



Investigating the effect of hydrolyzed soy on the aging process in fibroblast cells

Faride Ghodsi¹, Elahe Vedaye Kheiry^{2*}

¹ Parshan Tos Azma Company, Mashhad health science and Technology Park-Bu Ali Research -Institute, Mashhad, Iran

² Department of Biology, Research Center for Applied Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Received: 2026/05/30

Revised: 2026/06/20

Accepted: 2026/07/09

Abstract

Skin aging is a complex, multifactorial process that is significantly influenced by ultraviolet (UV) radiation. This radiation induces the generation of reactive oxygen species (ROS), leading to collagen degradation and ultimately resulting in wrinkle formation. Soybean seed extract has been the subject of extensive research due to its antioxidant, antiproliferative, and anticancer properties. In the present study, alkaline hydrolysates derived from soybean were evaluated using the biuret test, ash content analysis, Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy, and the DPPH antioxidant activity assay. The antimicrobial effect of the samples was also assessed by determining the minimum inhibitory concentration (MIC). In addition, the impact of soybean hydrolysates on the viability and proliferation of murine L929 fibroblast cells, as well as their protective role against oxidative stress induced by hydrogen peroxide (as an induced aging model), were investigated using the MTT assay. The findings indicated that alkaline soybean hydrolysates are rich in proteinaceous compounds and possess high antioxidant capacity, yet exhibit no inhibitory effect on microbial growth (based on the MIC test). Evaluation of these hydrolysates on healthy cells revealed a significant increase in proliferation across all tested concentrations. Furthermore, MTT results on hydrogen peroxide-induced senescent fibroblasts demonstrated the highest protective effect at a dilution of 1:64, while the weakest protection was observed at 1:8. Overall, it can be concluded that soy protein hydrolysate, at an appropriate concentration, may serve as a natural and safe compound for use in cosmetic and personal care products, with the aim of providing cellular protection against oxidative aging.

Keywords: Skin aging, fibroblasts, soy hydrolysate, L929

Cite this article: Ghodsi F., Vedaye Kheiry E. Investigating the effect of hydrolyzed soy on the aging process in fibroblast cells. *Informatics in Biology, Health, and Food*. 2026;3(1):38-49.

Copyright©: The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education

Corresponding author: Elaheh Vedaye Kheiry

Email: vadayee@yahoo.com



بررسی اثر سویای هیدرولیز شده بر فرآیند پیری در سلول‌های فیبروبلاست

فریده قدسی^۱، الهه ودایع خیری^{۲*}

^۱ شرکت پرشان توس آزما، پارک علم و فناوری سلامت مشهد، پژوهشکده بوعلی، مشهد، ایران

^۲ مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

پذیرش: ۱۴۰۵/۴/۱۸

بازنگری: ۱۴۰۵/۳/۳۰

دریافت: ۱۴۰۵/۳/۹

چکیده

پیری پوست، فرایندی پیچیده و چندعاملی است که به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر تابش فرابنفش (UV) قرار می‌گیرد. این اشعه با القای تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، به تخریب کلاژن و در نهایت، ایجاد چین‌وچروک می‌انجامد. عصاره دانه‌های سویا به‌دلیل دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدتکثیری و ضدسرطانی، موضوع پژوهش‌های گسترده‌ای بوده است. در مطالعه حاضر، هیدرولیزات قلیایی حاصل از سویا با استفاده از آزمون بیوره، آنالیز خاکستر، طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل‌فوریه (FTIR) و سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH ارزیابی شد. اثر ضدباکتریایی نمونه‌ها نیز از طریق تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) بررسی گردید. افزون بر این، تأثیر هیدرولیزات سویا بر بقا و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست موشی رده L929 و نیز نقش محافظتی آن در برابر استرس اکسیداتیو القاشده توسط پراکسید هیدروژن (به‌عنوان مدل پیری القایی)، با استفاده از سنجش MTT مورد مطالعه قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که هیدرولیزات قلیایی سویا غنی از ترکیبات پروتئینی بوده و از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار است، اما فاقد اثر مهاری بر رشد میکروارگانیسم‌ها (بر اساس آزمون MIC) می‌باشد. بررسی اثر این هیدرولیزات بر سلول‌های سالم، افزایش معنی‌دار تکثیر را در تمامی غلظت‌های آزمایشی نشان داد. همچنین، نتایج حاصل از آزمون MTT بر روی سلول‌های پیرش‌یافته ناشی از پراکسید هیدروژن، بیشترین اثر محافظتی را در غلظت ۱/۶۴ و کمترین اثر را در غلظت ۱/۸ آشکار ساخت. به‌طور کلی، چنین استنباط می‌شود که هیدرولیزات پروتئین سویا در غلظت مناسب، به‌عنوان یک ترکیب طبیعی و ایمن، می‌تواند در محصولات آرایشی-بهداشتی با هدف محافظت سلولی در برابر پیری اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پیری پوست، فیبروبلاست، هیدرولیزات سویا، L929

Cite this article: Ghodsi F., Vedaye Kheiry E. Investigating the effect of hydrolyzed soy on the aging process in fibroblast cells. *Informatics in Biology, Health, and Food*. 2026;3(1):38-49.

Copyright©: The Authors. Published by Shandiz Institute of Higher Education

Corresponding author: Elaheh Vedaye Kheiry

Email: vadayee@yahoo.com



مقدمه

پوست بزرگ‌ترین اندام بدن است که از سه لایه مختلف شامل اپیدرم، درم و هیپودرم تشکیل شده است. درم عمدتاً از فیبروبلاست‌های پوستی و ماتریکس خارج سلولی تشکیل شده که به شدت با خاصیت ارتجاعی و استحکام پوست مرتبط هستند. فیبروبلاست‌ها یکی از مهم‌ترین سلول‌های مسئول حفظ ساختار و عملکرد پوست هستند. همان‌طور که اشاره شد فیبروبلاست‌های پوستی سلول‌های اصلی تشکیل‌دهنده‌ی درم می‌باشند و عمدتاً با فراهم کردن یکپارچگی ساختاری نقش محوری در حفظ فیزیولوژی پوست دارند. آن‌ها اجزای ساختاری ماتریکس خارج سلولی از جمله کلاژن‌ها، فیبرهای الاستیک، پروتئوگلیکان‌ها (اگریکان، ورسیکان، پرلکان، دکورین)، گلیکوپروتئین‌های چسبنده (لامینین‌ها، فیبرونکتین‌ها، ترومبوسپوندين‌ها، تناسین‌ها) و آنزیم‌های بازسازی ECM (متالوپروتئینازها، لیزیل اکسیدازها) را تولید می‌کنند (۱). در پوست، فیبروبلاست‌ها با سلول‌های اپیدرمی، ایمنی و سایر سلول‌ها تعامل دارند و شرایط هموستاتیک، فیبروتیک یا بهبود زخم را هماهنگ می‌کنند. فیبروبلاست‌ها علاوه بر تعاملات سلول-سلول و سلول-ECM، مجموعه‌ای از سیگنال‌های پاراکرین و اتوکرین، مانند سیتوکین‌ها و فاکتورهای رشد که تولید ECM، حالت‌های سلولی و تعاملات سیگنالی‌نگ را کنترل می‌کنند، ترشح می‌کنند. همچنین این سلول‌ها به عنوان پیش‌ساز برای انواع سلول‌های مزانشیمی مانند پری‌سیت‌ها، استئوبلاست‌ها یا آدیپوسیت‌ها عمل می‌کنند و برای ایمنی پوست و ضمام، مفید هستند. در طول این فرآیندها، فیبروبلاست‌ها نه تنها انعطاف‌پذیری شگفت‌انگیزی نشان می‌دهند، بلکه حافظه‌ای از هویت موقعیتی خود به دست می‌آورند و همچنین محیط مکانیکی، التهابی و متابولیکی خود را تغییر می‌دهند (۲). پوست یک حس‌گر محیط بدن و یک جهان بیولوژیکی است، زیرا تمام سیستم‌های پشتیبانی اصلی بدن را در خود جای داده است؛ از جمله خون، عصب‌دهی، عضله و همچنین سیستم ایمنی، واکنش‌پذیری روانی-عاطفی، حسگری اشعه ماوراء بنفش، عملکردهای غدد درون‌ریز و غیره. این سیستم‌ها در کنار هم در هموستاز پوست و ضمام آن شرکت می‌کنند با توجه به اینکه پوست چنین موقعیت استراتژیکی را بین محیط‌های مضر خارجی و محیط‌های بیوشیمیایی فعال داخلی را داراست، با توجه به سبک زندگی، بار نمایش پیری بر روی پوست بیشتر خواهد بود (۳). پیری پوست یک فرآیند اجتناب‌ناپذیر است. پیری پوست را

می‌توان به پیری ذاتی و پیری بیرونی طبقه‌بندی کرد. پیری ذاتی نتیجه تغییرات فیزیولوژیکی است که به طور طبیعی با افزایش سن رخ می‌دهد. به ویژه، توانایی فیبروبلاست‌های پوستی برای سنتز کلاژن با افزایش سن کاهش می‌یابد و منجر به کاهش شدید یکپارچگی الیاف کلاژن می‌شود. پیری بیرونی نتیجه قرار گرفتن مداوم در معرض محیط خارجی است پوست به طور مداوم در معرض انواع مختلف محرک‌های محیطی قرار دارد. به عنوان مثال، اشعه ماوراء بنفش (UV)، آلاینده‌های هوا یا سیگار کشیدن، پیری پوست را تشدید می‌کند. شاید متناقض به نظر برسد، اما مهم است که از قبل توجه داشته باشیم که پوست تغذیه شده و محافظت شده در برابر اشعه ماوراء بنفش، مقاومت واقعاً قابل توجهی در برابر پیری زمانی (یا ذاتی) نشان می‌دهد، و بسیاری از آنچه که ما به پیری پوست اشاره می‌کنیم، اگر نگوییم بیشتر، به دلیل تغییرات ساختاری پوست است که نتیجه پیری به اصطلاح بیرونی (مثلاً اشعه ماوراء بنفش، تروما، مواد شیمیایی و غیره) است. این محرک‌های خارجی با مسیرهای سیگنالی‌نگ واسطه‌شده توسط گونه‌های فعال اکسیژن روند پیری را تسریع می‌کنند و حتی باعث بیماری‌های مرتبط با پیری می‌شوند. پیری پوست با از دست دادن خاصیت ارتجاعی، تشکیل چین و چروک، کاهش اتصال پوستی-اپیدرمی و تأخیر در بهبود زخم مشخص می‌شود (۴). به ویژه، تابش اشعه ماوراء بنفش عامل اصلی ایجاد پاسخ‌های التهابی، آسیب DNA و ضایعات پوستی مختلف مانند پیری پوست در اثر نور است. بسیاری از مطالعات اثرات مضر مختلف اشعه ماوراء بنفش را بر روی درم گزارش کرده‌اند. درم پیر شده در اثر نور عموماً با فیبرهای کلاژن نامنظم یا تکه تکه شده و تخریب فیبر الاستیک مشخص می‌شود که منجر به تشکیل چین و چروک، تأخیر در بهبود زخم و افتادگی می‌شود. فیبریل‌های کلاژن و فیبرهای الاستین آسیب دیده در درم ناشی از اشعه ماوراء بنفش عمدتاً توسط سنتز متالوپروتئینازهای تخریب کننده ماتریک ایجاد می‌شوند. علاوه بر این، آلودگی هوا مانند ذرات معلق نیز باعث آسیب پوستی شده و منجر به استرس اکسیداتیو، التهاب و حتی پیری زودرس پوست می‌شود (۵).

تغییرات پوست ممکن است تنها باعث کاهش جزئی در عملکرد شوند، اما از آنجایی که انتظارات ما برای افزایش عملکرد بهینه تا دهه‌های ۷۰، ۸۰ و بالاتر زندگی مان ادامه می‌یابد، این تغییرات ناخوشایند هستند. این شاید منطقی باشد، زیرا امید به زندگی در دهه‌های اخیر به شدت افزایش یافته است (۶). به همین دلیل،

جدیدی در حوزه درمان‌های ضدپیری باز کند. با وجود شواهد قانع کننده، ۹۵ درصد مطالعات بر هیدرولیز آنزیمی متمرکز بوده و مطالعات هیدرولیز قلیایی محدود است. پژوهش حاضر به عنوان اولین مطالعه اثرات سویای هیدرولیز قلیایی بر فیبروبلاست L۹۲۹ در مدل استرس اکسیداتیو H_2O_2 را با ارزیابی همزمان زنده‌مانی و سمیت سلولی، فعالیت آنتی اکسیدانی و خواص ضد باکتریایی بررسی می‌کند.

مواد و روش‌ها

هیدرولیز سویا

سویای کتجاله چربی‌زدایی شده از برندهای معتبر خریداری شد و توسط بلندآزمایشگاهی به صورت پودر (مش ۶۰) آسیاب و پودر حاصله در دمای اتاق، محیط خشک و تاریک تا مراحل بعدی نگهداری شدند. هیدرولیز سویا به دو روش اسیدی و قلیایی انجام شد. در روش اسیدی پودر سویا را وزن نموده و با محلول HCl به نسبت جرمی ۱ (HCl) به ۱۰ (سویا) به مدت ۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد با همزدن مداوم توسط همزن مغناطیسی در محدوده ۵۰۰rpm هیدرولیز گردید. در مرحله بعد به منظور تهیه هیدرولیزات سویا به روش قلیایی محلول KOH (به نسبت ۱ به ۱۰ جرمی) به سویا اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت و در دمای ۷۰ درجه با همزدن مداوم توسط همزن مغناطیسی در محدوده ۵۰۰rpm هیدرولیز سویا انجام گرفت. بعد از این مراحل، محلول هیدرولیز شده به منظور جداسازی هیدرولیزات از ترکیبات اضافی موجود در محلول، در دور 7000 g سانتریفیوژ انجام شد. فاز رویی محلول که شامل ترکیبات پروتئینی حاصل از هیدرولیز سویا بود جداسازی و مواد ته نشین شده که شامل اضافات پودر سویا و نمک حاصل از واکنش اسید و باز بود دور ریخته شدند. در نهایت PH محلول پس از سانتریفیوژ نیز اندازه گیری و کنترل شد.

تجزیه و تحلیل شیمیایی

آزمون بیوره

برای تعیین غلظت پروتئین از تست بیورهایستفاده شد که با روش کیفی ساده انجام گردید. طی این روش محلول هیدرولیزات پروتئین سویا به دو قسمت تقسیم شد. قسمت اول حجم مشخصی از محلول نمونه (۱ میلی‌لیتر) در لوله آزمایش ریخته شده، مقدار مساوی معرف بیوره (سولفات مس II)، هیدروکسید سدیم، سولفات سدیم) به آن افزوده و مخلوط گردید و قسمت دوم بدون معرف به عنوان کنترل رنگ طبیعی نمونه نگه داشته شد. هر دو

محافظت در برابر پیری بیرونی یا درونی یک مسئله اساسی در زمینه‌های آرایشی و پوستی است. برای به تأخیر انداختن یا جلوگیری از پیری پوست با سرکوب اثرات مضر اشعه ماوراء بنفش، به مواد فعال جدیدی نیاز است. به ویژه، بسیاری از محققان نشان داده‌اند که ترکیبات طبیعی در سراسر جهان می‌توانند به عنوان یک ماده فعال بالقوه برای بهبود درم پوست پیر شناخته شوند این ترکیبات به دلیل ایمنی بالا، سازگاری زیستی و کارایی قابل قبول، از اهمیت زیادی برخوردار هستند. آنها به دلیل افزایش علاقه و تقاضای مصرف‌کنندگان، بزرگ‌ترین دسته از افزودنی‌های آرایشی موجود در بازار امروز را تشکیل می‌دهند (۷). یکی از این ترکیبات سویا (Glycine max) می‌باشد. سویا یک گیاه یک ساله از خانواده Fabaceae است. این گیاه بومی شرق آسیا و چین است، اما اکنون به طور گسترده در بسیاری از مناطق معتدل جهان کشت می‌شود. به طور سنتی، سویا منبع عالی پروتئین بوده است. با وجود پروتئین، سرشار از فیبر غذایی و انواع ریزمغذی‌ها و مواد شیمیایی گیاهی است. سویا در میان حبوبات منحصر به فرد است زیرا منبع غلیظی از ایزوفلاون‌ها است. سویا هزاران سال است که در طب سنتی چینی به دلیل فواید سلامتی و تغذیه‌ای و همچنین برای درمان و مراقبت از پوست مورد استفاده قرار می‌گیرد. تحقیقات پیشرفته مراقبت از پوست نشان داده است که ایزوفلاون و جنیستئین سویا در کاهش آسیب پوست ناشی از آفتاب مؤثر هستند. عصاره دانه سویا و شیر سویای تازه در پوست‌شناسی زیبایی برای بهبود رنگ پوست، رنگدانه‌ها و سایر ویژگی‌های پیری ناشی از نور خورشید استفاده می‌شود (۸). پروتئین‌های هیدرولیز شده سویا از طریق هیدرولیز های اسیدی، قلیایی و آنزیمی و ... سویا به دست می‌آید و شامل پپتیدهای زیست فعال با خواص مفیدی همچون افزایش تکثیر سلولی، تحریک سنتز کلاژن، مهار آنزیم‌های تخریب کننده ECM۱ و کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد. دانه سویا حاوی ۳۶ تا ۴۰ درصد پروتئین با تمام آمینواسیدهای ضروری است. همچنین مطالعات متعددی نشان داده‌اند که پپتیدهای هیدرولیز شده سویا قادرند از طریق مسیرهای سیگنالی نظیر $TGF-\beta$ و γNrf بیان ژن‌های مرتبط با ترمیم و بازسازی پوست را تنظیم کرده و پیری سلولی را به تأخیر بیندازند این پپتیدها با افزایش بیان ژن‌های آنزیم آنتی اکسیدان در پایین دست مسیر $ARE2-Nrf1-Keap$ ، پیری پوست را مهار و به تأخیر می‌اندازند. بنابراین، پپتیدهای آنتی اکسیدان گیاهی می‌توانند به عنوان یکی از منابع جدید مواد اولیه برای لوازم آرایشی ضد پیری استفاده شوند (۹). بررسی اثر سویای هیدرولیز شده بر عملکرد سلول‌های فیبروبلاست انسانی می‌تواند افق‌های

نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای نگه داشته شدند. وجود پروتئین، رنگ بنفش تا ارغوانی ایجاد می‌کند که نشان دهنده نتیجه مثبت تست است.

آنالیز طیف سنجی تست خاکستر

برای تشخیص و ارزیابی خلوص مواد معدنی هیدرولیزات سویا تست خاکستر نمونه در آزمایشگاه مرجع مواد غذایی دانشگاه فردوسی مشهد با استاندارد مرجع INSO 2685 در محدوده دمای ۱۸-۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت < ۵۰ انجام شد.

آنالیز طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

به منظور بررسی و شناسایی گروه‌های عاملی و تایید تغییرات ساختاری و بررسی پیوندهای شیمیایی در پروتئین‌های هیدرولیز شده از تست طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه FTIR استفاده شد که این تست در آزمایشگاه دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد با دستگاه Thermo Nicolet انجام گرفت. این تکنیک تغییرات Amide I، Amide II و تشکیل گروه‌های کربوکسیل را در طی هیدرولیز peptide bond $\pi \rightarrow \psi$ مشخص می‌کند.

آزمون سنجش خاصیت آنتی اکسیدانی DPPH

برای سنجش ظرفیت مهار رادیکال آزاد آنتی اکسیدانی از تست DPPH استفاده شد غلظت‌های ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲ از محلول استاک سویای هیدرولیز شده به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در متانول ۹۸ درصد تهیه گردید. هر غلظت به صورت سه تکرار مستقل بیولوژیکی آزمون شد. جذب نوری کنترل DPPH (بدون نمونه) ۰/۶۴ و جذب بلانک (متانول خالص) صفر در نظر گرفته شد.

آزمون MIC

به منظور ارزیابی خواص ضد میکروبی هیدرولیزات پروتئین سویا در آزمون‌های سلولی، آزمون حداقل غلظت مهار (MIC) علیه چهار گونه باکتری پاتوژن مهم انجام شد. باکتری‌های مورد آزمون استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)، سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه بودند. هیدرولیزات سویا در رقت‌های متوالی با محیط کشت مولر هینتون برات حاوی باکتری‌ها مخلوط و پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رشد کلنی‌ها شمارش شد. آنتی بیوتیک استاندارد (کنترل مثبت) و محلول حامل (کنترل منفی) به موازات آزمون گردید.

کشت و پاساژ سلول‌های فیروپلاست

سلول‌های رده L929 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت کامل شامل محیط کشت DMEM؛ به همراه ۱۰ درصد FBS و یک درصد آنتی بیوتیک درون انکوباتور با مشخصات 2CO 5؛ در ۹۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد (نگهداری و پاساژ شدند).

آزمون MTT

برای بررسی میزان زنده ماندن سلول‌های تیمار شده با سویای هیدرولیز شده، سلول‌های رده L929 در پلیت ۹۶ خانه برای بررسی اثر گروه‌های تیماری و بررسی میزان بقای سلول‌ها کشت داده شدند. دو گروه برای این آزمون انتخاب شدند؛ ابتدا سلول‌های فیروپلاست با غلظت‌های مختلف سویای هیدرولیز شده (که قبلاً بیان شده) تیمار شدند، در گروه دیگر برای ایجاد حالت شبه پیری و القای تنش اکسیداتیو از محلول هیدروژن پراکسید با غلظت ۲۰۰ میکرو مولار استفاده شد. سلول‌ها پس از تیمار با هیدروژن پراکسید به مدت ۲ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند تا حالت شبه پیری ظاهر شود. سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف سویای هیدرولیز شده به مدت سه ساعت تیمار شدند. پس از گذشت زمان مناسب از تیمار، به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر محلول MTT اضافه شد و سلول‌ها در شرایط تاریکی به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. سپس محیط هر چاهک خارج و به میزان ۲۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک اضافه شد. در نهایت پلیت مربوطه به دستگاه اسپکتروفتومتری منتقل و میزان جذب نوری نمونه‌ها در ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. هر غلظت به صورت سه تکرار مستقل بیولوژیکی آزمون گردید.

روش‌های آماری و تحلیل داده‌ها

روش تحلیل‌های آماری داده‌ها با نرم افزار IBM SPSS27 و تحلیل واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey بررسی شد.

نتایج

نتایج آزمون بیوره

تنها هیدرولیزات حاصل از روش قلیایی به دلیل مناسب بودن شرایط فرایند و کارایی در آزمون‌های مورد مطالعه استفاده شد. به منظور تأیید کیفی حضور پپتیدهای حاصل از هیدرولیز قلیایی پروتئین سویا، آزمون بیوره انجام شد. این آزمون بر اساس تشکیل کمپلکس بنفش ارغوانی بین یون‌های مس موجود در معرف بیوره و پیوندهای پپتیدی CO-NH- در مولکول‌های پروتئینی و

بوده و در عین حال غلظت بالای جزء آلی (پروتئین و پپتیدها) حفظ شده است. به طور کلی، این نتایج نشان می‌دهد که فرآیند هیدرولیز قلیایی، منجر به تولید هیدرولیزاتی با محتوای معدنی کنترل شده و خلوص مناسب برای کاربردهای زیستی و بررسی اثرات آن بر سلول‌های فیبروبلاست موشی L929 شده است.

نتایج آزمون کج‌دال (پروتئین کل)

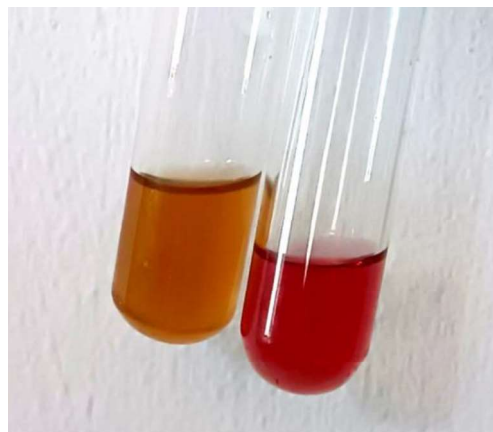
نتایج روش کج‌دال نشان داد که مقدار نیتروژن کل در هیدرولیزات قلیایی سویا معادل ۲/۳۴ گرم (در ۱۰۰ گرم بر پایه ماده خشک) است. با اعمال فاکتور تبدیل استاندارد ۶/۲۵ برای محصولات گیاهی، محتوای پروتئین خام برابر ۱۴/۶۲۵ درصد (w/w) محاسبه شد. این مقدار بر پایه ماده خشک (با نسبت ۱:۱۰ جامد به مایع، یعنی ۱۰ درصد جامد) گزارش شده و نشان‌دهنده هیدرولیز نسبی پروتئین کنجاله سویا (با پروتئین اولیه ۴۴ - ۴۸ درصد) است. در فرآیند هیدرولیز قلیایی، پروتئین‌های کنجاله سویا تحت تأثیر قلیا تجزیه شده و به پپتیدها و اسیدهای آمینه آزاد تبدیل می‌شوند، که منجر به کاهش ظاهری پروتئین خام به دلیل شکست پیوندهای پپتیدی و افزایش نیتروژن غیر پروتئینی می‌گردد. مقدار برابر ۱۴/۶۲۵ درصد پروتئین، حاکی از درجه هیدرولیز (DH) متوسط (۲۰ تا ۳۰ درصد) است، که با مطالعات مشابه بر هیدرولیز قلیایی سویا همخوانی دارد؛ جایی که پروتئین قابل اندازه‌گیری کج‌دال از ۴۰ درصد اولیه به ۱۰ - ۲۰ درصد کاهش می‌یابد. کاهش محتوای پروتئین به ۱۴/۶۲۵ درصد بیان‌گر تولید هیدرولیزاتی غنی از پپتیدهای فعال است.

نتایج آنالیز طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوری (FTIR)

طیف سنجی FTIR ارتعاشات مولکولی را در محدوده ۴۰۰۰ - ۴۰۰ cm^{-1} نشان می‌دهد و برای شناسایی گروه‌های عاملی پروتئین‌های هیدرولیز شده سویا (پپتیدها، آمیدها) است. با مقایسه طیف FTIR نمونه با طیف استاندارد گزارش شده برای پروتئین سویای هیدرولیز شده، مشخص شد که پیک‌های اصلی در محدوده ۳۴۰۰، ۲۹۳۰، ۱۶۵۰، ۱۵۷۵، ۱۴۰۰ و ۱۰۷۰ cm^{-1} با طیف‌های مرجع مطابقت دارند. این پیک‌ها به ترتیب مربوط به گروه‌های N-H، C-H، آمید I، آمید II، COO⁻ و C=O هستند. این تطابق نشان‌دهنده حفظ ساختار پپتیدی و حضور اسیدهای آمینه آزاد در نمونه می‌باشد. بنابراین، نتایج FTIR تأیید می‌کند که فرآیند هیدرولیز پروتئین سویا با موفقیت انجام شده و ساختار شیمیایی نمونه با ساختار استاندارد گزارش شده در مطالعات علمی مطابقت دارد (شکل ۲).

پپتیدی با وزن مولکولی متوسط بیش از ۵۰۰ دالتون عمل می‌کند. به منظور تأیید کیفی حضور پپتیدهای حاصل از هیدرولیز قلیایی پروتئین سویا، آزمون بیوره به صورت دو نمونه موازی انجام شد: (۱) هیدرولیزات سویا + معرف بیوره و (۲) هیدرولیزات سویا بدون معرف (کنترل). نتایج مشاهده‌ای: نمونه هیدرولیزات + معرف بیوره: رنگ بنفش مشخص ایجاد نمود، نمونه هیدرولیزات بدون معرف: بدون تغییر رنگ بنفش (رنگ طبیعی خود هیدرولیزات).

این تفاوت واضح رنگی مستقیماً تأیید می‌کند که تغییر رنگ ارغوانی (بنفش) ناشی از واکنش اختصاصی پپتیدها با یون‌های Cu^{2+} معرف بیوره است، نه تداخل رنگی خود نمونه. نتیجه مثبت و اختصاصی آزمون بیوره (رنگ بنفش) فقط در حضور معرف (به طور قاطع حضور گروه‌های پپتیدی -CO- و -NH در هیدرولیزات را اثبات میکند (شکل ۱)).

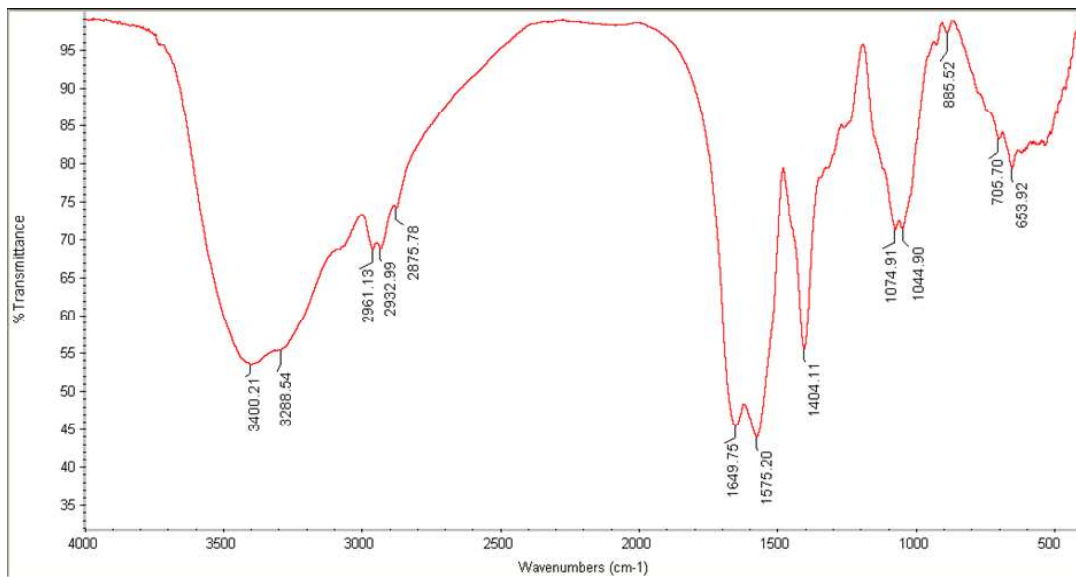


شکل ۱. نتیجه تست بیوره، تصویر سمت راست نمونه هیدرولیزات سویا با معرف است و تصویر سمت چپ بدون معرف.

Figure 1. The result of the Biuret test, the image on the right is the soy hydrolysate sample with the reagent and the image on the left is without the reagent.

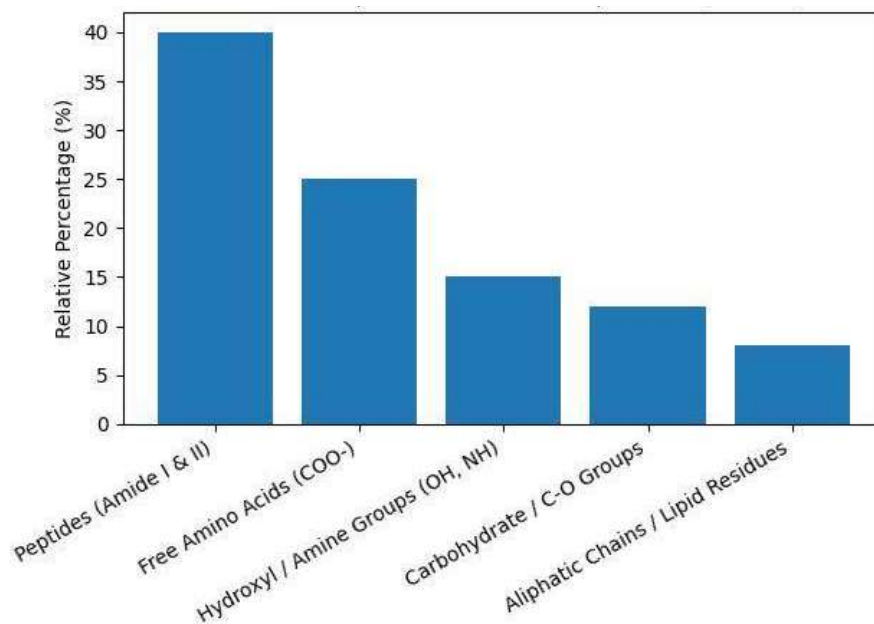
نتایج آزمون خاکستر

به منظور تعیین میزان مواد معدنی و برآورد خلوص نسبی هیدرولیزات پروتئین سویا، آزمون خاکستر انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد که درصد خاکستر نمونه مورد بررسی برابر با ۵/۳۹ درصد بود که در مقایسه با مقادیر گزارش شده برای سویا/هیدرولیزات‌های پروتئینی (حدود ۴ تا ۸ درصد) در محدوده مطلوب و قابل قبول قرار می‌گیرد. مقدار خاکستر به دست آمده بیان‌گر آن است که سهم ترکیبات معدنی شامل یون‌های کلسیم، منیزیم، پتاسیم و سایر عناصر کم مقدار در ترکیب کلی نمونه متوسط و متناسب با یک هیدرولیز پروتئینی



شکل ۲. آنالیز طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه سویا محور افقی عدد موج (cm^{-1}) و محور عمودی شدت جذب (ترانس‌میتانس) را به ما نشان می‌دهد.

Figure 2. Fourier transform infrared spectroscopy analysis of soybeans. The horizontal axis shows the wavenumber (cm^{-1}) and the vertical axis shows the absorption intensity (transmittance).



شکل ۳. نمودار ترکیب نسبی تخمین زده شده از طیف FTIR، درصدها براساس شدت نسبی باندهای FTIR و به صورت نیمه کمی تخمین زده شده‌اند.

Figure 3. Diagram of relative composition estimated from FTIR spectra, percentages are estimated semi-quantitatively based on the relative intensity of FTIR bands.

هیدرولیزات سویا علیه هیچ یک از چهار باکتری پاتوژن، اثر مهاری قابل توجهی نشان نداد. در تمام رقت‌های آزمون شده، رشد باکتریایی طبیعی یا حتی بیشتر از کنترل مشاهده شد. حداقل غلظت مهاری (MIC) برای هیچ کدام از باکتری‌ها تعیین نشد و MIC بزرگ‌تر از بالاترین غلظت آزمون شده گزارش شد. عدم اثر مهاری و حتی افزایش رشد در برخی غلظت‌ها حاکی از عدم فعالیت ضد میکروبی هیدرولیزات قلیایی است. این پدیده می‌تواند ناشی از تأمین نیتروژن پپتیدها به عنوان منبع غذایی باکتری‌ها باشد.

نتایج آزمون MTT

هیدرولیزات سویا بر روی سلول‌های سالم اثر تکثیرشونده قوی نشان داد. حداکثر تکثیر در غلظت ۱/۲، برابر با ۱۳۱ درصد مشاهده شد. میانگین افزایش درصد در همه غلظت‌ها بالاتر از ۱۰۰ درصد نسبت به کنترل به دست آمد. بهترین غلظت‌ها برای سلول‌های سالم ۱/۲، ۱/۱۶، ۱/۶۴ بودند (شکل ۴). هیدرولیزات سویا بر سلول‌های پیر شده تغییرات وابسته به دوز در بقای سلولی نشان داد، که حداکثر محافظت در غلظت ۱/۶۴ معادل با ۱۲۴ درصد بود و غلظت بهینه ۱/۴ که درصد زنده مانی ۱۱۱ مشخص شد. ضعیف‌ترین غلظت ۱/۸ بود با درصد زنده مانی ۷۳ همراه بود (شکل ۵).

جدول ۱. نتایج آزمون DPHH هیدرولیزات سویا

Table 1. Results of DPHH test of soybean hydrolysate.

غلظت	میانگین جذب در nm	درصد مهار (%)
۵۱۷		
۱/۲	۰/۸۳۹	۳۱/۱-
۱/۴	۰/۰۹۱	۸۵/۸
۱/۸	۰/۰۶۰	۹۰/۶
۱/۱۶	۰/۰۳۶	۹۴/۴
۱/۳۲	۰/۰۳۱	۹۵/۲
۱/۶۴	۰/۰۳۰	۹۵/۳
کنترل	۰/۶۴	۰

بر اساس نتایج طیف سنجی FTIR، نمونه سویای هیدرولیز شده دارای ترکیبی از پپتیدهای کوتاه، اسیدهای آمینه آزاد و مقادیر جزئی ترکیبات جانبی آلی است. مشاهده باندهای مشخص آمیدی نشان‌دهنده حفظ نسبی ساختار پروتئینی پس از هیدرولیز می‌باشد. همچنین حضور گروه‌های کربوکسیلات و هیدروکسیل نشان‌دهنده پیشرفت فرآیند هیدرولیز و افزایش قطبیت ترکیبات موجود در نمونه است. در مجموع، طیف ثبت شده با ساختار شیمیایی مورد انتظار برای پروتئین سویای هیدرولیز شده مطابقت دارد و نشان‌دهنده انجام موفق فرآیند هیدرولیز در حد متوسط می‌باشد (شکل ۳).

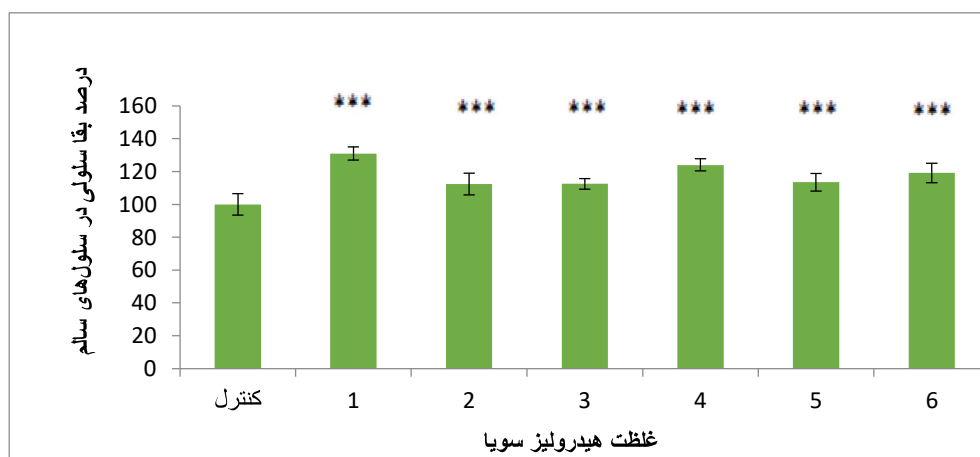
نتایج آزمون ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH)

هیدرولیزات پروتئین سویا در آزمون DPPH فعالیت رادیکال زدایی بسیار قوی و وابسته به غلظت از خود نشان داد. در بالاترین غلظت مورد آزمون ۱/۲ به دلیل خنثی‌سازی کامل رادیکال DPPH و تشکیل محصولات ثانویه جذب کننده نور (di-phenyl-picryl-dihydrazine + ترکیبات رنگی هیدرولیزات)، مقدار مهار منفی ۱/۳۱ درصد - گزارش شد که پدیده‌ای شناخته شده در هیدرولیزات‌های با فعالیت فوق العاده بالاست. از غلظت ۱/۴ تا ۱/۶۴، درصد مهار به طور پیوسته افزایش یافت و به plateau رسید؛ به طوری که در غلظت‌های ۱/۱۶، ۱/۳۲ و ۱/۶۴ به ترتیب ۹۴/۴ درصد، ۹۵/۲ درصد و ۹۵/۳ درصد از رادیکال‌های DPPH مهار شدند. این روند صعودی خطی و سپس اشباع، حاکی از ظرفیت بالای رادیکال زدایی و تعدد مکان‌های فعال (سایت‌های اهدای هیدروژن/ الکترون) در ساختار پپتیدی هیدرولیزات است. حداکثر مهار ۹۵/۳ درصد در غلظت ۱/۶۴ (پایین‌ترین غلظت) مشاهده شد (جدول ۱).

ثبات بالای درصد مهار در غلظت‌های پایین (۱/۳۲ و ۱/۶۴ و تفاوت تنها ۰/۱ درصد) تأییدکننده پایداری و کارایی هیدرولیزات در غلظت‌های فیزیولوژیکی است. فرمول محاسبه درصد مهار:

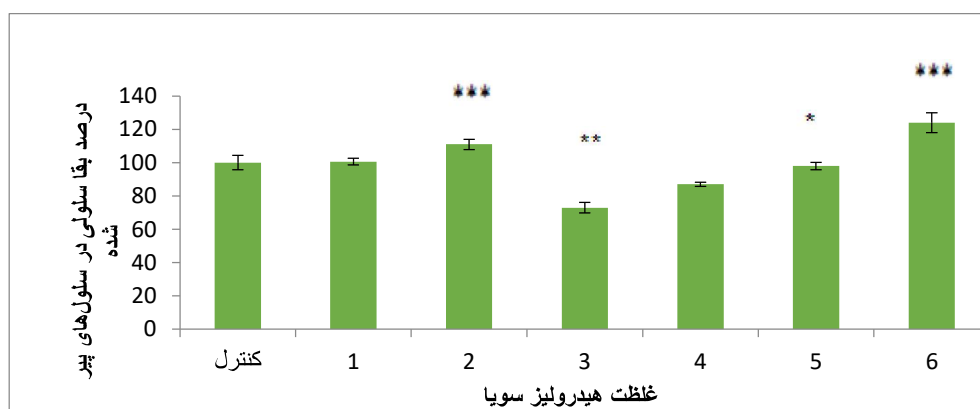
$$\text{Inhibition\%} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}) / A_{\text{Control}}] \times 100\%$$

نتایج آزمون MIC



شکل ۴. نمودار نتایج حاصل از بررسی غلظت‌های مختلف هیدرولیز سویا که بر روی سلول‌های فیبروبلاست موشی ($P^{***} < 0.001$) غلظت شماره ۱ تا ۶ به ترتیب معادل غلظت‌های معادل ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲ و ۱/۶۴ از هیدرولیزات سویا هستند.

Figure 4. Results from various doses of soy hydrolysis on mouse fibroblast cells ($P^{***} < 0.001$) with numbers 1 to 6 corresponding to 1/2, 1/4, 1/32, 1/64 of soy hydrolysate, respectively.



شکل ۵. نمودار نتایج حاصل از بررسی غلظت‌های مختلف هیدرولیز سویا که بر روی سلول‌های پیر شده فیبروبلاست موشی توسط H_2O_2 ($P^{***} < 0.001$) غلظت شماره ۱ تا ۶ به ترتیب معادل غلظت‌های معادل ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲ و ۱/۶۴ از هیدرولیز سویا هستند.

Figure 5. Results of study different concentrations of soy hydrolysate on senescent mouse fibroblast cells by H_2O_2 ($P^{***} < 0.001$, $P^{**} < 0.01$, $P^* < 0.05$). Concentrations 1 to 6 are equivalent to 1.2, 1.4, 1.8, 1.16, 1.32, 1.64 of soy hydrolysate, respectively.

بحث

هیدرولیز سویا به دو روش اسیدی و قلیایی انجام شد؛ با این حال، به دلیل عدم دستیابی به هیدرولیز مطلوب در روش اسیدی و بروز اختلال در آزمون‌ها، این روش در ادامه مورد استفاده قرار نگرفت. در مقابل، هیدرولیز قلیایی در شرایط تعیین شده توانست ترکیبات پروتئینی محلول و زیست فعال تولید کند که نتایج آزمون‌های بیوره، FTIR، تعیین خاکستر و کج‌لدال آن را تأیید نمودند. بنابراین تحلیل و تفسیر اثرات زیستی پژوهش بر اساس هیدرولیزات قلیایی انجام گرفت. نتایج آزمون MTT نشان داد که تیمار سلول‌های آسیب دیده با هیدرولیزات قلیایی سویا در

یافته‌های این پژوهش نشان داد که استرس اکسیداتیو القاء شده با H_2O_2 موجب کاهش معنی‌دار زنده مانی سلول‌های فیبروبلاست L929 گردید که این امر بیانگر موفقیت در ایجاد مدل آزمایشگاهی پیری اکسیداتیو است. افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از مهم‌ترین عوامل تسریع کننده فرآیند پیری سلولی محسوب می‌شود و می‌تواند از طریق آسیب به DNA، پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی، عملکرد متابولیک سلول را مختل سازد. کاهش فعالیت میتوکندریایی مشاهده شده در آزمون MTT در گروه تحت استرس، مؤید همین فرآیند است. در این مطالعه،

زمینه ای علمی برای توسعه کاربردهای زیست فناوریانه و آرایشی بهداشتی مبتنی بر منابع گیاهی فراهم می‌آورد.

نتایج این پژوهش با مطالعات متعدد داخلی و خارجی در زمینه هیدرولیزات پروتئین سویا و پپتیدهای آنتی اکسیدانی هم‌راستا بوده است که در ادامه به چند مورد اشاره می‌شود:

در مطالعه اعتمادی در سال ۲۰۱۵ هیدرولیز پروتئین سویا به صورت آنزیمی با آلکالاز انجام شد و ویژگیهای آنتی اکسیدانی با آزمون‌های شلاته کنندگی یون‌های فلزی، رادیکال‌زدایی و مهار آلدئید ارزیابی گردید. نتایج آن مطالعه نیز مانند پژوهش حاضر، خواص آنتی اکسیدانی و احیاکنندگی بالای هیدرولیزات سویا را تأیید کرد، اما وابستگی آن به درجه هیدرولیز، دما، نوع آنزیم و زمان را برجسته نمود. پژوهش حاضر با استفاده از هیدرولیز قلیایی به جای آنزیمی، نه تنها ظرفیت DPPH مشابه یا بالاتر ۹۵ درصد مهار را نشان داد، بلکه سادگی و هزینه کمتر این روش را نیز اثبات کرد (۱۰).

مطالعه اعتمادی (۲۰۱۷) با روش سطح پاسخ، وابستگی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به درجه هیدرولیز را تأیید کرد که دقیقاً با نتایج DPPH این پژوهش، (۹۵ درصد در رقت‌های پایین) همخوانی دارد. هر دو مطالعه بر اهمیت بهینه‌سازی شرایط هیدرولیز تأکید دارند، اما پژوهش حاضر با مدل سلولی L929، اثربخشی *in vitro* را نیز ثابت کرد (۱۱).

Zhu و همکاران در سال ۲۰۲۵ هفت پپتید آنتی اکسیدانی از زردآلو با پاپائین جدا کردند که مهار ABTS بالاتر از GSH و اسکوربیک اسید داشتند. این پپتیدها همچنین آسیب UV را در موشها مهار کردند. مشابهت این مطالعه با پژوهش حاضر در فعالیت آنتی اکسیدانی پپتیدهای گیاهی و اثر ضدپیری مشهود است (۱۲).

بررسی مروری Zhu در سال ۲۰۲۳ غنای سویا از ایزوفلاونها و پپتیدهای زیست فعال را تأیید کرد که پس از هیدرولیز/تخمیر آزاد میشوند، این مرور دقیقاً با ظرفیت ۹۵ درصدی DPPH و اثر پرولیفراتیو ۱۳۱ درصد بر سلول‌های فیبروبلاست همخوانی دارد و هیدرولیزات حاضر را به عنوان جایگزین طبیعی مواد شیمیایی معرفی می‌کند (۱۳).

Amakye و همکاران اثرات ضد پیری هیدرولیزات‌های سویا، صدف و خیاردریایی را در مدل موش مقایسه کردند. مشابه پژوهش حاضر، سویا در بین سه پپتید دیگر قوی‌ترین اثر را در آزمون DPPH نشان داده است همچنین اثربخشی پپتیدهای استخراج شده در شرایط آزمایشگاهی بر روی رده سلول‌های

غلظت‌های مختلف، موجب افزایش نسبی زنده مانی سلولی در مقایسه با گروه تحت استرس شد. این یافته حاکی از آن است که ترکیبات حاصل از هیدرولیز توانسته‌اند تا حدی اثرات مخرب استرس اکسیداتیو را کاهش دهند. از آنجا که در آزمون DPPH نیز ظرفیت مهار رادیکال آزاد برای هیدرولیزات مشاهده گردید، میتوان چنین استنباط کرد که فعالیت آنتی اکسیدانی پپتیدهای حاصل از هیدرولیز قلیایی نقش اصلی را در این اثر حفاظتی ایفا می‌کند. توانایی انتقال الکترون و خنثی سازی رادیکال‌های آزاد می‌تواند از تخریب ساختارهای حیاتی سلول جلوگیری کرده و شرایط مناسب‌تری برای حفظ عملکرد متابولیک فراهم آورد. هم‌راستایی نتایج آزمون‌های MTT و DPPH نشان می‌دهد که میان ظرفیت شیمیایی آنتی اکسیدانی و پاسخ زیستی سلول‌ها ارتباط وجود دارد. به بیان دیگر، پپتیدهای حاصل از هیدرولیز نه تنها در محیط شیمیایی توانایی مهار رادیکال‌ها را دارند، بلکه این ویژگی در سطح سلولی نیز به بهبود بقا منجر شده است. این همبستگی، فرضیه پژوهش مبنی بر نقش ترکیبات زیست فعال سویا در کاهش آسیب اکسیداتیو و حمایت از سلول‌های پوستی را تقویت می‌کند. از سوی دیگر، نتایج آزمون MIC نشان داد که هیدرولیزات سویا در محدوده غلظت‌های مورد بررسی، فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی از خود نشان نداد.

این موضوع اهمیت دارد، زیرا بیانگر آن است که افزایش زنده مانی سلول‌ها ناشی از اثر مستقیم ترکیبات پپتیدی بر فیبروبلاست‌ها بوده و نه حذف احتمالی عوامل میکروبی مداخله‌گر. بنابراین میتوان نتیجه گرفت که مکانیسم غالب اثر، مرتبط با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و زیست‌فعالی پپتیدها است. تغییرات وابسته به غلظت در بقای سلولی نشان داد که اثرات زیستی هیدرولیزات تابع دوز بوده است. این امر با ماهیت ترکیبات زیست فعال همخوانی دارد، زیرا پاسخ سلولی معمولاً در محدوده‌ای مشخص از غلظت بهینه بیشترین کارایی را نشان میدهد. چنین الگویی از منظر کاربردی اهمیت دارد و میتواند در طراحی فرآورده‌های مبتنی بر سویا، به تعیین دوز مؤثر و ایمن کمک نماید. در مجموع، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که سویای هیدرولیز شده به روش قلیایی قادر است در شرایط استرس اکسیداتیو، از کاهش زنده مانی سلول‌های فیبروبلاست جلوگیری کرده و ظرفیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان دهد. اگرچه مکانیسم‌های مولکولی دقیق در این مطالعه بررسی نشده‌اند، اما شواهد عملکردی حاکی از آن است که پپتیدهای حاصل از هیدرولیز قلیایی می‌توانند به عنوان عوامل حمایتی در برابر پیری اکسیداتیو مطرح شوند. این نتایج، ضمن تأیید اهداف و فرضیات پژوهش،

PC12 که با H_2O_2 در آنها مدل پیری القا شده بود، نشان‌دهنده اثرات ضدپیری پپتیدهای استخراج شده است (۱۴).
Yi G و همکاران هیدرولیزات پروتئین سویا را بر فعالیت آنتی اکسیدانی رده سلولی HepG2 مطالعه کردند. نتایج مطالعات نشان داده است که پپتیدهای سویا تولید گونه‌های فعال اکسیژن القا شده توسط پر اکسید هیدروژن در سلول‌ها را مهار می‌کند. علاوه بر این تیمار سلول‌ها با پپتید سویا سطح بیان mRNA و پروتئین‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدانی فاکتور هسته ای مرتبط با اریترئید ۲ Nrf2 را تحریک کرد. Nrf2 فعال شده فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتینون پراکسیداز را افزایش می‌دهد و تولید ROS را مهار می‌کند (۱۵).

Pyo Jin و فعالیت مهارکنندگی علیه آنزیم‌های مرتبط با پیری پوست و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های سویای تخمیر شده را بررسی کردند، نتایج مهار تیروزیناز، هیالورونیداز و الاستاز را نشان داده است (۱۶).

همچنین Inoue گزارش کرده است دو هفته تغذیه با پپتیدهای سویا حاوی ۲ درصد پپتیدهای کلاژن، سطح تروپوکلاژن نوع I و III و mRNAهای موش صحرایی را افزایش می‌دهد. در مقابل، این رژیم غذایی افزایشی در سطح mRNA هیالورونان سنتتازهای سرین پالمیتوئیل ترانسفراز (آنزیم محدودکننده سرعت سنتز سرامید) و ۳-هیدروکسی-۳-متیل گلوکوتاریل کوآنزیم A (HMG-CoA) ردوکتاز (آنزیم کلیدی سنتز کلسترول) را نشان نداده است. این نتایج نشان می‌دهد که تغذیه با پپتیدهای سویا همراه با پپتیدهای کلاژن به طور خاص سطح تروپوکلاژن را در پوست افزایش می‌دهد (۱۷).

مهارکننده‌های پروتئاز سرین شامل مهارکننده تریپسین سویا (STI) و مهارکننده پروتئاز بومن-بیرک (BBI) که در سویا یافت می‌شوند، در مطالعات پیش‌بالینی، مورد بررسی قرار گرفتند و پتانسیل روشن‌کنندگی پوست این مولکول‌ها توسط Wallo و همکارانش تأیید شد. در این مطالعه، اثربخشی یک مرطوب‌کننده جدید سویا حاوی STI و BBI غیر دنا توره شده را برای بهبود رنگ پوست، رنگدانه‌ها و سایر ویژگی‌های پیری ناشی از نور بررسی شد. شصت و پنج زن، با آسیب متوسط ناشی از نور، در مطالعه ۱۲ هفته‌ای، موازی و کنترل شده با حامل، ثبت‌نام شدند. اثربخشی از طریق مشاهده بالینی، خودارزیابی، ارزیابی‌های رنگ‌سنجی و عکاسی دیجیتال بررسی شد. نتایج نشان داده است که مرطوب‌کننده جدید سویا در بهبود رنگدانه‌های لکه‌دار، لک، تیرگی، خطوط ریز، بافت کلی، رنگ کلی پوست و ظاهر کلی، به‌طور قابل توجهی مؤثرتر از حامل بوده است. تفاوت‌ها از هفته ۲ تا هفته ۱۲ برای تمام پارامترهای فوق (به جز تیرگی که از هفته

۴ شروع شد) معنی‌دار بوده است. نتایج مطالعه پیشنهاد می‌کند که که مرطوب‌کننده حاوی عصاره سویای تثبیت‌شده ایمن و مؤثر است و می‌تواند برای بهبود کلی رنگ و ویژگی‌های بافت پوست ناشی از پیری منشأ گرفته از نور خورشید استفاده شود (۱۸).

مطالعه‌ای اثرات ضد پیری ایزوفلاون‌های غذایی را بر پوست موش‌های بی‌مو که در اثر نور پیر شده بودند، بررسی کرد. به موش‌های ماده بی‌مو عصاره ایزوفلاون سویا به صورت خوراکی داده شد و به مدت چهار هفته تحت تابش نور UV قرار گرفتند. اثرات ایزوفلاون‌ها بر ظاهر پوست، رسوب کلاژن و ضخامت اپیدرم در پوست موش‌های آسیب‌دیده از UV با استفاده از روش‌های مهندسی زیستی و هیستوشیمیایی اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، تأثیر ایزوفلاون‌ها بر متابولیسم کلاژن در فیبروبلاست‌های پوست انسان تحت تابش UVB نیز بررسی شد. نتایج این پژوهش که توسط kim و همکارانش انجام گرفت نشان داده است که در گروه تحت درمان با ایزوفلاون، پوست ظاهر بهتری داشت و چین و چروک کمتری نسبت به گروه کنترل داشت. علاوه بر این، میزان رسوب کلاژن در گروه ایزوفلاون بیشتر بود. در سلول‌های فیبروبلاست انسان، میزان پروکلاژن سنتز شده پس از درمان با ایزوفلاون و/یا تابش UV افزایش نیافت. با این حال، افزایش بیان متالوپروتئینازها (MMPs) در نتیجه تابش اشعه ماوراء بنفش توسط درمان با ایزوفلاون سرکوب شد (۱۹).

به طور کل، نتایج مطالعات ذکر شده نشان می‌دهد پپتیدهای حاصل از هیدرولیز سویا دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و اثرات حفاظتی در برابر استرس اکسیداتیو هستند. نتایج پژوهش حاضر از نظر افزایش ظرفیت مهار رادیکال آزاد و بهبود زنده مانی سلولی با آن مطالعات در یک راستا قرار دارد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که هیدرولیز قلبایی پروتئین سویا با ایجاد تغییرات ساختاری در سطوح پیوندهای پپتیدی تأیید شده توسط FTIR و بیوره و کج‌دلال، هیدرولیزاتی غنی از پپتیدهای با وزن مولکولی پایین ایجاد می‌کند. هیدرولیزات حاصل دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بسیار بالا است، به طوری که در آزمون DPPH مهار بیش از ۹۰ - ۹۵ درصد رادیکال‌ها را در غلظت‌های مختلف نشان داد. در مدل استرس اکسیداتیو H_2O_2 در سلول‌های فیبروبلاست، هیدرولیزات سویا در غلظت‌های بهینه به ویژه ۱/۴ و ۱/۶۴ محلول استاک باعث افزایش معنی‌دار زنده مانی سلولی و جبران آسیب اکسیداتیو شد، در حالی که در غلظت‌های دیگر احتمال بروز سمیت سلولی مشاهده گردید. هیدرولیزات سویا در غلظت‌های آزمون شده فاقد

به عنوان یک ترکیب زیست فعال امیدوارکننده در طراحی محصولات ضدپیری و محافظت کننده سلولی مورد شود، مشروط بر آنکه غلظت مصرفی در محدوده ایمن و مؤثر تنظیم گردد.

اثر ضدباکتریایی معنی دار علیه باکتری‌های پاتوژن بررسی شده بود، که این امر خلوص عملکردی آن را به عنوان یک ترکیب عمدتاً آنتی اکسیدانی و ضدپیری تأیید می‌کند. گرچه به دلیل محدودیت‌های موجود مکانیسم مولکولی مورد بررسی قرار نگرفته است اما می‌توان نتیجه گرفت، هیدرولیزات پروتئین سویا می‌تواند

References

- Shaw TJ, Rognoni E. Dissecting fibroblast heterogeneity in health and fibrotic disease. *Current rheumatology reports*. 2020;22(8):33. <https://doi.org/10.1007/S11926-020-00903-W>
- Bensa T, Tekkela S, Rognoni E. Skin fibroblast functional heterogeneity in health and disease. *J Pathol*. 2023;260(5):609-620. doi: 10.1002/path.6159.
- Chin T, Lee XE, Ng PY, Lee Y, Dreesen O. The role of cellular senescence in skin aging and age-related skin pathologies. *Front Physiol*. 2023;14:1297637. doi: 10.3389/fphys.2023.1297637.
- He X, Gao X, Guo Y, Xie W. Research progress on bioactive factors against skin aging. *Int J Mol Sci*. 2024;25(7):3797. doi: 10.3390/ijms25073797.
- Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. *Inflamm Res*. 2022;71(7-8):817-831. doi: 10.1007/s00011-022-01598-8.
- Tobin DJ. Introduction to skin aging. *J Tissue Viability*. 2017;26(1):37-46. doi: 10.1016/j.jtv.2016.03.002.
- Aguilar-Toalá JE, Vidal-Limon A, Liceaga AM. Nutricosmetics: A new frontier in bioactive peptides' research toward skin aging. In: *Advances in Food and Nutrition Research*. Vol 104. Academic Press; 2023:205-228. doi: 10.1016/bs.afnr.2022.10.002.
- Kang YG, Kwon H, Kim HM, Kim M, Cho SY, Lee SM, et al. Development of a novel epicatechin-rich soybean variety, Aritaunkong, and its antioxidant and skin anti-aging properties. *J Sci Food Agric*. 2025;106(4):2490-2504. doi: 10.1002/jsfa.70352.9.
- Wójciak M, Drozdowski P, Skalska-Kamińska A, Zagórska-Dziok M, Ziemlewska A, Nizioł-Lukaszewska Z, et al. Protective, anti-inflammatory, and anti-aging effects of soy isoflavones on skin cells: an overview of in vitro and in vivo studies. *Molecules*. 2024;29(23):5790. doi: 10.3390/molecules29235790.
- E'temadi M, Mahoonak AS, Ghorbani M, Maghsoudlou Y. Production and evaluation of chelating activity and reducing power of hydrolyzed proteins from soy protein isolate. *J Food Sci Nutr*. 2015;13(1):65-74. Persian. Available from: <https://www.magiran.com/paper/1462015/>
- E'temadi M, Sadeghi Mahoonak A, Ghorbani M, Maghsoudlou Y. Optimization of effective factors on antioxidant activity of soy protein hydrolysate by response surface method. *Iran J Food Sci Technol*. 2017;14(65):199-207. Persian. Available from: https://fsct.modares.ac.ir/article_25185.html
- Zhu X, Zhang X, Wang Z, Ren F, Zhu X, Chen B, et al. Screening and preparation of highly active antioxidant peptides of apricot and their inhibitory effect on ultraviolet radiation. *Food Chem*. 2025;463(Pt 1):141336. doi: 10.1016/j.foodchem.2024.141336.
- Zhu Y, Chen G, Diao J, Wang C. Recent advances in exploring and exploiting soybean functional peptides—a review. *Front Nutr*. 2023;10:1185047. doi: 10.3389/fnut.2023.1185047.
- Amakye WK, Hou C, Xie L, Lin X, Gou N, Yuan E, et al. Bioactive anti-aging agents and the identification of new anti-oxidant soybean peptides. *Food Biosci*. 2021;42:101194. doi: 10.1016/j.fbio.2021.101194.
- Yi G, Din JU, Zhao F, Liu X. Effect of soybean peptides against hydrogen peroxide induced oxidative stress in HepG2 cells via Nrf2 signaling. *Food Funct*. 2020;11(3):2725-2737. doi: 10.1039/c9fo01466g.
- Jin YJ, Pyo YH. Effect of Monascus-fermented soybean extracts on antioxidant and skin aging-related enzymes inhibitory activities. *Prev Nutr Food Sci*. 2017;22(4):376-380. doi: 10.3746/pnf.2017.22.4.376.
- Inoue Y, Itoh H, Aoki M, Ogawa S, Yamane T, Baba T, et al. Accelerating effect of soy peptides containing collagen peptides on type I and III collagen levels in rat skin. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2012;76(8):1549-1551. doi: 10.1271/bbb.120088.
- Wallo W, Nebus J, Leyden JJ. Efficacy of a soy moisturizer in photoaging: a double-blind, vehicle-controlled, 12-week study. *J Drugs Dermatol*. 2007;6(9):917-922.
- Kim SY, Kim SJ, Lee JY, Kim WG, Park WS, Sim YC, et al. Protective effects of dietary soy isoflavones against UV-induced skin-aging in hairless mouse model. *J Am Coll Nutr*. 2004;23(2):157-162. doi: 10.1080/07315724.2004.10719356.