucose	α -glucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	α -ketoglutaric acid	oxoglutarate	Keto acids and derivatives	Gamma-keto acids and derivatives
3,7	β -alanine	β alanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
1	β -Glucose	β -glucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates

^a Name quoted in the referenced paper

^b Traditional name proposed by Jchem [8]

^c Classification proposed by ClassyFire [9]

Reference

1. Coutinho, I.D.; Henning, L.M.M.; Döpp, S.A.; Nepomuceno, A.; Moraes, L.A.C.; Marcolino-Gomes, J.; Richter, C.; Schwalbe, H.; Colnago, L.A. Identification of Primary and Secondary Metabolites and Transcriptome Profile of Soybean Tissues during Different Stages of Hypoxia. *Data in Brief* 2018, 21, 1089–1100, doi:10.1016/j.dib.2018.09.122.
2. Zanzarin, D.M.; Hernandez, C.P.; Leme, L.M.; Silva, E.; Porto, C.; Martin do Prado, R.; Meyer, M.C.; Favoreto, L.; Nunes, E. de O.; Pilau, E.J. Metabolomics of Soybean Green Stem and Foliar Retention (GSFR) Disease Using Mass Spectrometry and Molecular Networking. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2020, 34, doi:10.1002/rcm.8655.
3. Li, M.; Xu, J.; Wang, X.; Fu, H.; Zhao, M.; Wang, H.; Shi, L. Photosynthetic Characteristics and Metabolic Analyses of Two Soybean Genotypes Revealed Adaptive Strategies to Low-Nitrogen Stress. *Journal of Plant Physiology* 2018, 229, 132–141, doi:10.1016/j.jplph.2018.07.009.

4. Dresler, S.; Wójciak-Kosior, M.; Sowa, I.; Strzemski, M.; Sawicki, J.; Kováčik, J.; Blicharski, T. Effect of Long-Term Strontium Exposure on the Content of Phytoestrogens and Allantoin in Soybean. *International Journal of Molecular Sciences* 2018, 19, 3864, doi:10.3390/ijms19123864.
5. Seo, W.D.; Kang, J.E.; Choi, S.W.; Lee, K.S.; Lee, M.J.; Park, K. do; Lee, J.H. Comparison of Nutritional Components (Isoflavone, Protein, Oil, and Fatty Acid) and Antioxidant Properties at the Growth Stage of Different Parts of Soybean [Glycine Max (L.) Merrill]. *Food Science and Biotechnology* 2017, 26, 339–347, doi:10.1007/s10068-017-0046-x.
6. Tsuno, Y.; Fujimatsu, T.; Endo, K.; Sugiyama, A.; Yazaki, K. Soyasaponins: A New Class of Root Exudates in Soybean (Glycine Max). *Plant and Cell Physiology* 2018, 59, 366–375, doi:10.1093/pcp/pcx192.
7. Zhong, Z.; Kobayashi, T.; Zhu, W.; Imai, H.; Zhao, R.; Ohno, T.; Rehman, S. ur; Uemura, M.; Tian, J.; Komatsu, S. Plant-Derived Smoke Enhances Plant Growth through Ornithine-Synthesis Pathway and Ubiquitin-Proteasome Pathway in Soybean. *Journal of Proteomics* 2020, 221, 103781, doi:10.1016/j.jprot.2020.103781.
8. ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry & Biology Available online: <https://chemaxon.com/products/marvin>
9. Djoumbou Feunang, Y.; Eisner, R.; Knox, C.; Chepelev, L.; Hastings, J.; Owen, G.; Fahy, E.; Steinbeck, C.; Subramanian, S.; Bolton, E.; et al. ClassyFire: Automated Chemical Classification with a Comprehensive, Computable Taxonomy. *Journal of Cheminformatics* 2016, 8, 1–20, doi:10.1186/s13321-016-0174-y.

Table S2. Metabolites identified in soy leaves

Refere nce	Name ^a	Traditional name ^b	Class ^c	Subclass ^c
3	(+)-7-Isomethyljasmonate	(+)-7-isomethyljasmonate	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
3	(10E,12Z)-9-Oxooctadeca-10,12-dienoic acid	9-OxoODE	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
3,9	(15Z)-12-Oxophyto-10,15-dienoic acid	12-oxophytodienoic acid	Fatty Acyls	Eicosanoids
3	(9Z)-(13S)-12,13-Epoxyoctadeca-9,11,15-trienoate	(9Z)-11-[(3S)-3-(pent-2-en-1-yl)oxiran-2-ylidene]undec-9-enoate	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3	(9Z,11E)-(13S)-13-Hydroxyoctadeca-9,11-dienoic acid	13-hode	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
3	(9Z,11E)-13-Oxooctadeca-9,11-dienoic acid	13-Oxo-ODE	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
3,9	(9Z,11E,15Z)-(13S)-13-Hydroperoxyoctadeca-9,11,15-trienoic acid	13(S)-HpOTrE	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
9	(9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trien-6-ynoic acid	(9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trien-6-ynoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3,5,9	(9Z,12Z,15Z)-Octadecatrienoic acid	α -linolenic acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
3	(Z)-3-Oxo-2-(2-pentenyl)-1-cyclopenteneacetic acid	{3-oxo-2-[(2Z)-pent-2-en-1-yl]cyclopent-1-en-1-yl} acetic acid	Organooxygen compounds	Carbonyl compounds
1	1-(10Z-Heptadecenoyl)-sn-glycero-3-phospho-(1'-myo-inositol)	(2R)-3-[(10Z)-heptadec-10-enoyloxy]-2-hydroxypropoxy([(3R)-2,3,4,5,6-pentahydroxycyclohexyl]oxy)phosphinic acid	Glycerophospholipids	Glycerophosphoinositols
9	10,13-Nonadecadiynoic acid	10,13-nonadecadiynoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
9	12,13(S)-EOT	(9Z)-11-[(2Z,3S)-3-[(2Z)-pent-2-en-1-yl]oxiran-2-ylidene]undec-9-enoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3	12-Hydroxyjasmonic acid	12-hydroxyjasmonic acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives

9	13S-Hydroxy-9Z,11E,15Z-octadecatrienoic acid	13-HoTrE	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
9	15-Methylhexadecasphinganine	15-methylhexadecasphinganine	Organonitrogen compounds	Amines
2	1- α -linolenoylglycerol	glyceryl linolenate	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
1	2-Amino-1-phenylethanol	β phenylethanolamine	Organonitrogen compounds	Amines
3	2'-Hydroxydaidzein	2'-hydroxydaidzein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
2	2-methyl-7-(3-methyl-but-2-enyloxy)-3-phenoxy-chromen-4-one/5-methoxy-8,8-dimethyl-4-phenyl-9,10-dihydro-2H,8H-pyrano[2,3-f]chromen-2-one	5-methoxy-8,8-dimethyl-4-phenyl-9H,10H-pyrano[2,3-h]chromen-2-one	Neoflavonoids	Prenylated neoflavonoids
1	2-Phenoxyethyl isobutyrate	phenoxyethyl isobutyrate	Phenol ethers	
1	3,4-Methylenesecabac acid	3,4-methylenesecabac acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
9	3'-O-methyltricetin	selgin	Flavonoids	O-methylated flavonoids
1	3-cis-Hydroxy-b,e-Caroten-3'-one	3,5,5-trimethyl-4-[(1E,3E,5E,7E,9Z,11Z,13E,15E,17E)-3,7,12,16-tetramethyl-18-(2,6,6-trimethylcyclohexa-2,4-dien-1-yl)octadeca-1,3,5,7,9,11,13,15,17-nonaen-1-yl]cyclohex-3-en-1-ol	Prenol lipids	Tetraterpenoids
5	3-hydroxybutyric acid	3 hydroxybutyrate	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives
1	3-Methyl-3-butenyl apiosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-glucoside	2-([3,4-dihydroxy-4-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]oxy)methyl-6-[(3-methylbut-3-en-1-yl)oxy]oxane-3,4,5-triol	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
9	3'-O-Methyltricetin 3-O- α -L-rhamnopyranoside	2-(3,4-dihydroxy-5-methoxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-	Flavonoids	Flavonoid glycosides

		trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy}chromen-4-one		
1	4-(3,14-Dihydroxy-10,13-Dimethyl-Hexadecahydro-Cyclopenta[a]Phenanthren-17-Yl)-5h-Furan-2-One	digitoxigenin	Steroids and steroid derivatives	Steroid lactones
1	4,7(11)-Guaiadien-8-one	1,4-dimethyl-7-(propan-2-ylidene)-2,3,3a,4,5,8-hexahydroazulen-6-one	Prenol lipids	Sesquiterpenoids
5	4-hydroxybutyrate	gamma-hydroxybutyrate	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
1	5(6)-Pentyl-1,4-dioxan-2-one	5-pentyl-1,4-dioxan-2-one	Dioxanes	1,4-dioxanes
1	5-Megastigmen-7-yne-3,9-diol 3-glucoside	2-{[4-(3-hydroxybut-1-yn-1-yl)-3,5,5-trimethylcyclohex-3-en-1-yl]oxy}-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	6-Methoxyluteolin-7-rhamnoside	6-methoxyluteolin 7-rhamnoside	Flavonoids	Flavonoid glycosides
7	7,4'-dihydroxy flavone	7,4'-dihydroxyflavone	Flavonoids	Flavones
3	7-Hydroxycoumarin	umbelliferone	Coumarins and derivatives	Hydroxycoumarins
3,9	7-Methoxycoumarin	methylumbelliferone	Coumarins and derivatives	
9	7-O-Methyluteone	7-O-methyluteone	Isoflavonoids	Isoflavans
3	8-[(1R,2R)-3-Oxo-2-{(Z)-pent-2-enyl}cyclopentyl]octanoate	8-[(1R,2R)-3-oxo-2-[(2Z)-pent-2-en-1-yl]cyclopentyl]octanoate	Fatty Acyls	Eicosanoids
1	8-Oxohexadecanoic acid	8-keto palmitic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3	Abrisaponin I	(2S,3S,4S,5R,6R)-6-{[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,11R,12aS,14aR,14bR)-11-carboxy-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,14b-hexamethyl-9-oxo-2,3,4a,5,6,7,8,10,12,12a,14,14a-dodecahydro-	Prenol lipids	Terpene glycosides

9	Abscisic acid	1H-picen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Sesquiterpenoids
4	Acetate	abscisic acid acetate	Carboxylic acids and derivatives	Carboxylic acids
2	acetylgenistin	2-acetyl-5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7- {[(2S,5S)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} chromen-4-one	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
1,3	Adenosine	adenosine	Purine nucleosides	
3	Adenosine monophosphate	adenosine monophosphate	Purine nucleotides	Purine ribonucleotides
3	Afromosin 7-O-glucoside	wistin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
4,5	Alanine	alanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
6	allantoin	allantoin	Azoles	Imidazoles
3,7	Apigenin	chamomile	Flavonoids	Flavones
1	Apo-10'-violaxanthal	(2Z,4Z,6E,8E,10E,12Z,14E)-15-{4-hydroxy-2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-1-yl}-4,9,13-trimethylpentadeca-2,4,6,8,10,12,14-heptaenal	Prenol lipids	Sesterterpenoids
3,9	Asiaticoside	asiaticoside	Prenol lipids	Terpene glycosides
9	Asn-Phe	(2S)-2-[(2S)-2-amino-3-carbamoylpropanamido]-3-phenylpropanoic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

4,5	Asparagine	L-asparagine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
5	Aspartic acid	aspartic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3,9	Aspartylleucine	α -asp-leu	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Azukisaponin I	3,4-dihydroxy-6-[(9-hydroxy-4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-octamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydropicen-3-yl)oxy]-5-{[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
3	Biochanin A	biochanin	Isoflavonoids	O-methylated isoflavonoids
3	Biochanin A 7-O-D-glucoside	sissotrin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
3	Biochanin A 7-O-glucoside-6"-O-malonate	3-oxo-3-{[(2R,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-{[5-hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-4-oxochromen-7-yl]oxy} oxan-2-yl]methoxy}propanoic acid	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
3	Calycosin	calycosin	Isoflavonoids	O-methylated isoflavonoids
1	Carboxyglycine	N-carboxyglycine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Cauloside D	cauloside D	Prenol lipids	Terpene glycosides
4	Choline	choline	Organonitrogen compounds	Quaternary ammonium salts
1,3	Chrysoeriol 7-O-(6"-malonyl-glucoside)	3-oxo-3-{[(2R,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-{[5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-	Flavonoids	Flavonoid glycosides

4	cis-caffeoylquinic acid	methoxyphenyl)-4-oxochromen-7-yl]oxy}oxan-2-yl]methoxy}propanoic acid (Z)-chlorogenic acid	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
4	cis-p-coumaroylquinic acid	(Z)-5-p-coumaroylquinic acid	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3,4,9	Citric acid	citric acid	Carboxylic acids and derivatives	Tricarboxylic acids and derivatives
1	Corchorifatty acid A	(10E,12E,14E)-9-hydroxy-16-oxooctadeca-10,12,14-trienoic acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
1	Corchorifatty acid D	(10E,12E,14E)-16-hydroxy-9-oxooctadeca-10,12,14-trienoic acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
3	Coumaric acid	para-coumaric acid	Cinnamic acids and derivatives	Hydroxycinnamic acids and derivatives
3,6	Coumestrol	coumestrol	Isoflavonoids	Coumestans
3	Cytidine	cytidine	Pyrimidine nucleosides	
2,3,4,7,9	daidzein	daidzein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
2,3,4,6,7,8,9	daidzin	daidzin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
5	D-Arabitol	adonitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3,9	Dehydrosoyasaponin I	dehydrosoyasaponin I	Prenol lipids	Terpene glycosides
1	Delavirdine	delavirdine	Diazinanes	Piperazines
1	DG(14:0/18:1(9Z)/0:0)	(2S)-1-hydroxy-3-(tetradecanoyloxy)propan-2-yl octadec-9-enoate	Glycerolipids	Diradylglycerols
1	DG(16:1(9Z)/18:1(9Z)/0:0)	(2S)-1-[(9Z)-hexadec-9-enoyloxy]-3-hydroxypropan-2-yl (9Z)-octadec-9-enoate	Glycerolipids	Diradylglycerols

1	DG(22:5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/14:0/0:0)	(2S)-3-hydroxy-2-(tetradecanoyloxy)propyl (7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-7,10,13,16,19-pentaenoate	Glycerolipids	Diradylglycerols
5	D-glyceric acid	D-glycerate calcium dihydrate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1	Di(N-Acetyl-D-Glucosamine)	di(N-acetyl-D-glucosamine)	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1	Dihydro-3-(2-octenyl)-2,5-furandione	3-(oct-2-en-1-yl)oxolane-2,5-dione	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
3	Dihydrokaempferol	(+)-dihydrokaempferol	Flavonoids	Flavans
1	Dihydrozeatin-O-glucoside	dihydrozeatin-O-glucoside	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
1	DL-Phenylalanine	phenylalanin	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
1	D-Proline	D-proline	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
1	D-Tyrosine	(.+-.)-tyrosine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Eriodictyol-7-O-glucoside	(2S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-7-[[[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}-2,3-dihydro-1-benzopyran-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
4	Ethanol	ethyl alcohol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
1	Ethyl 7-epi-12-hydroxyjasmonate glucoside	ethyl 2-{3-oxo-2-[(2E)-5-{[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}pent-2-en-1-yl]cyclopentyl}acetate	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides

1,3,5,9	Ferulic acid	ferulic acid	Cinnamic acids and derivatives	Hydroxycinnamic acids and derivatives
4	formic acid	formic acid	Carboxylic acids and derivatives	Carboxylic acids
1,3	Formononetin	formononetin	Isoflavonoids	O-methylated isoflavonoids
2,3,9	formononetin 7-O-glucoside-6"-malonate	3-oxo-3- {[(3S,4S,6S)-3,4,5-trihydroxy-6- {[3-(4-methoxyphenyl)-4-oxochromen-7-yl]oxy} oxan-2-yl]methoxy} propanoic acid	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
3	Formononetin-7-O-glucoside	ononin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
9	Formononetin-7-O-glucoside- 6-O-malonate	3-oxo-3- {[(2R,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6- {[3-(4-methoxyphenyl)-4-oxochromen-7-yl]oxy} oxan-2-yl]methoxy} propanoic acid	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
1,4,5	Fructose	fructose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
5	Fumaric acid	fumaric acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4,5	GABA	gamma(amino)-butyric acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
5	Galactonic acid	galactonic acid	Hydroxy acids and derivatives	Medium-chain hydroxy acids and derivatives
5	Galactose	galactose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Gamolenic acid	gamma-linolenic acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives

2,7,8	genistein	genistein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
2,6,7,9	genistin	genistin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
3,9	Glyceollin I	glyceollin	Isoflavonoids	Furanoisoflavonoids
3,9	Glyceollin III	glyceollin iii	Isoflavonoids	Furanoisoflavonoids
5	Gluconic acid	gluconic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
5	Glucose	glucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
5	Glucose-6-phosphate	glucose-6-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	Glutamic acid	L-glutamic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Glyceollidin I/II	glyceollidin I	Isoflavonoids	Furanoisoflavonoids
3,9	Glyceollin II	glyceollin ii	Isoflavonoids	Furanoisoflavonoids
3	Glyceollin IV	glyceollin IV	Isoflavonoids	Furanoisoflavonoids
3	Glyceollin VI	(6S)-6-(prop-1-en-2-yl)-7,11,20-trioxapentacyclo[11.7.0.0 ^{2,10} .0 ^{4,8} .0 ^{14,19}]icosa-1(13),2(10),3,8,14(19),15,17-heptaen-17-ol	Isoflavonoids	Furanoisoflavonoids
4,5	Glycine	glycine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3,7,8	Glycitein	glycitein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
3	Glycitein 7-O-glucoside	glycitein 7-O-glucoside	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
6,7	glycitin	glycitin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides

5	Glycolic acid	glycolic acid	Hydroxy acids and derivatives	Alpha hydroxy acids and derivatives
4	Hydroxyisobutyrate	acetate	Hydroxy acids and derivatives	Alpha hydroxy acids and derivatives
9	Ile-Pro	Ile-Pro	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Ile-Val	Ile-Val	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Isanic acid	isanic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
5	Isoleucine	L-isoleucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Isoorientin 2''''-O-rhamnoside	isoorientin 2''-O-rhamnoside	Flavonoids	Flavonoid glycosides
9	Isoquercetin	quercetin-3-glucoside	Flavonoids	Flavonoid glycosides
3	Isotrifoliol	isotrifoliol	Isoflavonoids	Coumestans
5	Itaconic acid	itaconic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3,9	Jasmonic acid	jasmonic acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
9	Jujuboside B	(2S,3R,4R,5R,6S)-2-{{[(2S,3R,4S,5S)-4-{{[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-{{[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-5-hydroxy-2-{{[(1S,2R,5R,7S,10R,11R,14R,15S,16S,18R,20S)-16-hydroxy-2,6,6,10,16-pentamethyl-18-(2-	Prenol lipids	Triterpenoids

		methylprop-1-en-1-yl)-19,21-dioxahehexacyclo[18.2.1.0 ¹ , ¹⁴ .0 ² , ¹¹ .0 ⁵ , ¹⁰ .0 ¹⁵ , ²⁰]tricosan-7-yl]oxy} oxan-3-yl]oxy}-6-methyloxane-3,4,5-triol		
3	Kaempferol	kaempferol	Flavonoids	Flavones
3	Kaempferol 3-sophorotrioside	kaempferol 3-sophorotrioside	Flavonoids	Flavonoid glycosides
4	Kaempferol-3-O- α -di-rhaminosyl- β -glucoside	3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy} oxan-2-yl]oxy} -5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7- {[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy} chromen-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
2	kaempferol-3-O-(2,6-di-O- α -L-rhamnopyranosyl)- β -D-galactopyranoside	3-({4,5-dihydroxy-3-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]-6- {[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]methyl} oxan-2-yl} oxy)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
3	Kaempferol-3-O-rutinoside	nictoflorin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
2	kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-galactopyranoside	5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6- ([(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy} methyl)oxan-2-yl]oxy} chromen-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
2	kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside	5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} -7- {[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy} chromen-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
4	Kaempferol-3-O- α -rhamnosyl-di- β -glucoside isomer I	5-hydroxy-3,7-bis({[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy})-2-(4- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-	Flavonoids	Flavonoid glycosides

4	Kaempferol-3-O- α -rhamnosyl-di- β -glucoside isomer II	(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}phenyl)chromen-4-one kaempferol 3,7,4'-triglucoside	Flavonoids	Flavonoid glycosides
2	kaempferol-3-O- β -D-galactopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside	kaempferol 3,7,4'-triglucoside	Flavonoids	Flavonoid glycosides
2	kaempferol-3-O- β -diglucopyranoside	5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6- ({(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy} methyl)oxan-2-yl]oxy} chromen-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
9	Kaempferol-O-acetylhexoside	[(2R,3S,4S,5R,6S)-6-{[5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxochromen-3-yl]oxy}-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]methyl acetate	Flavonoids	Flavonoid glycosides
4	Kaempferol-O- α -rhamnosyl- β -glucoside	3-{[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-{[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
3	Kaikasaponin II	(2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9-hydroxy-4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-octamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydricen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-{[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides

1	Ketomalonic acid	mesoxalic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	Lactate	lactate	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
1,5	Lactose	lactose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
9	Leu-Asn	Leu-Asn	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
5,9	Leucine	leucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Leu-Leu	leucyl-leucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Leu-Leu-Gly	Leu-Leu-Gly	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Leu-Leu-Val	(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-amino-4-methylpentanamido]-4-methylpentanamido]-3-methylbutanoic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Leu-Phe	Leu-Phe	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Leu-Val-Val	(2S)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-amino-4-methylpentanamido]-3-methylbutanamido]-3-methylbutanoic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
5	Linoleic acid	linoleic	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
3	Liquiritigenin	5-deoxyflavanone	Flavonoids	Flavans

5	L-Malic acid	(-)-malic acid	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives
2	LPC(16:0)	(2R)-3-(hexadecanoyloxy)-2-hydroxypropoxy(2-(trimethylammonio)ethoxy)phosphinic acid	Glycerophospholipids	Glycerophosphocholines
2	LPC(18:0)	(2R)-2-hydroxy-3-(octadecanoyloxy)propoxy(2-(trimethylammonio)ethoxy)phosphinic acid	Glycerophospholipids	Glycerophosphocholines
2	LPC(18:2)	[2-(bis[(2R)-2-hydroxy-3-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoyloxy]propoxy]phosphoryl}oxy)ethyl]trimethylazanium	Glycerophospholipids	Glycerophosphoglycerols
2	LPC(18:3)	(2-{[(2R)-2-hydroxy-3-[(9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trienoyloxy]propylphosphonato]oxy}ethyl)trimethylazanium	Glycerophospholipids	Glycerophosphocholines
9	Luteolin 8-C-glucoside	orientin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
4	Lysine	lysine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Lysophosphatidic acid 0:0/18:2(9Z,12Z)	(2R)-3-hydroxy-2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoyloxy]propoxyphosphonic acid	Glycerophospholipids	Glycerophosphates
3	Lysophosphatidylethanolamine(18:2/0:0)	2-aminoethoxy((2R)-2-hydroxy-3-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoyloxy]propoxy)phosphinic acid	Glycerophospholipids	Glycerophosphoethanolamines
5	Maleic acid	maleic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	Malic acid	malic acid	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives

5	Malonic acid	malonic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
2,3,4,6,7,9	malonyldaidzin	malonyldaidzin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
2,3,6,9	malonylgenistin	malonylgenistin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
2,3	malonylglycitin	malonylglycitin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
5	Maltose	maltose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Medicarpin	medicarpin, (-)-	Isoflavonoids	Furanoisoflavonoids
3	Methyl jasmonate	(-)-methyl jasmonate	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
1	Momordicoside I	(2R,3R,4S,5S,6R)-2- {[(1R,4S,5S,8R,9R,12S,13S,16S)-8-[(2R,4E)-6-hydroxy-6-methylhept-4-en-2-yl]-5,9,17,17-tetramethyl-18-oxapentacyclo[10.5.2.0 ¹ , ¹³ .0 ⁴ , ¹² .0 ⁵ , ⁹]nonadec-2-en-16-yl]oxy}-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol	Steroids and steroid derivatives	Steroidal glycosides
5	Mucic acid	mucin	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4,5	Myo-inositol	myo-inositol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
1	N6-Carbamoyl-L-threonyladenosine	(2S,3R)-2-(carbamoylamino)-N-{9-[(2R,3R,4S,5R)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]purin-6-yl}-3-hydroxybutanamide	Purine nucleosides	
9	Narcissin	narcissin	Flavonoids	Flavonoid glycosides

3	Naringenin-7-O-glucoside	5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6- (hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}-2,3-dihydro- 1-benzopyran-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
9	Neobavaisoflavone	neobavaisoflavone	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
1	Nequinatate	nequinatate	Quinolines and derivatives	Quinolones and derivatives
1	Neryl arabinofuranosyl-glucoside	2-({[3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan- 2-yl]oxy}methyl)-6-{{[(2Z)-3,7-dimethylocta- 2,6-dien-1-yl]oxy}oxane-3,4,5-triol	Prenol lipids	Terpene glycosides
5	Nicotinic acid	niacin	Pyridines and derivatives	Pyridinecarboxylic acids and derivatives
1,5	Octadecanoic acid	stearic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
9	OPC-8:0	8-[(1S,2S)-3-oxo-2-[(2Z)-pent-2-en-1- yl]cyclopentyl]octanoic acid	Fatty Acyls	Eicosanoids
9	Osthole	osthole	Coumarins and derivatives	
5	Oxalic acid	oxalic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
5	Palmitic acid	palmitic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
2	parinaric acid	parinaric acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
1	PC(16:0/16:0)	[2-({bis[(2R)-2,3- bis(hexadecanoyloxy)propoxy]phosphoryl}oxy)ethyl]trimethylazanium	Glycerophosp holipids	Bisphosphatidic acids

5,9	p-Coumaric acid	hydroxycinnamic acid	Cinnamic acids and derivatives	Hydroxycinnamic acids and derivatives
1	PG(18:3(9Z,12Z,15Z)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	(2S)-2,3-dihydroxypropoxy((2R)-2-[(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoyloxy]-3-[(9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trienoyloxy]propoxy)phosphinic acid	Glycerophospholipids	Glycerophosphoglycerols
3	Phaseolin	(-)-phaseollin	Isoflavonoids	Furanoisoflavonoids
3	Phaseoside IV	(2S,3S,4S,5R,6R)-6-{[(3S,4aR,6aR,6bS,8aR,12aS,14aR,14bR)-4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-octamethyl-9-oxo-2,3,4a,5,6,7,8,10,12,12a,14,14a-dodecahydro-1H-picen-3-yl]oxy}-5-{[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-{[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
1,2,3,5,9	phenylalanine fragment	L-phenylalanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Pheophytin A	pheophytin a	Tetrapyrroles and derivatives	Chlorins
3	Pheophytin B	Pheophytin B	Tetrapyrroles and derivatives	
9	Phe-Val	phe-val	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Phosphatidylethanolamine (0:0/16:0)	2-aminoethoxy((2R)-2-(hexadecanoyloxy)-3-hydroxypropoxy)phosphinic acid	Glycerophospholipids	Glycerophosphoethanolamines
3	Physcion 8-glucoside	physcion 8-glucoside	Anthracenes	Anthraquinones

4	Pinitol	pinit	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3,9	Pipecolic acid	(+,-)-pipecolic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Pisatin	pisatin	Isoflavonoids	Furanoisoflavonoids
3	Plastoquinol-1	plastoquinol-1	Prenol lipids	Diterpenoids
1	Polyethylene, oxidized	6-hydroxy-5-methyl-4,11-dioxoundecanoic acid	Keto acids and derivatives	Medium-chain keto acids and derivatives
9	Primulasaponin	primulasaponin	Prenol lipids	Terpene glycosides
3,5,9	Proline	proline	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Pro-Phe	Pro-Phe	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
5	Pyruvic acid	pyruvic acid	Keto acids and derivatives	Alpha-keto acids and derivatives
3	Quercetin 3-rhamninoside	3-{[(2S,5R)-6-({[(2R,4S,5S)-3,5-dihydroxy-6-methyl-4-{{[(2S,4S,5R)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}methyl)-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxy}-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychromen-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
1	Raffinose	raffinose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1	Rheidin C	4,4',5,5'-tetrahydroxy-2'-methoxy-7'-methyl-10,10'-dioxo-9H,9'H-[9,9'-bianthracene]-2-carboxylic acid	Anthracenes	Anthracenecarboxylic acids and derivatives

3	Riboflavin	riboflavin	Pteridines and derivatives	Alloxazines and isoalloxazines
1	Ribonic acid	ribonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1	Ribose	ribose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1	Ricinoleic acid methyl ester	methyl ricinoleate	Fatty Acyls	Fatty alcohols
3,9	Robinin	robinin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
1	Rubraflavone D	rubraflavone D	Flavonoids	Flavones
9	Rutin	rutin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
1,3,5	Salicylic acid	salicylic acid	Benzene and substituted derivatives	Benzoic acids and derivatives
3	Sandosaponin A	5-{{[4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-{{[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxy-6-{{[4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-9-oxo-2,3,4a,5,6,7,8,10,12,12a,14,14a-dodecahydro-1H-picen-3-yl]oxy}oxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
9	Saponin	saponin	Prenol lipids	Triterpenoids
5	Sarcosine	sarcosine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Schizandrin C	schisandrin C	Tannins	Hydrolyzable tannins
9	Scopoletin	scopoletin	Coumarins and derivatives	Hydroxycoumarins

1,5	Serine	L-serine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
1	Ser-Leu	Ser-Leu	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
1	Shikimic acid	(-)-shikimate	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3,9	Sojagol	sojagol	Isoflavonoids	Coumestans
3,9	Soyasaponin I	soyasaponin I	Prenol lipids	Terpene glycosides
3,9	Soyasaponin II	soyasaponin II	Prenol lipids	Terpene glycosides
2,3,9	soyasaponin III	soyasaponin III	Prenol lipids	Terpene glycosides
2	soyasaponin βg	(2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,9R,12aS,14aR,14bR)-9- {[(2R)-5-hydroxy-6-methyl-4-oxo-2,3-dihydropyran-2-yl]oxy}-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydricen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides
2	soyasaponin γg	(2S,3S,4S,5R,6R)-6- {[(3S,4S,4aR,6aR,6bS,8aR,12aS,14aR,14bR)-4-(hydroxymethyl)-4,6a,6b,8a,11,11,14b-heptamethyl-9-oxo-2,3,4a,5,6,7,8,10,12,12a,14,14a-dodecahydro-1H-picen-3-yl]oxy}-5- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}oxan-2-yl]oxy}-3,4-dihydroxyoxane-2-carboxylic acid	Prenol lipids	Terpene glycosides

3	Stearidonic acid	stearidonic acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
4,5	Succinic acid	succinic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	Sucrose	sucrose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1	Taraxasterone	4,4,6a,6b,8a,12,14b-heptamethyl-11-methylidene-tetradecahydro-1H-picen-3-one	Prenol lipids	Triterpenoids
5	Threonic acid	threonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
5	Threonine	L-threonine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Threonylleucine	2-(2-amino-3-hydroxybutanamido)-4-methylpentanoic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	trans-caffeoylquinic acid	(3R,5R)-4-{[(2E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxy}-1,3,5-trihydroxycyclohexane-1-carboxylic acid	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
4	trans-p- coumaroylquinic acid	(1S,3R,4R,5R)-1,3,4-trihydroxy-5-{[(2E)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxy}cyclohexane-1-carboxylic acid	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
4	Trehalose	α,α' -trehalose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1,4	Trigonelline	trigonelline	Alkaloids and derivatives	
2,3,9	tryptophan fragment	L-tryptophan	Indoles and derivatives	Indolyl carboxylic acids and derivatives

3	Tuberonic acid glucoside	tuberonic acid glucoside	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
3,9	Tyrosine	L-tyrosine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Uridine	uridine	Pyrimidine nucleosides	
4,5	Valine	L-valine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
9	Xanthohumol	xanthohumol	Linear 1,3-diarylpropanoids	Chalcones and dihydrochalcones
9	Xanthyletin	xanthyletin	Coumarins and derivatives	Pyranocoumarins
5	Xylose	α -D-xylopyranose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	α -Glucose	α -glucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
5	α -ketoisocaproic acid	ketoisocaproate	Keto acids and derivatives	Short-chain keto acids and derivatives
5	β -alanine	β alanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	β -Glucose	β -glucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates

^a Name quoted in the referenced paper

^b Traditional name proposed by Jchem [10]

° Classification proposed by ClassyFire [11]

Reference

1. Nam, K.H.; Kim, D.Y.; Kim, H.J.; Pack, I.S.; Kim, H.J.; Chung, Y.S.; Kim, S.Y.; Kim, C.G. Global Metabolite Profiling Based on GC–MS and LC–MS/MS Analyses in ABF3-Overexpressing Soybean with Enhanced Drought Tolerance. *Applied Biological Chemistry* 2019, 62, 15, doi:10.1186/s13765-019-0425-5.
2. Ban, Y.J.; Song, Y.H.; Kim, J.Y.; Baiseitova, A.; Lee, K.W.; Kim, K.D.; Park, K.H. Comparative Investigation on Metabolites Changes in Soybean Leaves by Ethylene and Activation of Collagen Synthesis. *Industrial Crops and Products* 2020, 154, doi:10.1016/j.indcrop.2020.112743.
3. Silva, E.; da Graça, J.P.; Porto, C.; Martin do Prado, R.; Hoffmann-Campo, C.B.; Meyer, M.C.; de Oliveira Nunes, E.; Pilau, E.J. Unraveling Asian Soybean Rust Metabolomics Using Mass Spectrometry and Molecular Networking Approach. *Scientific Reports* 2020, 10, doi:10.1038/s41598-019-56782-4.
4. Coutinho, I.D.; Henning, L.M.M.; Döpp, S.A.; Nepomuceno, A.; Moraes, L.A.C.; Marcolino-Gomes, J.; Richter, C.; Schwalbe, H.; Colnago, L.A. Identification of Primary and Secondary Metabolites and Transcriptome Profile of Soybean Tissues during Different Stages of Hypoxia. *Data in Brief* 2018, 21, 1089–1100, doi:10.1016/j.dib.2018.09.122.
5. Li, M.; Xu, J.; Wang, X.; Fu, H.; Zhao, M.; Wang, H.; Shi, L. Photosynthetic Characteristics and Metabolic Analyses of Two Soybean Genotypes Revealed Adaptive Strategies to Low-Nitrogen Stress. *Journal of Plant Physiology* 2018, 229, 132–141, doi:10.1016/j.jplph.2018.07.009.
6. Dresler, S.; Wójciak-Kosior, M.; Sowa, I.; Strzemski, M.; Sawicki, J.; Kováčik, J.; Blicharski, T. Effect of Long-Term Strontium Exposure on the Content of Phytoestrogens and Allantoin in Soybean. *International Journal of Molecular Sciences* 2018, 19, 3864, doi:10.3390/ijms19123864.
7. Carneiro, A.M.; Moreira, E.A.; Bragagnolo, F.S.; Borges, M.S.; Pilon, A.C.; Rinaldo, D.; Funari, C.S. Soya Agricultural Waste as a Rich Source of Isoflavones. *Food Research International* 2020, 130, doi:10.1016/j.foodres.2019.108949.
8. Seo, W.D.; Kang, J.E.; Choi, S.W.; Lee, K.S.; Lee, M.J.; Park, K. do; Lee, J.H. Comparison of Nutritional Components (Isoflavone, Protein, Oil, and Fatty Acid) and Antioxidant Properties at the Growth Stage of Different Parts of Soybean [Glycine Max (L.) Merrill]. *Food Science and Biotechnology* 2017, 26, 339–347, doi:10.1007/s10068-017-0046-x.
9. Silva, E.; Perez Da Graça, J.; Porto, C.; Martin Do Prado, R.; Nunes, E.; Corrêa Marcelino-Guimarães, F.; Conrado Meyer, M.; Jorge Pilau, E. Untargeted Metabolomics Analysis by UHPLC-MS/MS of Soybean Plant in a Compatible Response to Phakopsora Pachyrhizi Infection. *Metabolites* 2021, 11, 179, doi:10.3390/metabo11030179.
10. ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry & Biology Available online: <https://chemaxon.com/products/marvin>

11. Djoumbou Feunang, Y.; Eisner, R.; Knox, C.; Chepelev, L.; Hastings, J.; Owen, G.; Fahy, E.; Steinbeck, C.; Subramanian, S.; Bolton, E.; et al. ClassyFire: Automated Chemical Classification with a Comprehensive, Computable Taxonomy. *Journal of Cheminformatics* 2016, 8, 1–20, doi:10.1186/s13321-016-0174-y.

Table S3. Metabolites identified in soy branches

Reference	Name ^a	Traditional name ^b	Class ^c	Subclass ^c
4	1,2,4-benzenetriol	1,2,4-benzenetriol	Phenols	Benzenetriols and derivatives
4	1,5-anhydroglucitol	1,5-anhydroglucitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	1-hexadecanol	cetyl alcohol	Fatty Acyls	Fatty alcohols
4	1-kestose	1-kestose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	1-methyladenosine	1-methyladenosine	Purine nucleosides	
4	1-monopalmitin	glyceryl palmitate	Glycerolipids	Monoradylglycerols
4	2-hydroxyglutaric acid	2-hydroxyglutaric acid	Hydroxy acids and derivatives	Short-chain hydroxy acids and derivatives
4	2-isopropylmalic acid	2-isopropylmalic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	2-methylglyceric acid NIST	2-methylglyceric acid	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives
4	2-monoolein	2-oleoylglycerol	Glycerolipids	Monoradylglycerols
4	2-monopalmitin	glyceryl 2-palmitate	Glycerolipids	Monoradylglycerols
4	3,4-dihydroxycinnamic acid	3,4-dihydroxycinnamic acid	Cinnamic acids and derivatives	Hydroxycinnamic acids and derivatives
4	3-hydroxy-3-methylglutaric acid	meglutol	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	4-aminobutyric acid	gamma(amino)-butyric acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	4-hydroxybenzoate	hydroxybenzoic acid	Benzene and substituted derivatives	Benzoic acids and derivatives
4	5-aminovaleric acid	5-aminovaleric acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

4	6-deoxyglucitol NIST	(2S,3R,4R,5R)-hexane-1,2,3,4,5-pentol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	6-deoxyglucose	fucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1	7,4'-dihydroxy flavone	7,4'-dihydroxyflavone	Flavonoids	Flavones
3	Acetylserotonin	N-acetylserotonin	Indoles and derivatives	Hydroxyindoles
4	aconitic acid	aconitic acid	Carboxylic acids and derivatives	Tricarboxylic acids and derivatives
4	adenosine	adenosine	Purine nucleosides	
4	adipic acid	adipic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	alanine	L-alanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	allantoic acid	allantoic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
5	allantoin	allantoin	Azoles	Imidazoles
4	alpha-aminoadipic acid	aminoadipic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	alpha-ketoglutarate	α ketoglutarate	Keto acids and derivatives	Gamma-keto acids and derivatives
1,3	Apigenin	chamomile	Flavonoids	Flavones
4	arachidic acid	arachidic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	asparagine	L-asparagine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

4	aspartic acid	aspartic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	benzoic acid	benzoic acid	Benzene and substituted derivatives	Benzoic acids and derivatives
4	benzylalcohol	benzyl alcohol	Benzene and substituted derivatives	Benzyl alcohols
4	beta-alanine	β alanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	beta-gentiobiose	gentiobiose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	beta-sitosterol	sitosterol	Steroids and steroid derivatives	Stigmastanes and derivatives
4	butane-2,3-diol NIST	2,3-butanediol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3	Butin	butin	Flavonoids	Flavans
4	butyrolactam NIST	pyrrolidone	Pyrrolidines	Pyrrolidones
4	capric acid	capric acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	cellobiose	cellobiose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	cerotinic aci	heptacosanoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3	Cinnamic acid	cinnamic acid	Cinnamic acids and derivatives	Cinnamic acids
4	citramalic acid	citramalate, (+-)-	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates

4	citric acid	citric acid	Carboxylic acids and derivatives	Tricarboxylic acids and derivatives
4	conduritol-beta-expoxide	(2R,3S,4S,5R)-7-oxabicyclo[4.1.0]heptane-2,3,4,5-tetrol	Oxepanes	
3	Coniferin	coniferin	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Coniferyl alcohol	coniferyl alcohol	Phenols	Methoxyphenols
3	Coniferylaldehyde	coniferaldehyde	Phenols	Methoxyphenols
4	cyanoalanine	cyanoalanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
1,2,5	Daidzein	daidzein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
1,5	Daidzin	daidzin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
4	dehydroascorbic acid	dehydroascorbic acid	Lactones	Gamma butyrolactones
4	digalacturonic acid	digalacturonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Dihydromyricetin	(+)-dihydromyricetin	Flavonoids	Flavans
4	dihydroxyacetone	dihydroxyacetone	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	dihydroxymalonic acid NIST	dihydroxymalonic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	enolpyruvate NIST	phosphoenolpyruvic acid	Organic phosphoric acids and derivatives	Phosphate esters
4	erythritol	meso-erythritol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates

4	ethanolamine	ethanolamine	Organonitrogen compounds	Amines
4	ferulic acid	ferulic acid	Cinnamic acids and derivatives	Hydroxycinnamic acids and derivatives
4	fructose	fructose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	fructose-6-phosphate	fructose-6-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	fucose	fucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	fumaric acid	fumaric acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	galactinol	(1S,2R,3S,4S,5S,6R)-6- {[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5- trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan- 2-yl]oxy} cyclohexane-1,2,3,4,5- pentol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	galactonic acid	galactonic acid	Hydroxy acids and derivatives	Medium-chain hydroxy acids and derivatives
4	galactose-6-phosphate	glucose-6-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	galacturonic acid	galacturonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1	Genistein	genistein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
1,5	Genistin	genistin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides

4	glucoheptulose	(3R,4S,5R,6R)-1,3,4,5,6,7-hexahydroxyheptan-2-one	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	gluconic acid	gluconic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	glucose	glucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	glucose-1-phosphate	glucose-1-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	glucose-6-phosphate	glucose-6-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	glutamic acid	L-glutamic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	glutamine	L-glutamine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	glutaric acid	glutaric acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	glyceric acid	glyceric acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	glycerol	glycerol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	glycerol-3-galactoside	galactosylglycerol	Glycerolipids	Glycosylglycerols
4	glycerol-alpha-phosphate	sn-glycerol 3-phosphate	Glycerophospholipids	Glycerophosphates

4	glycine	glycine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
1	Glycitein	glycitein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
1,5	Glycitin	glycitin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
4	glycolic acid	glycolic acid	Hydroxy acids and derivatives	Alpha hydroxy acids and derivatives
4	guanine	guanine	Imidazopyrimidines	Purines and purine derivatives
4	heptadecanoic acid	heptadecanoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3	Hesperetin	hesperetin	Flavonoids	O-methylated flavonoids
4	hexonic acid	heptanoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	hexose NIST	β -glucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	histidine	L-histidine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	hydroxycarbamate NIST	N-hydroxycarbamate	Organic carbonic acids and derivatives	
4	hydroxylamine	hydroxylamine	Homogeneous other non-metal compounds	
4	inositol-4-monophosphate	[(1S,2R,3S,4R,5S,6S)-2,3,4,5,6-pentahydroxycyclohexyl]oxyphosphonic acid	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
4	inulotriose	(3S,4R,5R)-1-{[(2R,3S,4S,5R)-2-({[(2R,3S,4S,5R)-3,4-dihydroxy-2,5-bis(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]oxy}methyl)-3,4-dihydroxy-5-	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates

		(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]oxy}- 3,4,5,6-tetrahydroxyhexan-2-one		
4	isocitric acid	isocitric acid	Carboxylic acids and derivatives	Tricarboxylic acids and derivatives
4	isoleucine	L-isoleucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Isoliquiritigenin	2',4,4'-trihydroxychalcone	Linear 1,3- diarylpropanoids	Chalcones and dihydrochalcones
4	isothreonic acid	threonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Kynurenic acid	kynurenic acid	Quinolines and derivatives	Quinoline carboxylic acids
4	lactic acid	lactic acid	Hydroxy acids and derivatives	Alpha hydroxy acids and derivatives
4	leucine	leucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	levoglucosan	levoglucosan	Oxepanes	
4	lignoceric acid	lignoceric acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	linoleic acid	linoleic	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
4	linolenic acid	α -linolenic acid	Fatty Acyls	Lineolic acids and derivatives
3	Liquiritigenin	5-deoxyflavanone	Flavonoids	Flavans
3	L-Tryptamine	tryptamine	Indoles and derivatives	Tryptamines and derivatives
3	Luteolin	luteolin	Flavonoids	Flavones
4	lysine	L-lysine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

4	lyxitol	adonitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	lyxose	lyxose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	maleic acid	maleic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	maleimide	maleimide	Pyrrolidines	Pyrrolidones
4	malic acid	malic acid	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives
4	malonic acid	malonic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
5	malonyldaidzin	malonyldaidzin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
5	malonylgenistin	malonylgenistin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
4	maltitol	maltitol	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
4	maltose	maltose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	maltotriose	maltotriose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	melibiose	melibiose	Fatty Acyls	Fatty acyl glycosides
4	methanolphosphate	methyl phosphate	Organic phosphoric acids and derivatives	Phosphate esters
4	methionine	L-methionine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Methoxy-indoleaceticacid	5-methoxyindole-3-acetic acid	Indoles and derivatives	Indolyl carboxylic acids and derivatives

4	methylnonaphthalene NIST	1-methyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene	Phenanthrenes and derivatives	Hydrophenanthrenes
4	montanic acid	octacosanoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	mucic acid	mucin	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	myo-inositol	(-)-inositol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
4	myristic acid	myristic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	N-acetyl-D-galactosamine	GalNAc	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	N-acetyl-D-hexosamine	N-acetyl-D-glucosamine	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	N-acetylmannosamine	N-acetylmannosamine	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Naringin	naringin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
3	Neohesperidin	neohesperidin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
4	nicotianamine	nicotianamine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	nicotinamide	nicotinamide	Pyridines and derivatives	Pyridinecarboxylic acids and derivatives
4	nicotinic acid	niacin	Pyridines and derivatives	Pyridinecarboxylic acids and derivatives
4	N-methylalanine	N-methylalanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

4	O-acetylserine	O-acetyl-L-serine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	octadecanol	stearyl alcohol	Fatty Acyls	Fatty alcohols
4	octanol NIST	octanol	Fatty Acyls	Fatty alcohols
4	oleic acid	oleic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	oxalic acid	oxalic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	oxoproline	pyroglutamate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	palmitic acid	palmitic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3	p-Coumarylalcohol	4-hydroxycinnamyl alcohol	Cinnamyl alcohols	
4	pelargonic acid	nonanoic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	pentitol	adonitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	phenol	phenol	Phenols	1-hydroxy-4-unsubstituted benzenoids
4	phenylalanine	L-phenylalanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	phenylethylamine	phenylethylamine	Benzene and substituted derivatives	Phenethylamines
4	phosphate	phosphate	Non-metal oxoanionic compounds	Non-metal phosphates
4	phytol	phytol	Prenol lipids	Diterpenoids
3	Picolinate	picolinate	Pyridines and derivatives	Pyridinecarboxylic acids and derivatives

4	pipecolic acid	(+,-)-pipecolic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	proline	proline	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	propane-1,3-diol NIST	1,3-propandiol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3	Prunin	prunin	Flavonoids	Flavonoid glycosides
4	putrescine	putrescine	Organonitrogen compounds	Amines
4	pyrophosphate	diphosphate	Non-metal oxoanionic compounds	Non-metal pyrophosphates
4	pyruvic acid	pyruvic acid	Keto acids and derivatives	Alpha-keto acids and derivatives
4	raffinose	raffinose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	ribitol	ribitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	ribose	ribose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	ribose-5-phosphate	ribose-5-phosphate	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	saccharic acid	saccharic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	salicylaldehyde	salicylaldehyde	Organooxygen compounds	Carbonyl compounds

3	Scopoletin	scopoletin	Coumarins and derivatives	Hydroxycoumarins
4	serine	L-serine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Serotonin	serotonin	Indoles and derivatives	Tryptamines and derivatives
4	shikimic acid	(-)-shikimate	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
4	spermidine	spermidine	Organonitrogen compounds	Amines
4	stearic acid	stearic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
4	stigmasterol	stigmasterol	Steroids and steroid derivatives	Stigmastanes and derivatives
4	succinic acid	succinic acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	sucrose	sucrose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	sulfuric acid	sulfuric acid	Non-metal oxoanionic compounds	Non-metal sulfates
4	threitol	(-)-threitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	threonic acid	threonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	threonine	L-threonine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues

4	trans-4-hydroxy-L-proline	hydroxyproline	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	trehalose	α,α' -trehalose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Tricetin	tricetin	Flavonoids	Flavones
4	tryptophan	L-tryptophan	Indoles and derivatives	Indolyl carboxylic acids and derivatives
4	tyrosine	L-tyrosine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	uracil	uracil	Diazines	Pyrimidines and pyrimidine derivatives
4	urea	urea	Organic carbonic acids and derivatives	Ureas
4	uridine	uridine	Pyrimidine nucleosides	
4	valine	L-valine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	xylitol	D-xylitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	xylonic acid isomer	L-xylonic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	xylonolactone NIST	D-xylonolactone	Lactones	Delta valerolactones
4	xylose	α -D-xylopyranose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates

^a Name quoted in the referenced paper

^b Traditional name proposed by Jchem [6]

° Classification proposed by ClassyFire [7]

References

1. Carneiro, A.M.; Moreira, E.A.; Bragagnolo, F.S.; Borges, M.S.; Pilon, A.C.; Rinaldo, D.; Funari, C.S. Soya Agricultural Waste as a Rich Source of Isoflavones. *Food Research International* 2020, 130, doi:10.1016/j.foodres.2019.108949.
2. Seo, W.D.; Kang, J.E.; Choi, S.W.; Lee, K.S.; Lee, M.J.; Park, K. do; Lee, J.H. Comparison of Nutritional Components (Isoflavone, Protein, Oil, and Fatty Acid) and Antioxidant Properties at the Growth Stage of Different Parts of Soybean [Glycine Max (L.) Merrill]. *Food Science and Biotechnology* 2017, 26, 339–347, doi:10.1007/s10068-017-0046-x.
3. Jiang, Z. F.; Liu, D. D.; Wang, T. Q.; Liang, X. L.; Cui, Y. H.; Liu, Z. H.; Li, W. B. Concentration Difference of Auxin Involved in Stem Development in Soybean. *Journal of Integrative Agriculture* 2020, 19, 953–964, doi:10.1016/S2095-3119(19)62676-6.
4. Ranjan, A.; Westrick, N.M.; Jain, S.; Piotrowski, J.S.; Ranjan, M.; Kessens, R.; Stiegman, L.; Grau, C.R.; Conley, S.P.; Smith, D.L.; et al. Resistance against Sclerotinia Sclerotiorum in Soybean Involves a Reprogramming of the Phenylpropanoid Pathway and Up-Regulation of Antifungal Activity Targeting Ergosterol Biosynthesis. *Plant Biotechnology Journal* 2019, 17, 1567–1581, doi:10.1111/pbi.13082.
5. Dresler, S.; Wójciak-Kosior, M.; Sowa, I.; Strzemiński, M.; Sawicki, J.; Kováčik, J.; Blicharski, T. Effect of Long-Term Strontium Exposure on the Content of Phytoestrogens and Allantoin in Soybean. *International Journal of Molecular Sciences* 2018, 19, 3864, doi:10.3390/ijms19123864.
6. ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry & Biology Available online: <https://chemaxon.com/products/marvin>
7. Djoumbou Feunang, Y.; Eisner, R.; Knox, C.; Chepelev, L.; Hastings, J.; Owen, G.; Fahy, E.; Steinbeck, C.; Subramanian, S.; Bolton, E.; et al. ClassyFire: Automated Chemical Classification with a Comprehensive, Computable Taxonomy. *Journal of Cheminformatics* 2016, 8, 1–20, doi:10.1186/s13321-016-0174-y.

Table S4. Metabolites identified in soy pods

Reference	Name ^a	Traditional name ^b	Class ^c	Subclass ^c
6	(E)-2-hexenal	(E)-2-hexenal	Organooxygen compounds	Carbonyl compounds
6	(E)-2-nonen-1-ol	non-2-en-1-ol	Fatty Acyls	Fatty alcohols
6	(Z)-3-hexen-1-ol	leaf alcohol	Fatty Acyls	Fatty alcohols
6	(Z)-3-hexenyl acetate	(Z)-3-hexenyl acetate	Carboxylic acids and derivatives	Carboxylic acid derivatives
3	1,3-Dimethylurate	1,3-dimethyluric acid	Imidazopyrimidines	Purines and purine derivatives
6	1-octen-3-ol	1-octen-3-ol	Fatty Acyls	Fatty alcohols
4	1-Pyrroline-3-hydroxy-5-carboxylic-acid	4-hydroxy-3,4-dihydro-2H-pyrrole-2-carboxylate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	2-Aminoadipate	α -aminoadipate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	2-Hydroxyisobutyrate	α -hydroxyisobutanoate	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
6	3-octanone	3-octanone	Organooxygen compounds	Carbonyl compounds
3	4-Aminobutyrate	4-aminobutanoate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	4-Hydroxyphenylacetate	4-hydroxyphenylacetate	Phenols	1-hydroxy-2-unsubstituted benzenoids
1	7,4'-dihydroxy flavone	7,4'-dihydroxyflavone	Flavonoids	Flavones
3	Acetate	acetate	Carboxylic acids and derivatives	Carboxylic acids
6	Acetyl daidzin	3-(4-hydroxyphenyl)-7- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(methoxymethyl)oxan-2-yl]oxy}chromen-4-one	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
6	Acetyl genistin	2-acetyl-5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7- {[(2S,5S)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}chromen-4-one	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides

6	Acetyl Glycitin	acetylglycitin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
3	Alanine	L-alanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	allo-Inositol	(-)-inositol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
1	Apigenin	chamomile	Flavonoids	Flavones
3	Arginine	arginine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Asparagine	L-asparagine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Aspartate	L-aspartic acid	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Betaine	Bet	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
6	Camphene	camphene	Prenol lipids	Monoterpenoids
3	Carnitine	carnitine	Organonitrogen compounds	Quaternary ammonium salts
3	Choline	choline	Organonitrogen compounds	Quaternary ammonium salts
4	Citric acid	citric acid	Carboxylic acids and derivatives	Tricarboxylic acids and derivatives
1,2,5,6	Daidzein	daidzein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
1,5,6	Daidzin	daidzin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
6	Decanal	decanal	Organooxygen compounds	Carbonyl compounds
6	Dodecane	dodecane	Saturated hydrocarbons	Alkanes
4	D-Pinitol	ononitol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3	Ethanol	ethyl alcohol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3	Formate	formate	Carboxylic acids and derivatives	Carboxylic acids
3	Fumarate	fumarate	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
4	Fumaric acid	fumaric acid	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives

4	Galactose	galactose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
1,6	Genistein	genistein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
1,5,6	Genistin	genistin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
6	Geranyl acetone	geranylacetone	Prenol lipids	Monoterpenoids
3	Glucose	glucose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Glutamate	glutamate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Glutamine	L-glutamine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
1,6	Glycitein	glycitein	Isoflavonoids	Isoflav-2-enes
1,6	Glycitin	glycitin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
4	Glyoxylic acid	glyoxalate, glyoxylate	Carboxylic acids and derivatives	Carboxylic acids
6	Hexadecane	cetane	Saturated hydrocarbons	Alkanes
4	Hexadecanoic acid	palmitic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
6	Hexanol	hexanol	Fatty Acyls	Fatty alcohols
3	Isoleucine	L-isoleucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
5	Kaempferol diglycoside (KD)	5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3- {[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}-7- {[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy}chromen-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
5	Kaempferol triglycoside 1 (KT1)	5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3- {[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-	Flavonoids	Flavonoid glycosides

5	Kaempferol triglycoside 3 (KT3)	({(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}methyl)oxan-2-yl]oxy}-7-{(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy}chromen-4-one 3-({4,5-dihydroxy-3-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]-6-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]methyl}oxan-2-yl}oxy)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one	Flavonoids	Flavonoid glycosides
3	Lactate	lactate	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3	Leucine	leucine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Lysine	L-lysine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	Lyxonic acid	(2S,3S,4R)-2,3,4,5-tetrahydroxypentanoic acid	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	Lyxose	lyxose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
4	Malic acid	malic acid	Hydroxy acids and derivatives	Beta hydroxy acids and derivatives
3	Malonate	malonate	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives
1,5,6	Malonyldaidzin	malonyldaidzin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
5,6	Malonylgenistin	malonylgenistin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
6	MalonylGlycitin	malonylglycitin	Isoflavonoids	Isoflavonoid O-glycosides
4	Mannitol	mannitol	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates

3	Methionine	L-methionine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	myo-Inositol	(-)-inositol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3	N-Acetylglutamate	N-acetylglutamate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
6	Nonanal	nonanal	Organooxygen compounds	Carbonyl compounds
6	Nonanol	nonan-1-ol	Fatty Acyls	Fatty alcohols
4	Octadecanoic acid	stearic acid	Fatty Acyls	Fatty acids and conjugates
3	Pantothenate	pantothenate	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
6	Pentadecane	pentadecane	Saturated hydrocarbons	Alkanes
3	Phenylacetate	phenylacetate	Benzene and substituted derivatives	
3	Phenylalanine	L-phenylalanine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	Phosphoric acid	phosphoric acid	Non-metal oxoanionic compounds	Non-metal phosphates
4	Phosphoric acid monomethyl ester	methyl phosphate	Organic phosphoric acids and derivatives	Phosphate esters
3	pi-Methylhistidine	4-methyl-histidine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Proline	proline	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
3	Propylene glycol	1,2-propanediol	Organooxygen compounds	Alcohols and polyols
3	Pyruvate	pyruvic acid	Keto acids and derivatives	Alpha-keto acids and derivatives
5	quercetin	quercetin	Flavonoids	Flavones
3	Serine	L-serine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
4	Sorbose	sorbose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Succinate	succinate	Carboxylic acids and derivatives	Dicarboxylic acids and derivatives

3	Sucrose	sucrose	Organooxygen compounds	Carbohydrates and carbohydrate conjugates
3	Threonine	L-threonine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
6	Tridecane	tridecane	Saturated hydrocarbons	Alkanes
3	Tryptophan	L-tryptophan	Indoles and derivatives	Indolyl carboxylic acids and derivatives
3	Tyrosine	L-tyrosine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
6	Undecane	undecane	Saturated hydrocarbons	Alkanes
3	Uracil	uracil	Diazines	Pyrimidines and pyrimidine derivatives
3	Valine	L-valine	Carboxylic acids and derivatives	Amino acids, peptides, and analogues
6	α -pinene	α pinene	Prenol lipids	Monoterpenoids

^a Name quoted in the referenced paper

^b Traditional name proposed by Jchem [7]

^c Classification proposed by ClassyFire [8]

Reference

1. Carneiro, A.M.; Moreira, E.A.; Bragagnolo, F.S.; Borges, M.S.; Pilon, A.C.; Rinaldo, D.; Funari, C.S. Soya Agricultural Waste as a Rich Source of Isoflavones. *Food Research International* 2020, 130, doi:10.1016/j.foodres.2019.108949.
2. Seo, W.D.; Kang, J.E.; Choi, S.W.; Lee, K.S.; Lee, M.J.; Park, K. do; Lee, J.H. Comparison of Nutritional Components (Isoflavone, Protein, Oil, and Fatty Acid) and Antioxidant Properties at the Growth Stage of Different Parts of Soybean [Glycine Max (L.) Merrill]. *Food Science and Biotechnology* 2017, 26, 339–347, doi:10.1007/s10068-017-0046-x.
3. Deng, J.C.; Yang, C.Q.; Zhang, J.; Zhang, Q.; Yang, F.; Yang, W.Y.; Liu, J. Organ-Specific Differential Nmr-Based Metabonomic Analysis of Soybean [Glycine Max (L.) Merr.] Fruit Reveals the Metabolic Shifts and Potential Protection Mechanisms Involved in Field Mold Infection. *Frontiers in Plant Science* 2017, 8, doi:10.3389/fpls.2017.00508.

4. Hu, B. yu; Yang, C. qiong; Iqbal, N.; Deng, J. cai; Zhang, J.; Yang, W. yu; Liu, J. Development and Validation of a GC–MS Method for Soybean Organ-Specific Metabolomics. *Plant Production Science* 2018, 21, 215–224, doi:10.1080/1343943X.2018.1488539.
5. Dillon, F.M.; Chludil, H.D.; Mithöfer, A.; Zavala, J.A. Solar UVB-Inducible Ethylene Alone Induced Isoflavonoids in Pods of Field-Grown Soybean, an Important Defense against Stink Bugs. *Environmental and Experimental Botany* 2020, 178, 104167, doi:10.1016/j.envexpbot.2020.104167.
6. Silva, F.A.C.; O-Panizzi, M.C.C.; Blassioli-Moraes, M.C.; Panizzi, A.R. Influence of Volatile and Nonvolatile Secondary Metabolites from Soybean Pods on Feeding and on Oviposition Behavior of *Euschistus Heros* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). *Environmental Entomology* 2013, 42, 1375–1382, doi:10.1603/EN13081.
7. ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry & Biology Available online: <https://chemaxon.com/products/marvin>
8. Djoumbou Feunang, Y.; Eisner, R.; Knox, C.; Chepelev, L.; Hastings, J.; Owen, G.; Fahy, E.; Steinbeck, C.; Subramanian, S.; Bolton, E.; et al. ClassyFire: Automated Chemical Classification with a Comprehensive, Computable Taxonomy. *Journal of Cheminformatics* 2016, 8, 1–20, doi:10.1186/s13321-016-0174-y.

MATERIAL SUPLEMENTAR - CAPÍTULO II

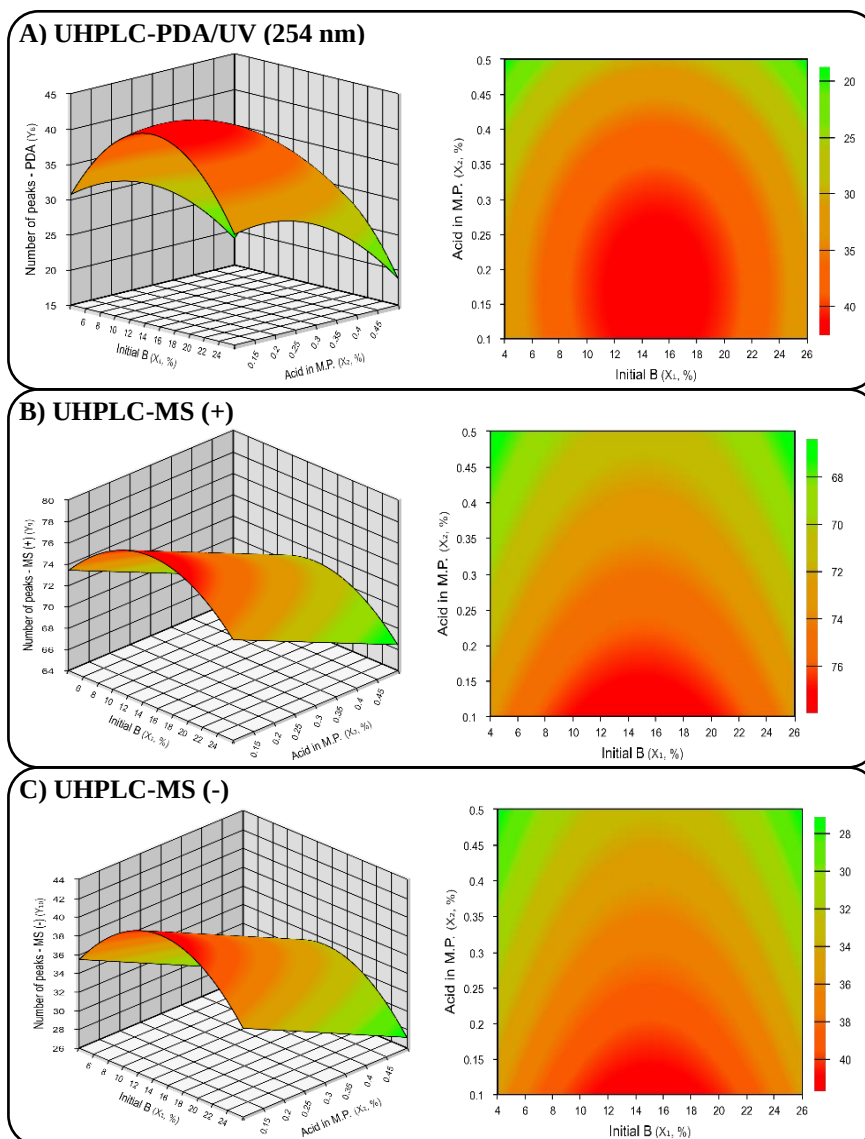


Figure S1. Response surface and contour plot for the total number of peaks in UHPLC-PDA/UV at 254 nm (A), and UHPLC-MS in positive (B) and negative mode (C), respectively, as a function of the variables x_1 (initial % of B) and x_2 (% of HCOOH in the M.P.)

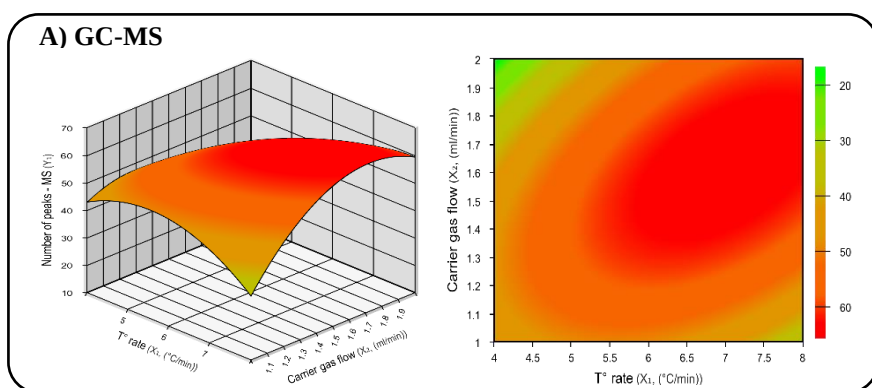


Figure S2. Response surface and contour plot for the total number of peaks GC-MS as a function of the variables x_1 (Ramp rate - °C/min) and x_2 (carrier gas flow – mL/min)

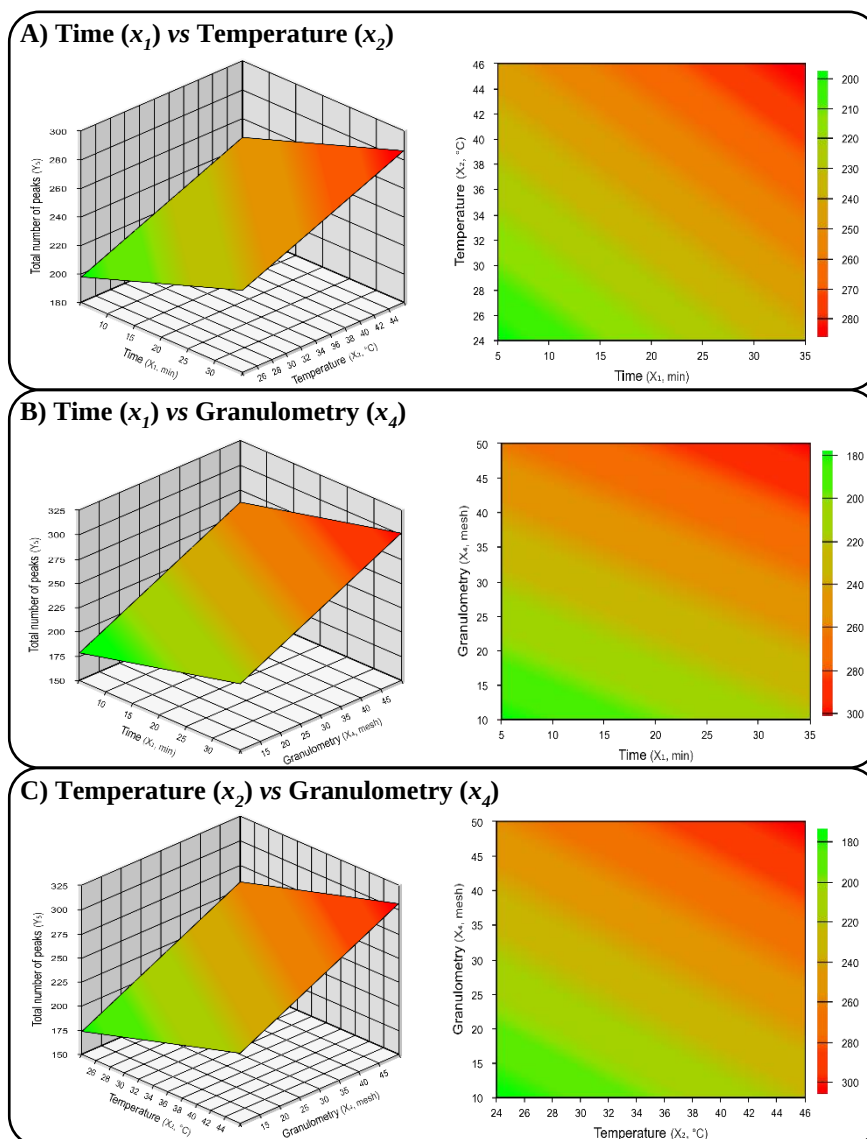


Figure S3. Response surface and contour plot for the 2-Mac using the sum of total number of peaks in UHPLC-PDA/UV-MS and GC-MS as a function of the variables x_1 (time - min), x_2 (temperature – °C), and x_4 (granulometry – mesh size)

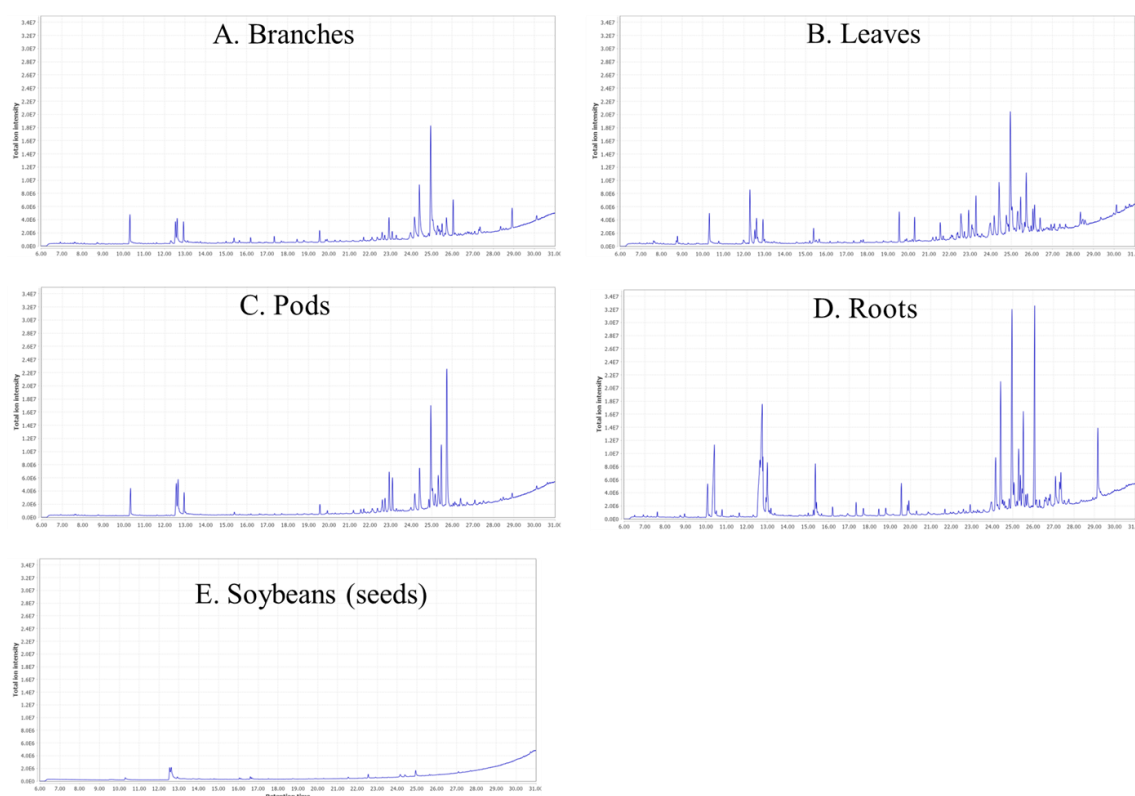


Figure S4. Representative optimized GC-QToF-MS chromatogram of the individual soy by-products, i.e., branches (A), leaves (B), pods (C), and roots(D), and soybeans (E). Column: Agilent Zorbax DB5- MS+10 m – Duragard Capillary Column (30 m × 250 μm × 0.25 μm). Injector and MS transfer line temperature: 330 and 310 °C, respectively. Helium flow rate: 1.6 mL/min. Oven temperature: 150 °C (2 min); followed by 350 °C at the rate of 7 °C/min. Injection volume: 1 μL of *n*-heptane extract (10 mg/mL) with a split flow of 8.4 mL/min.

MATERIAL SUPLEMENTAR - CAPÍTULO III



Figure S1. Equipment used to perform the pressurized Natural Hydrophobic Eutectic Solvents (NaHDES) extraction (ASE 200 device - Dionex, USA), with the bottle of respective solvents maintained at 90 °C.

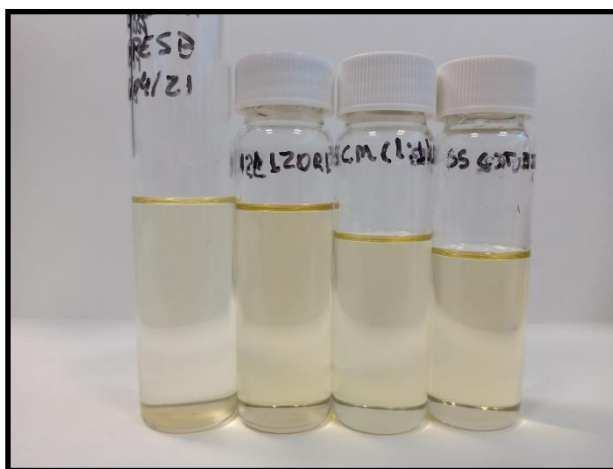


Figure S2. Pressurized *n*-heptane and Natural Hydrophobic Eutectic Solvents (NaHDES) extracts of soybean at 120 °C. As follows: *n*-heptane, eucalyptol:menthol (1:1), camphor:menthol (1:1), camphor:thymol (3:2) extracts.

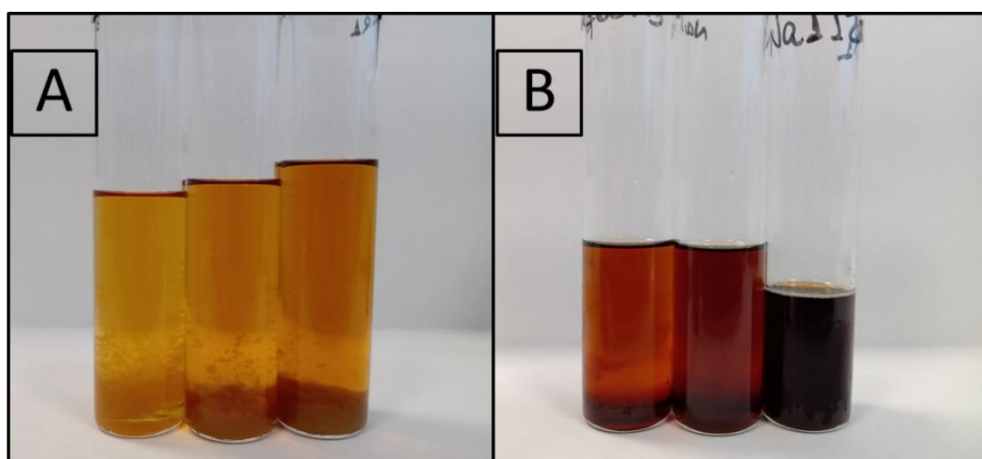


Figure S3. Pressurized EtOH-H₂O 7:3 (v/v) (A) and Natural Eutectic Solvents (NADES) (B) extracts of the mix of soy parts, i.e., branches, leaves, pods, and roots, at 60, 90, and 120 °C, respectively.

Table S1. Natural Hydrophobic Eutectic Solvents (NaHDES) [28–45] with their respective Hansen Solubility Parameters (HSP) and distance (Ra) compared to *n*-heptane. A lower Ra value represents a higher similarity between the NaHDES and *n*-heptane.

Nahdes (molar ratio)	Dtotal	Ptotal	Htotal	Ra	Ref
<i>Heptane</i>	15.30	0.00	0.00	0.00	
Menthol:Eucalyptol(1:1)*	16.59	3.17	4.82	6.33	18
Borneol:Oleic acid(1:4)	16.46	3.08	5.71	6.88	15
Borneol:Oleic acid(1:3)	16.47	3.10	5.76	6.95	15
Borneol:Oleic acid(1:2)	16.50	3.14	5.87	7.08	15
Camphor:Menthol(1:1)*	16.91	4.28	4.71	7.13	10,18
Menthol:Camphor(2:1)	16.77	4.00	5.48	7.39	5,10
Camphor:Thymol(2:1)	17.53	4.80	3.81	7.58	10,13
Camphor:Thymol(3:2)*	17.56	4.72	4.16	7.74	13
Camphor:Thymol(1:1)	17.60	4.60	4.67	8.01	4,5,10,13
Menthol:Myristic acid(8:1)	16.47	3.47	6.86	8.03	18
Menthol:Dodecanoic acid(2:1)	16.42	3.69	7.13	8.33	3,7,11
Perillyl alcohol:Camphor(1:1)	17.35	4.74	5.70	8.47	18
Camphor:Thymol(1:2)	17.67	4.40	5.51	8.49	10,13
Thymol:Menthol(1:2)	16.89	3.65	6.99	8.50	1,10,17
1-Tetradecanol:Menthol(1:2)	16.34	3.38	7.68	8.64	1

Decanoic acid:Menthol(1:2)	16.43	3.74	7.48	8.66	1,5
Thymol:Menthol(1:1)	17.10	3.73	7.04	8.74	1,5,8,10,17
Menthol:Decanoic acid(3:2)	16.42	3.79	7.59	8.77	5,8
Nonanoic acid:Menthol(1:1,5)	16.42	3.85	7.75	8.94	8
Decanoic acid:Menthol(1:1)	16.40	3.86	7.76	8.94	1,5,7,9,11
Menthol:Thymol(1:2)	17.32	3.82	7.09	9.01	10,17
Borneol:Thymol(1:1)	17.34	3.85	7.25	9.17	15
Menthol:Lidocaine(2:1)	17.04	5.31	6.63	9.18	1
Borneol:Thymol(1:2)	17.49	3.90	7.23	9.31	15
Decanoic acid:Palmitic acid(8:1)	16.28	4.06	8.15	9.32	7
Decanoic acid:Myristic acid(5:1)	16.30	4.01	8.18	9.32	7
Octanoic acid:Menthol(1:1,5)	16.43	4.12	8.06	9.33	8
Decanoic acid:dodecanoic acid(2:1)	16.30	4.13	8.19	9.39	2,4,9
Borneol:thymol(1:3)	17.57	3.92	7.23	9.39	15
Menthol:Perillyl alcohol(1:1)	16.87	3.87	7.97	9.40	18
Dodecanoic acid:lidocaine(2:1)	16.84	5.43	7.06	9.42	1
Borneol:thymol(1:4)	17.62	3.94	7.22	9.44	15
Dodecanoic acid:Atropine(2:1)	17.06	4.14	7.72	9.44	1
Borneol:Decanoic acid(1:2)	16.48	4.05	8.21	9.45	15
Decanoic acid:Dodecanoic acid(3:1)	16.30	4.14	8.29	9.48	7
C9:C10:C12 (1:1:1)	16.30	4.18	8.33	9.53	2
Borneol:Decanoic acid(1:3)	16.43	4.09	8.31	9.54	15
Decanoic acid:Thymol(1:1)	16.98	4.11	7.97	9.57	4,5,8,9
Borneol:Decanoic acid(1:4)	16.41	4.11	8.37	9.59	15
C9:C10:C12 (1:2:1)	16.30	4.19	8.40	9.59	2
Menthol:Butyric acid(1:1)	16.20	4.03	8.53	9.60	11
Menthol:Acetic acid(1:1)	16.19	4.23	8.48	9.64	3,11,16
Menthol:Octanoic acid(1:1)	16.41	4.28	8.38	9.67	9,11
C9:C10:C12 (2:1:1)	16.30	4.23	8.51	9.71	2
C9:C10:C12 (2:2:1)	16.30	4.23	8.53	9.72	2

C9:C10:C12 (3:2:1)	16.30	4.25	8.61	9.81	2
C9:C10:C12 (3:1:1)	16.30	4.26	8.62	9.82	2
Nonanoic acid:Dodecanoic acid(3:1)	16.30	4.28	8.62	9.83	2
Nonanoic acid:Thymol(1:1)	17.01	4.21	8.20	9.83	8
C8:C10:C12 (1:1:1)	16.30	4.40	8.58	9.85	2
C8:C9:C12 (1:1:1)	16.30	4.47	8.74	10.02	2
C8:C9:C12 (1:2:1)	16.30	4.45	8.83	10.09	2
Decanoic acid:Lidocaine(2:1)	16.90	5.71	7.70	10.10	1
1-Naphthol:Menthol(1:2)	17.31	4.21	8.27	10.11	1
Decanoic acid:Atropine(2:1)	17.14	4.28	8.40	10.12	1
Menthol:Anisyl alcohol(2:1)	17.18	4.60	8.28	10.19	12
C8:C10:C12 (2:1:1)	16.30	4.57	8.91	10.21	2
Thymol:Lidocaine(2:1)	17.84	5.78	6.78	10.25	1
Atropine:Thymol(1:2)	18.07	4.18	7.60	10.29	1
Menthol:Hexanoic acid(1:1)	16.42	4.43	9.04	10.32	11
C8:C10:C12 (3:2:1)	16.30	4.60	9.03	10.33	2
C8:C9:C12 (2:1:1)	16.30	4.63	9.04	10.35	2
Thymol:Octanoic acid(1:1)	17.05	4.60	8.65	10.41	9
C8:C10:C12 (3:1:1)	16.30	4.68	9.12	10.45	2
C8:C9:C12 (3:2:1)	16.30	4.68	9.21	10.52	2
Decanol:Thymol(1,5:1)	16.71	3.94	9.39	10.56	8
Octanoic acid:Thymol(29:21)	16.93	4.70	8.89	10.57	8
C8:C9:C12 (3:1:1)	16.30	4.73	9.23	10.57	2
Thymol:Lidocaine(1:1)	17.86	6.50	6.61	10.58	1
Thymol:Coumarin(2:1)	18.22	5.81	6.73	10.63	1,10
Octanoic acid:Dodecanoic acid(3:1)	16.30	4.82	9.27	10.63	2,9
Dodecanoic acid:Butyric acid(1:3)	15.91	4.61	9.87	10.96	4
Thymol:Coumarin(1:1)	18.45	6.83	6.46	11.32	1,5,10
Menthol:Anisyl alcohol(1:1)	17.58	5.26	9.10	11.46	12
Menthol:Levulinic acid(1:1)	16.79	5.99	9.39	11.53	11

Octanol:Thymol(2:1)	16.67	4.27	10.60	11.75	8
1,2-Decanediol:Thymol(1:2)	17.27	4.53	10.14	11.78	1
Dodecanoic acid:Hexanoic acid(1:3)	16.30	5.13	10.45	11.81	4
Coumarin:Thymol(2:1)	18.71	7.94	6.17	12.15	10
Menthol:Anisyl alcohol(1:2)	18.04	6.02	10.05	12.93	12
Menthol:Lactic acid(1:1)	16.78	5.66	11.30	12.98	5
Imidazole:Acetic acid(1:2)	16.85	8.77	13.01	13.12	14
Imidazole:Octanoic acid(1:2)	16.89	6.46	10.43	13.16	14
Imidazole:Butyric acid(1:2)	16.69	7.06	11.85	13.32	14
Menthol:Acetic acid(1:2)	16.00	4.68	9.46	13.51	14
Pyrazole:Octanoic acid(1:2)	16.97	6.10	10.50	13.54	14
Menthol:Octanoic acid(1:2)	16.37	4.57	8.92	13.64	14
Pyrazole:Decanoic acid(1:2)	16.88	5.12	9.16	13.66	14
Imidazole:Hexanoic acid(1:2)	17.01	7.20	12.16	13.69	14
Menthol:Butyric acid(1:2)	16.05	4.30	9.34	13.83	14
Pyrazole:Acetic acid(1:2)	17.04	7.99	13.16	13.83	14
Menthol:Hexanoic acid(1:2)	16.38	4.82	9.95	13.85	14
Pyrazole:Butyric acid(1:2)	16.82	6.51	11.96	13.89	14
Menthol:Pyrazole(3:1)	16.89	4.24	7.49	13.89	14
Benzyl alcohol:Thymol(4:1)	18.67	5.45	11.03	14.03	8
Pyrazole:Hexanoic acid(1:2)	17.11	6.76	12.24	14.12	14
Menthol:Pyruvic acid(1:2)	17.07	7.71	11.33	14.15	3,11
Thymol:Lactic acid(1:1)	17.70	6.25	12.02	14.38	5
Menthol:lactic acid(1:2)	16.94	6.86	13.75	15.72	3
Leucine:Lactic acid(1:3)	17.01	8.58	18.76	20.91	6
Arginine:Lactic acid(1:3)	17.23	10.51	18.37	21.52	6
Leucine:Lactic acid(1:4)	17.10	9.02	19.38	21.68	6
Arginine:Lactic acid(1:4)	17.27	10.61	19.05	22.16	6
Leucine:Lactic acid(1:5)	17.16	9.32	19.83	22.22	6
Arginine:Lactic acid(1:5)	17.31	10.68	19.54	22.62	6

Serine:Lactic acid(1:5)	17.54	11.21	22.74	25.74	6
Serine:Lactic acid(1:4)	17.54	11.23	22.80	25.81	6
Serine:Lactic acid(1:3)	17.55	11.26	22.90	25.91	6

*NaHDES selected to defat soybeans using PLE

REFERENCES

- [1] D.J. Newman, G.M. Cragg, Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019, *J Nat Prod.* 83 (2020) 770–803.
https://doi.org/10.1021/ACS.JNATPROD.9B01285/SUPPL_FILE/NP9B01285_SI_009.PDF.
- [2] F. Zhang, T. Wang, X. Wang, X. Lü, Apple pomace as a potential valuable resource for full-components utilization: A review, *J Clean Prod.* 329 (2021) 129676.
<https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2021.129676>.
- [3] M.R. da Silva, F.S. Bragagnolo, R.L. Carneiro, I. de Oliveira Carvalho Pereira, J.A.A. Ribeiro, C. Martins, R.E. Jelley, B. Fedrizzi, C.S. Funari, Metabolite characterization of fifteen by-products of the coffee production chain: from farm to factory, *Food Chem.* (2021) 130753.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130753>.
- [4] Z.J. Suárez Montenegro, G. Álvarez-Rivera, J.A. Mendiola, E. Ibáñez, A. Cifuentes, Extraction and Mass Spectrometric Characterization of Terpenes Recovered from Olive Leaves Using a New Adsorbent-Assisted Supercritical CO₂ Process, *Foods* 2021, Vol. 10, Page 1301. 10 (2021) 1301.
<https://doi.org/10.3390/FOODS10061301>.
- [5] F.S. Bragagnolo, C.S. Funari, E. Ibáñez, A. Cifuentes, Metabolomics as a Tool to Study Underused Soy Parts: In Search of Bioactive Compounds, *Foods* 2021, Vol. 10, Page 1308. 10 (2021) 1308.
<https://doi.org/10.3390/FOODS10061308>.
- [6] Y.R. Choi, J. Shim, M.J. Kim, Genistin: A Novel Potent Anti-Adipogenic and Anti-Lipogenic Agent, *Molecules* 2020, Vol. 25, Page 2042. 25 (2020) 2042. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25092042>.
- [7] S.T. Hwang, M.H. Yang, S.H. Baek, J.Y. Um, K.S. Ahn, Genistin attenuates cellular growth and promotes apoptotic cell death breast cancer cells through modulation of ERalpha signaling pathway, *Life Sci.* 263 (2020) 118594. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118594>.
- [8] Y. Xu, X. Li, H. Wang, Protective Roles of Apigenin Against Cardiometabolic Diseases: A Systematic Review, *Front Nutr.* 0 (2022) 644. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.875826>.
- [9] L. Schnarr, M.L. Segatto, O. Olsson, V.G. Zuin, K. Kümmerer, Flavonoids as biopesticides – Systematic assessment of sources, structures, activities and environmental fate, *Science of The Total Environment.* 824 (2022) 153781. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.153781>.
- [10] A.M. Carneiro, E.A. Moreira, F.S. Bragagnolo, M.S. Borges, A.C. Pilon, D. Rinaldo, C.S. Funari, Soya agricultural waste as a rich source of isoflavones, *Food Research International.* 130 (2020).
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108949>.
- [11] F.S. Bragagnolo, G. Álvarez-Rivera, M.C. Breitzkreitz, E. Ibáñez, A. Cifuentes, C.S. Funari, Metabolite Profiling of Soy By-Products: A Comprehensive Approach, *J Agric Food Chem.* 70 (2022) 7321–7341.
<https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.2C01050>.

- [12] Oilseeds: World Markets and Trade | USDA Foreign Agricultural Service, (n.d.). <https://www.fas.usda.gov/data/oilseeds-world-markets-and-trade> (accessed May 15, 2022).
- [13] E. Potrich, S.C. Miyoshi, P.F.S. Machado, F.F. Furlan, M.P.A. Ribeiro, P.W. Tardioli, R.L.C. Giordano, A.J.G. Cruz, R.C. Giordano, Replacing hexane by ethanol for soybean oil extraction: Modeling, simulation, and techno-economic-environmental analysis, *J Clean Prod.* 244 (2020) 118660. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2019.118660>.
- [14] S. Jokić, B. Nagy, Z. Zeković, S. Vidović, M. Bilić, D. Velić, B. Simándi, Effects of supercritical CO₂ extraction parameters on soybean oil yield, *Food and Bioproducts Processing.* 90 (2012) 693–699. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2012.03.003>.
- [15] O. Claux, V. Rapinel, P. Goupy, N. Patouillard, M.A. Vian, L. Jacques, F. Chemat, Dry and Aqueous 2-Methyloxolane as Green Solvents for Simultaneous Production of Soybean Oil and Defatted Meal, *ACS Sustain Chem Eng.* 9 (2021) 7211–7223. <https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.0C09252>.
- [16] A. del P. Sánchez-Camargo, M. Bueno, F. Parada-Alfonso, A. Cifuentes, E. Ibáñez, Hansen solubility parameters for selection of green extraction solvents, *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 118 (2019) 227–237. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2019.05.046>.
- [17] UN DP, Goal 12: Responsible consumption and production, United Nations Development Programme. (2016). <http://www.undp.org/content/undp/en/home/sustainable-development-goals/goal-12-responsible-consumption-and-production.html>.
- [18] Y.H. Choi, J. van Spronsen, Y. Dai, M. Verberne, F. Hollmann, I.W.C.E. Arends, G.J. Witkamp, R. Verpoorte, Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology?, *Plant Physiol.* 156 (2011) 1701–1705. <https://doi.org/10.1104/PP.111.178426>.
- [19] K.C. Duru, G.P. Slesarev, S.A. Aboushanab, I.S. Kovalev, D.M. Zeidler, E.G. Kovaleva, R. Bhat, An eco-friendly approach to enhance the extraction and recovery efficiency of isoflavones from kudzu roots and soy molasses wastes using ultrasound-assisted extraction with natural deep eutectic solvents (NADES), *Ind Crops Prod.* 182 (2022) 114886. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2022.114886>.
- [20] G. Alvarez-Rivera, M. Bueno, D. Ballesteros-Vivas, J.A. Mendiola, E. Ibáñez, Pressurized liquid extraction, in: C.F. Poole (Ed.), *Liquid-Phase Extraction*, Elsevier, 2019: pp. 375–398. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816911-7.00013-X>.
- [21] L. Loarce, R. Oliver-Simancas, L. Marchante, M.C. Díaz-Maroto, M.E. Alañón, Implementation of subcritical water extraction with natural deep eutectic solvents for sustainable extraction of phenolic compounds from winemaking by-products, *Food Research International.* 137 (2020) 109728. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109728>.
- [22] L. Loarce, R. Oliver-Simancas, L. Marchante, M.C. Díaz-Maroto, M.E. Alañón, Modifiers based on natural deep eutectic mixtures to enhance anthocyanins isolation from grape pomace by pressurized hot water extraction, *LWT.* 149 (2021) 111889. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111889>.
- [23] L. Benvenuti, A.A.F. Zielinski, S.R.S. Ferreira, Pressurized aqueous solutions of deep eutectic solvent (DES): A green emergent extraction of anthocyanins from a Brazilian berry processing by-product, *Food Chem X.* 13 (2022) 100236. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2022.100236>.
- [24] M. Herrero, J.A. Mendiola, E. Ibáñez, Gas expanded liquids and switchable solvents, *Curr Opin Green Sustain Chem.* 5 (2017) 24–30. <https://doi.org/10.1016/J.COGSC.2017.03.008>.

- [25] D. Prat, A. Wells, J. Hayler, H. Sneddon, C.R. McElroy, S. Abou-Shehada, P.J. Dunn, CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents, *Green Chemistry*. 18 (2015) 288–296. <https://doi.org/10.1039/c5gc01008j>.
- [26] P.M. Nowak, R. Wietecha-Posłuszny, J. Pawliszyn, White Analytical Chemistry: An approach to reconcile the principles of Green Analytical Chemistry and functionality, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 138 (2021) 116223. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2021.116223>.
- [27] A. del Pilar Sánchez-Camargo, N. Pleite, M. Herrero, A. Cifuentes, E. Ibáñez, B. Gilbert-López, New approaches for the selective extraction of bioactive compounds employing bio-based solvents and pressurized green processes, *J Supercrit Fluids*. 128 (2017) 112–120. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2017.05.016>.
- [28] D.J.G.P.G.P. van Osch, C.H.J.T.J.T. Dietz, J. van Spronsen, M.C. Kroon, F. Gallucci, M. van Sint Annaland, R. Tuinier, M. Van, S. Annaland, R. Tuinier, A Search for Natural Hydrophobic Deep Eutectic Solvents Based on Natural Components, *ACS Sustain Chem Eng*. 7 (2019) 2933–2942. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b03520>.
- [29] C. Florindo, L. Romero, I. Rintoul, L.C. Branco, I.M. Marrucho, From Phase Change Materials to Green Solvents: Hydrophobic Low Viscous Fatty Acid-Based Deep Eutectic Solvents, *ACS Sustain Chem Eng*. 6 (2018) 3888–3895. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b04235>.
- [30] B.D. Ribeiro, C. Florindo, L.C. Iff, M.A.Z. Coelho, I.M. Marrucho, Menthol-based eutectic mixtures: Hydrophobic low viscosity solvents, *ACS Sustain Chem Eng*. 3 (2015) 2469–2477. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00532>.
- [31] D.C. Morelli, G. Bernardi, L. Morés, M.E. Pierri, E. Carasek, A green - high throughput –extraction method based on hydrophobic natural deep eutectic solvent for the determination of emerging contaminants in water by high performance liquid chromatography – diode array detection, *J Chromatogr A*. 1626 (2020) 461377. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461377>.
- [32] X. Ye, B. Ye, J. Xu, M. Fang, D. Dong, C. Wu, X. Lin, Y. Hu, X. Cao, W. Mo, A modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method with hydrophobic natural deep eutectic solvent as extractant and analyte protectant for analyzing pyrethroid residues in tomatoes, *J Sep Sci*. 43 (2020) 3546–3554. <https://doi.org/10.1002/jssc.202000547>.
- [33] N.N. Nia, M.R. Hadjmohammadi, Amino acids- based hydrophobic natural deep eutectic solvents as a green acceptor phase in two-phase hollow fiber-liquid microextraction for the determination of caffeic acid in coffee, green tea, and tomato samples, *Microchemical Journal*. 164 (2021) 106021. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106021>.
- [34] M.B. Haider, M. Dwivedi, D. Jha, R. Kumar, B. Marriyappan Sivagnanam, Azeotropic separation of isopropanol-water using natural hydrophobic deep eutectic solvents, *J Environ Chem Eng*. 9 (2021) 104786. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104786>.
- [35] H. Sereshti, S. Semnani Jazani, N. Nouri, G. Shams, Dispersive liquid–liquid microextraction based on hydrophobic deep eutectic solvents: Application for tetracyclines monitoring in milk, *Microchemical Journal*. 158 (2020) 105269. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105269>.
- [36] O.G. Sas, M. Castro, Á. Domínguez, B. González, Removing phenolic pollutants using Deep Eutectic Solvents, *Sep Purif Technol*. 227 (2019) 115703. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.115703>.

- [37] F.A. Hansen, E. Santigosa-Murillo, M. Ramos-Payán, M. Muñoz, E. Leere Øiestad, S. Pedersen-Bjergaard, Electromembrane extraction using deep eutectic solvents as the liquid membrane, *Anal Chim Acta*. 1143 (2021) 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.11.044>.
- [38] C. Florindo, L.C. Branco, I.M. Marrucho, Development of hydrophobic deep eutectic solvents for extraction of pesticides from aqueous environments, *Fluid Phase Equilib*. 448 (2017) 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2017.04.002>.
- [39] Y. Fan, H. Wu, D. Cai, T. Yang, L. Yang, Effective extraction of harmine by menthol/anise alcohol-based natural deep eutectic solvents, *Sep Purif Technol*. 250 (2020) 117211. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117211>.
- [40] Y. Li, X. Li, S. Tang, Y. Yang, Emulsification liquid–liquid micro-extraction based on natural deep eutectic solvent for (triarylmethane) dyes determination, *Chemical Papers*. 74 (2020) 3617–3626. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01184-4>.
- [41] C. Lo, J. Semerel, C. van den Berg, R.H. Wijffels, M.H.M. Eppink, Eutectic solvents with tuneable hydrophobicity: lipid dissolution and recovery, *RSC Adv*. 11 (2021) 8142–8149. <https://doi.org/10.1039/d1ra00306b>.
- [42] S.M. Majidi, M.R. Hadjmohammadi, Hydrophobic borneol-based natural deep eutectic solvents as a green extraction media for air-assisted liquid-liquid micro-extraction of warfarin in biological samples, *J Chromatogr A*. 1621 (2020) 461030. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461030>.
- [43] C. Ortega-Zamora, J. González-Sálamo, J. González-Sálamo, C. Hernández-Sánchez, C. Hernández-Sánchez, J. Hernández-Borges, J. Hernández-Borges, Menthol-Based Deep Eutectic Solvent Dispersive Liquid-Liquid Microextraction: A Simple and Quick Approach for the Analysis of Phthalic Acid Esters from Water and Beverage Samples, *ACS Sustain Chem Eng*. 8 (2020) 8783–8794. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c02603>.
- [44] Á. Santana-Mayor, B. Socas-Rodríguez, R. Rodríguez-Ramos, A. v. Herrera-Herrera, M.Á. Rodríguez-Delgado, Quality assessment of environmental water by a simple and fast non-ionic hydrophobic natural deep eutectic solvent-based extraction procedure combined with liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of plastic migrants, *Anal Bioanal Chem*. 413 (2021) 1967–1981. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03166-1>.
- [45] L.A. Rodrigues, C. v. Pereira, I.C. Leonardo, N. Fernández, F.B. Gaspar, J.M. Silva, R.L. Reis, A.R.C. Duarte, A. Paiva, A.A. Matias, Terpene-Based Natural Deep Eutectic Systems as Efficient Solvents to Recover Astaxanthin from Brown Crab Shell Residues, *ACS Sustain Chem Eng*. 8 (2020) 2246–2259. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06283>.
- [46] C.C. Fernandes, R. Haghighbakhsh, R. Marques, A. Paiva, L. Carlyle, A.R.C. Duarte, Evaluation of Deep Eutectic Systems as an Alternative to Solvents in Painting Conservation, *ACS Sustain Chem Eng*. 9 (2021) 15451–15460. <https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.1C04591>.
- [47] N. Tang, J. Zhong, W. Yan, Solubilities of three flavonoids in different natural deep eutectic solvents at T = (288.15 to 328.15) K, *J Chem Eng Data*. 61 (2016) 4203–4208. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.6b00552>.
- [48] S. Bajkacz, J. Adamek, Evaluation of new natural deep eutectic solvents for the extraction of isoflavones from soy products, *Talanta*. 168 (2017) 329–335. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2017.02.065>.

- [49] F.A. Reyes, J.A. Mendiola, E. Ibañez, J.M. del Valle, Astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis* using CO₂-expanded ethanol, *J Supercrit Fluids*. 92 (2014) 75–83. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2014.05.013>.
- [50] M. Koşar, H.J.D. Dorman, R. Hiltunen, Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species, *Food Chem*. 91 (2005) 525–533. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.06.029>.
- [51] R.G. Woisky, A. Salatino, Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control, <http://Dx.Doi.Org/10.1080/00218839.1998.11100961>. 37 (2015) 99–105. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100961>.
- [52] B. Ou, M. Hampsch-Woodill, R.L. Prior, Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe, *J Agric Food Chem*. 49 (2001) 4619–4626. <https://doi.org/10.1021/JF010586O>.
- [53] P. Ninfali, G. Mea, S. Giorgini, M. Rocchi, M. Bacchiocca, Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition, *British Journal of Nutrition*. 93 (2005) 257–266. <https://doi.org/10.1079/BJN20041327>.
- [54] M. Wang, J.J. Carver, V. v. Phelan, L.M. Sanchez, N. Garg, Y. Peng, D.D. Nguyen, J. Watrous, C.A. Kapon, T. Luzzatto-Knaan, C. Porto, A. Bouslimani, A. v. Melnik, M.J. Meehan, W.T. Liu, M. Crusemann, P.D. Boudreau, E. Esquenazi, M. Sandoval-Calderón, R.D. Kersten, L.A. Pace, R.A. Quinn, K.R. Duncan, C.C. Hsu, D.J. Floros, R.G. Gavilan, K. Kleigrew, T. Northen, R.J. Dutton, D. Parrot, E.E. Carlson, B. Aigle, C.F. Michelsen, L. Jelsbak, C. Sohlenkamp, P. Pevzner, A. Edlund, J. McLean, J. Piel, B.T. Murphy, L. Gerwick, C.C. Liaw, Y.L. Yang, H.U. Humpf, M. Maansson, R.A. Keyzers, A.C. Sims, A.R. Johnson, A.M. Sidebottom, B.E. Sedio, A. Klitgaard, C.B. Larson, C.A.P. Boya, D. Torres-Mendoza, D.J. Gonzalez, D.B. Silva, L.M. Marques, D.P. Demarque, E. Pociute, E.C. O'Neill, E. Briand, E.J.N. Helfrich, E.A. Granatosky, E. Glukhov, F. Ryffel, H. Houson, H. Mohimani, J.J. Kharbush, Y. Zeng, J.A. Vorholt, K.L. Kurita, P. Charusanti, K.L. McPhail, K.F. Nielsen, L. Vuong, M. Elfeki, M.F. Traxler, N. Engene, N. Koyama, O.B. Vining, R. Baric, R.R. Silva, S.J. Mascuch, S. Tomasi, S. Jenkins, V. Macherla, T. Hoffman, V. Agarwal, P.G. Williams, J. Dai, R. Neupane, J. Gurr, A.M.C. Rodríguez, A. Lamsa, C. Zhang, K. Dorrestein, B.M. Duggan, J. Almaliti, P.M. Allard, P. Phapale, L.F. Nothias, T. Alexandrov, M. Litaudon, J.L. Wolfender, J.E. Kyle, T.O. Metz, T. Peryea, D.T. Nguyen, D. VanLeer, P. Shinn, A. Jadhav, R. Müller, K.M. Waters, W. Shi, X. Liu, L. Zhang, R. Knight, P.R. Jensen, B. Palsson, K. Pogliano, R.G. Linington, M. Gutiérrez, N.P. Lopes, W.H. Gerwick, B.S. Moore, P.C. Dorrestein, N. Bandeira, Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking, *Nat Biotechnol*. 34 (2016). <https://doi.org/10.1038/nbt.3597>.
- [55] M. Katajamaa, J. Miettinen, M. Orešič, MZmine: Toolbox for processing and visualization of mass spectrometry based molecular profile data, *Bioinformatics*. 22 (2006). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btk039>.
- [56] T. Pluskal, S. Castillo, A. Villar-Briones, M. Orešič, MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data, *BMC Bioinformatics*. 11 (2010) 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-395/TABLES/3>.
- [57] Registration Dossier - ECHA, (n.d.). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/10569/7/3/2> (accessed November 24, 2021).
- [58] Registration Dossier - ECHA, (n.d.). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13231/7/3/2> (accessed November 24, 2021).

- [59] Registration Dossier - ECHA, (n.d.). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13758/7/3/4> (accessed November 24, 2021).
- [60] Registration Dossier - ECHA, (n.d.). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/11030/7/3/4> (accessed November 24, 2021).
- [61] H. Gasparetto, F. de Castilhos, N. Paula Gonçalves Salau, Recent advances in green soybean oil extraction: A review, *J Mol Liq.* 361 (2022) 119684. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2022.119684>.
- [62] J.L.A. Dagostin, D. Carpiné, M.L. Corazza, Extraction of soybean oil using ethanol and mixtures with alkyl esters (biodiesel) as co-solvent: Kinetics and thermodynamics, *Ind Crops Prod.* 74 (2015) 69–75. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.04.054>.
- [63] J.L.A. Dagostin, D. Carpiné, P.R.S. dos Santos, M.L. Corazza, LIQUID-LIQUID EQUILIBRIUM AND KINETICS OF ETHANOLIC EXTRACTION OF SOYBEAN OIL USING ETHYL ACETATE AS CO-SOLVENT, *Brazilian Journal of Chemical Engineering.* 35 (2018) 415–428. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20180352S20160175>.
- [64] S. Bertouche, V. Tomao, A. Hellal, C. Boutekedjiret, F. Chemat, First approach on edible oil determination in oilseeds products using alpha-pinene, <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2013.782473>. 25 (2013) 439–443. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.782473>.
- [65] A.G. Sicaire, M. Vian, F. Fine, F. Joffre, P. Carré, S. Tostain, F. Chemat, Alternative Bio-Based Solvents for Extraction of Fat and Oils: Solubility Prediction, Global Yield, Extraction Kinetics, Chemical Composition and Cost of Manufacturing, *International Journal of Molecular Sciences* 2015, Vol. 16, Pages 8430–8453. 16 (2015) 8430–8453. <https://doi.org/10.3390/IJMS16048430>.
- [66] A.G. Sicaire, M. Abert Vian, F. Fine, P. Carré, S. Tostain, F. Chemat, Experimental approach versus COSMO-RS assisted solvent screening for predicting the solubility of rapeseed oil, *OCL.* 22 (2015) D404. <https://doi.org/10.1051/OCL/2015010>.
- [67] M.M. Cascant, C. Breil, S. Garrigues, M. de la Guardia, A.S. Fabiano-Tixier, F. Chemat, A green analytical chemistry approach for lipid extraction: computation methods in the selection of green solvents as alternative to hexane, *Anal Bioanal Chem.* 409 (2017) 3527–3539. <https://doi.org/10.1007/S00216-017-0323-9/FIGURES/7>.
- [68] S.A. Aboushanab, V.A. Shevyrin, G.P. Slesarev, V. v. Melekhin, A. v. Shcheglova, O.G. Makeev, E.G. Kovaleva, K.H. Kim, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Kudzu Roots and Soy Molasses against Pediatric Tumors and Phytochemical Analysis of Isoflavones Using HPLC-DAD-ESI-HRMS, *Plants* 2022, Vol. 11, Page 741. 11 (2022) 741. <https://doi.org/10.3390/PLANTS11060741>.
- [69] O. Rachmaniah, E.G. Wilson, Y.H. Choi, G.-J. Witkamp, R. Verpoorte, Pressurized Natural Deep Eutectic Solvent Extraction of Galanthamine and Related Alkaloids from *Narcissus pseudonarcissus*, *Planta Med.* (2022). <https://doi.org/10.1055/A-1803-3259>.
- [70] I. Cabezudo, M.R. Meini, C.C. di Ponte, N. Melnichuk, C.E. Boschetti, D. Romanini, Soybean (Glycine max) hull valorization through the extraction of polyphenols by green alternative methods, *Food Chem.* 338 (2021) 128131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128131>.
- [71] S. Gupta, W.N. Chen, A metabolomics approach to evaluate post-fermentation enhancement of daidzein and genistein in a green okara extract, *J Sci Food Agric.* n/a (2021) jsfa.11158. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11158>.

- [72] E. Dorta, E.M. Rodríguez-Rodríguez, A. Jiménez-Quezada, E. Fuentes-Lemus, H. Speisky, E. Lissi, C. López-Alarcón, Use of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay to Predict the Capacity of Mango (*Mangifera indica* L.) By-Products to Inhibit Meat Protein Oxidation, *Food Anal Methods*. 10 (2017) 330–338. <https://doi.org/10.1007/S12161-016-0584-5/FIGURES/4>.
- [73] F.S. Bragagnolo, G. Álvarez-Rivera, M.C. Breitzkreitz, E. Ibáñez, A. Cifuentes, C.S. Funari, Metabolite Profiling of Soy By-Products: A Comprehensive Approach, *J Agric Food Chem*. 70 (2022) 35. https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.2C01050/SUPPL_FILE/JF2C01050_SI_001.PDF.
- [74] B. Li, Y. Hu, T. Wu, Y. Feng, C. Jiang, H. Du, S. Lu, Apigenin-oxymatrine binary co-amorphous mixture: Enhanced solubility, bioavailability, and anti-inflammatory effect, *Food Chem*. 373 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.131485>.
- [75] H.F. Jheng, K. Hayashi, Y. Matsumura, T. Kawada, S. Seno, H. Matsuda, K. Inoue, W. Nomura, H. Takahashi, T. Goto, Anti-Inflammatory and Antioxidative Properties of Isoflavones Provide Renal Protective Effects Distinct from Those of Dietary Soy Proteins against Diabetic Nephropathy, *Mol Nutr Food Res*. 64 (2020) 2000015. <https://doi.org/10.1002/MNFR.202000015>.
- [76] X. Ji, K. Liu, Q. Li, Q. Shen, F. Han, Q. Ye, C. Zheng, A Mini-Review of Flavone Isomers Apigenin and Genistein in Prostate Cancer Treatment, *Front Pharmacol*. 13 (2022) 269. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2022.851589/BIBTEX>.
- [77] B.E. Harlow, M.D. Flythe, I.A. Kagan, J.P. Goodman, J.L. Klotz, G.E. Aiken, Isoflavone supplementation, via red clover hay, alters the rumen microbial community and promotes weight gain of steers grazing mixed grass pastures, *PLoS One*. 15 (2020) e0229200. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0229200>.
- [78] Z. Yang, X. Tan, Z. Zhang, J. Han, S. Qu, T. Liu, G. Wang, Ononin: A candidate anti-parasitic drug isolated from *Spatholobi caulis* against infections of *Dactylogyrus intermedius* (Monogenea), *Parasitol Int*. 88 (2022) 102535. <https://doi.org/10.1016/J.PARINT.2021.102535>.
- [79] M.A. Rostagno, M. Palma, C.G. Barroso, Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans, *Anal Chim Acta*. 522 (2004) 169–177. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2004.05.078>.
- [80] A. Mišan, J. Nađpal, A. Stupar, M. Pojić, A. Mandić, R. Verpoorte, Y.H. Choi, The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector, <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1650717>. 60 (2019) 2564–2592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1650717>.

MATERIAL SUPLEMENTAR - CAPÍTULO IV