مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/دوره نوزدهم / تابستان ۱۳۹۳/۱۰۲-۹۳

[DOI: 10.22102/19.2.93]

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020

بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی لجن بیولوژیک جدا شده از دریاچه نمک آران و بیدگل بر روی چند عامل پاتوژن باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک

حمید باباولیان[۱]، علی محمد لطیفی[۲]، مهرداد موسی زاده مقدم[۳]

۱. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... ، تهران، ایران.

۲. استادیار گروه بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... ، تهران، ایران، تلفن ثابت: ۸۸۶۱۷۷۱۲-۰۲۱، amlatify@yahoo.com

۳. دانشجوی دکتری مهندسی بافت، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... ، تهران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: دریاچه نمک آران و بیدگل یکی از دریاچه‌های پر شور در ایران است که سرشار از لجن های سیاه معدنی است. مطالعات نشان داده است که این نوع لجن حاوی آنتی بیوتیک‌های طبیعی و مواد معدنی است و این قابلیت را دارد تا در درمان بیماریهای مختلف مورد استفاده قرار گیرد. این مطالعه با هدف ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی لجن این دریاچه بر روی چند پاتوژن شایع مقاوم به آنتی بیوتیک انجام شد.

روش بررسی: به منظور بررسی خواص فیزیکوشیمیایی نمونه لجن از تست های XRD و XRF استفاده شد. جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی لجن نیز پس از بررسی الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک نمونه های باکتریایی که شامل سودوموناس آئروجینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کولی و اسینتوباکتر بومانی بودند از روش تعیین حداقل غلظت کشنده استفاده گردید. برای این منظور سریال رقتی از نمونه لجن (۰/۰۱ g/ml تا ۰/۶ g/ml) در محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه شد.

یافته ها : بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و مقایسه آن با نمونه تجاری شده خارجی نشان داد که درصد ترکیبات معدنی نمونه لجن دریاچه شبیه به نمونه تجاری است، به غیر از یون های Na^+ و Cl^- که در نمونه لجن دریاچه دارای درصد بیشتری است. بررسی فعالیت ضد میکروبی لجن بر روی سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک نشان داد که در ۹۰٪ سویه ها میزان MBC نمونه لجن g/ml ۰/۴ می باشد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج کسب شده می‌توان عنوان نمود این لجن قابلیت بسیار مناسبی برای تجاری سازی و فرآوری ترکیبات آن جهت عرضه در بازار و همچنین استفاده در کلینیک های لجن درمانی دارد.

واژه گان کلیدی: لجن معدنی، آران و بیدگل، ضد میکروبی، فیزیکوشیمیایی.

وصول مقاله :۹۲/۳/۱۸ اصلاحیه نهایی:۹۲/۱۰/۲۳ پذیرش:۹۲/۱۱/۱

[DOI: 10.22102/19.2.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020

مقدمه

دریاچه نمک آران و بیدگل یکی از دریاچه‌های موجود در منطقه کویر مرکزی ایران و بزرگترین حوضچه آب پر شور در ایران است. این دریاچه شکلی شبیه به یک مثلث دارد، که راس آن به سمت شمال می باشد. طول قاعده این مثلث ۳۵ کیلومتر و ارتفاع آن ۳۸ کیلومتر می باشد. عمق نمک آن بین ۵۴-۵ متر متغییر است که توسط لایه های خاک رس از یکدیگر جدا شده‌اند. ترکیبات تشکیل دهنده نمک دریاچه، موادی از قبیل سدیم کلراید، سدیم سولفات، منیزیم کلراید، منیزیم سولفات و .... بوده و بیشتر فصول سال خشک و اشباع از نمک است. ویژگی های شاخص این دریاچه از جنبه شیمیایی بالا بودن عیار منیزیم آن نسبت به سایر دریاچه‌ها و شورابه‌های مطالعه شده در ایران، از جنبه بیولوژیک میزان شوری اشباع نمک و لایه‌های رنگی نمک (قرمز ، نارنجی ، سبز ، سیاه) و از جنبه اقتصادی حصول مقدار زیاد نمک و وجود لجن‌های سیاه را می‌توان نام برد (۲ و ۱).

این لجن‌ها سرشار از آنتی بیوتیک های طبیعی، ویتامین ها در مقدار بالا و مواد معدنی شامل کلسیم، منیزیم، سدیم بروماید و یدین فلوراید هستند، این مواد مفید موجود در آن می توانند به پوست نفوذ کرده و پس از وارد شدن به جریان خون علاوه بر تحریک فیبرهای عصبی کوچک در لایه‌های خارجی پوست به گونه‌ای عمل کرده که کل سیستم عصبی تحریک شده و لذا در درمان بیماری‌های مختلف قابلیت استفاده را دارند (۵-۳). معروف ترین این لجن ها، لجن های سیاه معدنی جدا شده از دریاچه بحرالمیت می باشد. از خواص درمانی لجن های سیاه معدنی می توان درمان بیماریهای کلاژن پوستی مفصلی، پسوریازیس، ویتیلیکو، سلولیت، ضد پیری، خواص ضد میکربی بر ضد باکتری‌ها و قارچ های پاتوژن و غیر پاتوژن سطح پوست، درمان روماتیسم، آرتریت، نقرس، ورم زانو، درمان اختلالات عصبی، درمان بیماری‌های تنفسی مثل آسم، برونشیت و انواع سینوزیت ها، تسکین درد، آرامش دهنده عضلات و سم زدایی را نام برد. در کشورهای خارجی، از لجن‌ها و نمک طبی دریاچه بحرالمیت کشور اردن استفاده‌های بسیاری می‌شود؛ که از آن جمله می توان به تهیه محصولات بهداشتی و آرایشی و همچنین احداث کلینیک‌های درمانی اشاره نمود (۸-۶).

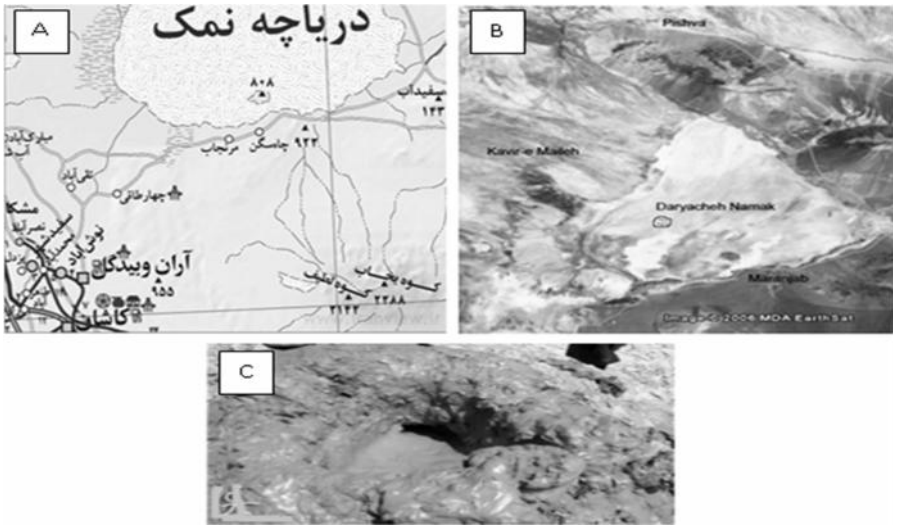
برای اولین بار در سال ۲۰۰۵، مائور و همکاران خواص ضد میکروبی لجن های سیاه معدنی را بر روی عوامل پاتوژن و غیر پاتوژن شایع سطح پوست مورد بررسی قرار دادند (۹) اما از آن زمان تحقیقات دیگری درزمینه بررسی خواص ضد میکروبی لجن در دنیا انجام نشده است. در ایران نیز برای اولین بار این مطالعه با هدف بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی لجن سیاه معدنی دریاچه نمک آران و بیدگل بر روی پاتوژن های شایع و غیر شایع پوست انجام گردید تا با شناسایی پتانسیل های این نوع لجن، زمینه استفاده‌های درمانی آن را بر اساس شناخت علمی آن فراهم نمود.

روش بررسی

عملیات صحرایی و انجام نمونه گیری

در یک مطالعه توصیفی- تحلیلی و به منظور بررسی خواص ضد میکروبی لجن‌های سیاه جلبکی، در ماه های اردیبهشت و آبان سال ۹۰ از نقاط مختلف دریاچه نمک آران و بیدگل که دارای شرایط مناسبی از نظر انباشت لجن بودند، نمونه‌گیری به صورت تصادفی از عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متری و در حجم های ۲۵۰ میلی لیتر (ظروف شیشه‌ای درب دار) انجام گرفت. سپس نمونه های جمع آوری شده از نظر نوع ترکیبات شیمیایی موجود در آن، فلور طبیعی میکروبی و فعالیت ضد میکروبی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در تصویر ۱ راه‌های دسترسی به دریاچه نمک آران و بیدگل و نقاط نمونه برداری نشان داده شده است.

[DOI: 10.22102/19.2.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020



تصویر۱: A: محل جغرافیایی دریاچه، B: تصویر ماهواره ای دریاچه و محل نمونه گیری از دریاچه، C: لجن دریاچه

آنالیز شیمیایی نمونه های جمع آوری شده

به منظور بررسی خواص فیزیکوشیمیایی نمونه های لجن از تست های XRF[1] جهت تعیین عناصر تشکیل دهنده و آنالیز XRD[2] به منظور تعیین سیستم کریستالی استفاده شد. از لجن استاندارد و تجاری شرکت فانگو[3] که دارای خاصیت آنتی سلولیت می باشد جهت بررسی و مقایسه نتایج استفاده گردید. برای این منظور نمونه لجن و نمونه استاندارد در دمای ۲۵ درجه خشک گردیدند و پودر آن تهیه شد، سپس برای بررسی و انجام آزمون های مربوطه به آزمایشگاه آنالیز مرکز تحقیقات زمین شناسی (تهران) فرستاده شد. در این آنالیزها ۵ گرم از پودر نمونه به عنوان مقدار استاندارد مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی ترکیبات لجنی

به علت کدورت نمونه لجن های مورد استفاده و عدم داشتن شرایط مناسب جهت استفاده در محیط کشت مایع و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آن به صورت حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC[4])، فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات با استفاده از روش تعیین حداقل غلظت کشنده یا MBC[5] بر روی پلیت مورد ارزیابی قرار گرفت.

سویه های میکروبی مورد استفاده

در این مطالعه سویه های استاندارد سودوموناس آئروجینوزا ATCC 27853، استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 33592، اشرشیا اکولی ATCC 43890 و اسنتو بومانی ATCC 17978 و ۴۰ سویه بالینی از هر یک از این باکتری‌ها (دریافت شده از بخش میکروبی آزمایشگاه بالینی بیمارستان‌های شهید مطهری و خاتم الانبیاء، تهران) مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک نمونه های بالینی

جهت ارزیابی الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک هر یک از گونه های باکتریایی (بالینی) از روش انتشار دیسک بر روی محیط مولر هینتون آگار استفاده گردید. آنتی بیوتیک های اختصاصی بر اساس استاندارد های لیست CLSI[6] 2010 انتخاب گردیدند (جدول شماره ۳)(۱۰). قبل از قرار دادن دیسک های آنتی بیوتیک در محیط کشت میزان ۰/۲

[1] - X-ray Fluorescence
[2] - X-ray Diffraction
[3] - Fango
[4] - Minimal Inhibitory Concentration

[5] - Minimal Bactericidal Concentration
[6] - Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards [NCCLS])

[DOI: 10.22102/19.2.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020

میلی‌لیتر از کشت مایع و تازه (OD_{600nm}=0.6) هر یک از گونه‌های باکتریایی که معادل کدورت ۰/۵ مک فارلن بود ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ CFU/ml) به طور مجزا بر روی این محیط تلقیح گردید و سپس پلیت ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیک هر یک از نمونه ها بر اساس قطر هاله عدم رشد در اطراف هر یک از دیسک ها و طبق جدول استاندارد CLSI تفسیر گردید (۱۱).

آماده سازی نمونه ها

جهت آماده سازی اولیه نمونه لجن معدنی، مقدار مناسب از این لجن داخل ۱۰ میلی لیتر محلول بافر KH_2PO_4 با غلظت M ۰/۱ حل گردید و به خوبی ورتکس شد. به منظور استریل کردن نمونه ها از اتوکلاو و دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد.

بررسی فعالیت ضد میکروبی بر اساس MBC

همانطور که قبلا اشاره شد جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی نمونه های لجن از تست MBC استفاده گردید، این کمترین غلظت از ماده ضد میکروبی است که مانع رشد ۹۹/۹ درصد از باکتری های تلقیح شده می گردد. برای این منظور پس از آماده سازی و اتوکلاو شدن نمونه ها، سریال رقتی (g/ml) از لجن معدنی (۰/۶، ۰/۵، ۰/۴، ۰/۳ ، ۰/۲، ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۲، ۰/۰۱) تهیه و هر یک به ۵ میلی لیتر از محیط کشت استریل مولر هینتون آگار حدود ۵۰ درجه سانتی گراد به صورت آسپتیک افزوده شده و با مخلوط کردن کامل داخل پلیت های استریل ریخته شد.

در ادامه طبق پروتکل استاندارد CLSI (، ۰/۱ میلی لیتر از از کشت مایع و تازه (OD_{600nm}=0.6) هر یک از گونه‌های باکتریایی که معادل کدورت ۵×۱۰^{۵} CFU/ml بود به طور جداگانه بر روی محیط کشت حاوی لجن تلقیح گردید و سپس پلیت ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از سپری شدن این زمان، برای هر یک از گونه ها رقتی از لجن که در آن بر روی محیط کشت هیچ گونه کلونی باکتریایی مشاهده نگردید به عنوان MBC لجن برای آن گونه گزارش می‌گردد. از کشت بر روی محیط مولر هینتون فاقد لجن نیز به عنوان کنترل منفی استفاده گردید (۱۱).

تعیین فلور میکربی لجن بیولوژیک

به منظور تعیین و جداسازی فلور میکربی موجود در لجن دریاچه از محیط نوترینت آگار همراه ۳٪ نمک و غنی شده با ۰/۵ پپتون و ۰/۳ عصاره مخمر استفاده شد. برای این منظور پلیت ها به مدت ۳ روز در انکوباتور در دمای ۳۴ درجه سانتی گراد انکوبه شده و سپس سویه های جدا شده خالص شدند. نمونه کنترل پماد شرکت فانگو بود که از آن نیز یک سویه میکربی جدا گردید. آرایش ماکروسکپی و میکروسکپی سویه‌های جدا شده در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

بررسی آماری

برای این منظور از نرم افزار SPSS 15 و از آزمون t تست استفاده گردید. آزمایشات هر یک سه بار تکرار گردید و میانگین سه تکرار در مقایسه با نتایج بدست آمده از نمونه‌های شاهد با ضریب اطمینان ۹۹ درصد گزارش گردید.

یافته ها

در جداول ۱ و ۲ به ترتیب آنالیز کمی (XRF) نمونه های لجن و نمونه استاندارد نشان داده شده است. مقایسه صورت گرفته نشان می دهد که نمونه لجن دریاچه آران و بیدگل در مقایسه با نمونه استاندارد دارای درصد سدیم (حدود ۶ برابر) و کلر (حدود ۸ برابر) بیشتری با یک اختلاف معنی‌دار می باشد($P < ۰/۰۵$).

همچنین آنالیز XRD نمونه لجن نشان داد که نمونه لجن جمع آوری شده شامل کریستال های Halite (NaCl)، Calcite ($CaCO_2$) و Quartz (SiO_2) می باشد در

[DOI: 10.22102/19.2.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020

حالیکه نمونه استاندارد علاوه بر این ترکیبات وجود کریستال های رسی[7] را نیز نشان داد.

در ادامه به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی لجن از سویه های باکتریایی با بالاترین نرخ مقاومت به آنتی بیوتیک های رایج و اختصاصی استفاده گردید. نتایج برای سویه های مورد بررسی (۴۰ سویه برای هر گونه) و هر یک از آنتی بیوتیک های انتخاب شده بر اساس درصد نرخ سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک در بین کل سویه های انتخاب شده برای هر گونه در جدول ۳ نشان داده شده است.

پس از مشخص شدن الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک تمامی سویه های جمع آوری شده، تعداد ۲۵ سویه از هر گونه که دارای گسترده‌ترین الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک بودند به عنوان نمونه های نهایی انتخاب شدند و فعالیت حداقل غلظت کشنده نمونه لجن علیه آن ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج در جدول ۴ نشان داده شده است، بر اساس این نتایج در هر چهار گونه باکتریایی در ۹۰ درصد نمونه ها حداقل غلظت کشنده لجن ۰/۴ g/ml می باشد (MBC_{90}) که این غلظت برای نمونه های استاندارد ۰/۳ g/ml است.

بررسی فلور طبیعی نمونه لجن برداشت شده از دریاچه آران و بیدگل نیز نشان داد که بیشتر سویه های موجود در لجن، باسیل گرم مثبت اسپوردار می باشندکه بیشتر این سویه ها دارای اگزوپلیمر بودند. برای بررسی اگزوپلیمر تولید شده از محیط[8] GMS broth استفاده گردید.

جدول ۱. آنالیز کمی نمونه لجن

فرمول شیمیایی	درصد موجود
Sio_2	۲۹/۵۰
Al2o3	۹/۱۰
Fe_2o_3	۵/۰۶
So_3	۳/۱۵
Na	۷/۰۵
K_2o	۲/۹۰
Cao	۱۰/۰۴
Mgo	۴/۴۸
Cl	۱۰/۸۹
Tio_2	۰/۴۸
L.O.I.	۱۷/۱۶

جدول۲. آنالیز کمی نمونه Fango

فرمول شیمیایی	درصد موجود
Sio_2	۳۹/۷۰
Al_2o_3	۱۲/۲۰
Fe_2o_3	۵/۲۷
So_3	۲/۱۵
Na	۱/۶۲
K_2o	۲/۶۳
Cao	۱۱/۸۹
Mgo	۳/۲۳
Cl	۲/۵۰
Tio_2	۰/۶۶
L.O.I.	۱۸

[7] - Clay Mineral
[8] - Glucose Mineral salt

[DOI: 10.22102/19.2.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020

. جدول ۳. الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک نمونه های بالینی

Antibiotic Disks	Resistance rate of isolates to each antibiotic (%)			
	P. aeruginosa	*A. baumannii*	*E. coli*	*S. aureus*
Ceftazidime	---	> ۶۵	> ۸۰	
Kanamycin	---	---	> ۶۰	> ۸۰
Penicillin	---	-- -	---	> ۹۰
Rifampin	---	---	---	> ۷۰
Gentamicin	> ۹۰	> ۸۵	> ۷۵	> ۸۰
Amikacin	> ۶۵	> ۶۰	> ۵۰	---
Ciprofloxacin	> ۸۰	> ۸۵	> ۹۰	> ۷۵
Imipenem	> ۷۵	> ۹۰	> ۸۰	---
Norfloxacin	> ۸۰	---	> ۸۵	> ۸۰
Cefotaxime	> ۶۰	> ۹۰	>۸۵	---
Ampicillin	---	---	---	---
Chloramphenicol	---	---	---	---

* آزمون بررسی و تعیین الگوی مقاومت برای تمامی نمونه ها سه بار تکرار گردید ($p<0.05$).

جدول ۴. اثر ضد میکروبی لجن معدنی بر اساس MBC بر روی نمونه های بالینی باکتری های مورد بررسی

		MBC (g/ml)	
Standard Strains	***Rang***	***50%***	***90%***
P. aeruginosa ATCC 27853	۰/۳	---	---
A. baumannii ATCC 17978	۰/۳	---	---
E. coli ATCC 43890	۰/۳	---	---
S. aureus ATCC 33592	۰/۳	---	---
Clinical isolates			
P. aeruginosa ATCC 27853	۰/۳-۰/۵	۰/۳	۰/۴
A. baumannii ATCC 17978	۰/۳-۰/۵	۰/۳	۰/۴
E. coli ATCC 43890	۰/۳-۰/۵	۰/۳	۰/۴
S. aureus ATCC 33592	۰/۳-۰/۵	۰/۳	۰/۴

*آزمون بررسی و تعیین اثر ضد میکروبی لجن برای تمامی نمونه ها سه بار تکرار گردید.

[DOI: 10.22102/19.2.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020

بحث

لجن درمانی، اصطلاحی قدیمی است که به استفاده از پتانسیل‌های گل و لجن غنی از مواد معدنی و گیاهی غیر قابل حل در آب جهت بهبود و درمان بیماریها اطلاق می‌شود که تا دهه های اخیر به صورت تجربی مورد استفاده قرار می‌گرفت. اما در سال‌های اخیر روش ها و پروتکل‌های درمانی مدرنی جهت استفاده از آن تدوین گردیده است که نشان دهنده اهمیت و ترجیح مردم در استفاده از طب و درمان سنتی بجای استفاده از داروهای شیمیایی به علت عوارض کمتر این ترکیبات است (۱۲). در سال های اخیر دو کشور آلمان و انگلستان پیشرو در این زمینه بوده اند به طوریکه با طراحی و ایجاد حمام های گلی تشکیل یافته از لجن معدنی پیشرو در درمان به این شیوه می باشند. آنچه در استفاده از این لجن ها قابل توجه است نوع فعالیت و اثرگذاری آن ها در سلامتی و رفع اثرات بیماری است، مطالعات نشان داده است که محتوای ترکیبات تشکیل دهنده و میزان موثر بودن لجن وابسته به نوع و پوشش گیاهی فرسایش یافته و خاک آن منطقه می باشد و لذا پتانسیل درمانی هر یک از آنها با توجه به مواد معدنی موجود در خاک و گیاهی که در آن ناحیه یافت می شود، متفاوت می‌باشد. مطالعات نشان داده است که گل لجن موجود در دریای بحرالمیت (بین فلسطین و اردن) و همچنین دریاچه ارومیه به علت دارا بودن آنتی بیوتیک های طبیعی، ویتامین‌ها، مواد معدنی و مواد نایاب و سایر مواد ساختاری مناسب، بهترین نوع لجن های طبی می باشند (۶).

این لجن ها از نوع سیاه یا خاکستری تیره می باشند که علت آن وجود سولفید آهن در گل و لای آن است. همچنین این لجن ها با توجه به نوع ترکیبات موجود در خود دارای فلور میکروبی طبیعی نیز می باشند که با تولید ترکیبات آلی و آروماتیک باعث ایجاد یکسری خواص مفید از جمله فعالیت ضد میکروبی در لجن می‌گردند (۶). همانطور که اشاره گردید این لجن ها سرشار از آنتی بیوتیک های طبیعی، ویتامین‌ها در مقدار بالا و مواد معدنی شامل کلسیم، منیزیم، سدیم بروماید و یدین فلوراید می باشند. لذا این قابلیت را دارند که در کنار استفاده های درمانی طبیعی به عنوان منبعی قابل توجه جهت جداسازی این ترکیبات و تجاری سازی آن ها مورد استفاده قرار گیرند (۱۳و ۶). در حال حاضر کمپانی هایی در سطح جهان هستند که از این قابلیت ها استفاده نموده و انواع محصولات تولید شده از لجن را به بازار عرضه کرده اند که می توان به کمپانی Raya تولید کننده مواد آرایشی بهداشتی در آمریکا، کمپانی SPA در فلسطین اشغالی، کمپانی AliBaba در مصر، کمپانی Montagne Jeunesse انگلستان اشاره نمود. در این میان شرکت Borghese ایتالیا نوعی لجن سیاه معدنی بسته بندی شده را در شکل طبیعی به عنوان ماسک پوستی عرضه نموده است.

دریاچه آران و بیدگل نیز با دارا بودن منبعی مناسب از لجن معدنی سیاه دارای پتانسیل های بالقوه ای جهت لجن درمانی طبیعی و استفاده از قابلیت ترکیبات ساختاری آن به منظور تجاری سازی محصولات فرآوری شده مشابه آنچه در دنیا در حال انجام می باشد، است. برای این منظور شناخت ساختار فیزیکوشیمیایی لجن از نظر ترکیبات معدنی موجود در آن و همچنین محتوای بیولوژیک و فلور میکروبی به عنوان اولین قدم ارزیابی ضروری است. آنالیز کمی (XRF) ترکیبات معدنی نمونه و مقایسه آن با مواد معدنی موجود در لجن فانگو نشان داد که دو نمونه از نظر نوع مواد معدنی و درصد تشکیل دهنده بسیار شبیه به یکدیگر می‌باشند، تنها اختلاف قابل توجه در مورد یون های Na^+ و Cl^- بود. نتایج نشان داد که درصد یون های Na^+ در لجن نمونه و فانگو به ترتیب ۷/۰۵ و ۱/۶۲ و برای یون Cl^-، ۱۰/۸۹ و ۲/۵۰ درصد می باشد. با توجه به این نتایج در لجن دریاچه آران و بیدگل میزان درصد یون Na^+ حدود ۶ برابر و یون Cl^- حدود ۸ برابر نمونه تجاری فانگو می باشد که نشان دهنده محتوای نمک بیشتر نمونه لجن دریاچه می‌باشدکه این نیز با توجه به شرایط دریاچه آران و بیدگل

[DOI: 10.22102/19.2.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020

قابل توجیه است زیرا لجن تجاری فانگو از منطقه تاسکانی[9] کشور ایتالیا (ناحیه تیره رنگ در نقشه) استخراج و تهیه می‌گردد که یک منطقه جنگلی در حاشیه دریای مدیترانه است که از محتوای نمکی بسیار کمتری در مقایسه با دریاچه برخوردار می باشد.

تصویر۲: محل جغرافیایی منطقه تاسکانی در ایتالیا (منطقه تیره رنگ)

آنالیز و مقایسه XRD نمونه لجن و فانگو نشان داد که نمونه فانگو دارای کریستال های رسی است. کریستال های رسی معمولا از جنس آلومینیوم فیلوسیلیکات آبدار[10] با فرمول شیمیایی $Al_2Si_4O_{10}(OH)_2$ می باشند که با توجه به شرایط موجود در منطقه تاسکانی که ناحیه ای مرطوب، صخره ای و جنگلی است (در مقایسه با منطقه آران و بیدگل کویری) وجود این نوع کریستال ها در لجن قابل انتظار می‌باشد. بر اساس این نتایج ترکیبات معدنی این دو نمونه تقریبا مشابه بوده، از طرفی محتوای نمکی لجن سیاه ناحیه دریاچه آران و بیدگل در مقایسه با نمونه تجاری فانگو بیشتر است که این موضوع می تواند نشان دهنده قابلیت های درمانی و طبی مناسب تر لجن فوق در مقایسه با نمونه تجاری مورد نظر باشد.

همچنین بررسی فعالیت آنتی باکتریال این لجن روی سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک چهار گونه باکتریایی سودوموناس آئروجینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا اکولی و اسنتو بومانی نشان داد که وجود عصاره خشک شده نمونه لجن جداشده از دریاچه به میزان ۰/۴ g/ml در محیط کشت جامد می تواند مانع رشد بیش از ۹۰ درصد سویه‌های مقاوم هر گونه گردد. تاکنون مطالعاتی جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی این نوع لجن ها در ایران صورت نگرفته است و فقط تحقیقاتی در مورد خواص درمانی لجن دریاچه ارومیه صورت گرفته است. در دنیا نیز برای اولین بار در سال ۲۰۰۵ مائور و همکاران (۹) خواص ضد میکروبی لجن های سیاه معدنی عمق دره ریفت آفریقا[11] (به طور متوسط ۴۱۷ متر پائین تر از سطح آزاد دریاها) را بر اساس حداقل غلظت کشنده (MBC) و دیسک های حاوی ۰/۱ ml از عصاره لجن را علیه نمونه‌های استاندارد چهار عامل میکروبی شایع در سطح پوست شامل *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Propinobacterium acnes* و *Candida albicans* مورد ارزیابی قرار دادند. میزان نمک این دریاچه دارای غلظتی در حدود ۳۴۰ g/L بوده و مهمترین عناصر موجود در آن Mg^{2+}، Ca^{2+}، Na^{+}، K^{+}، Br^{-} و Cl^{-} می باشند. نتایج آن ها نشان داد که عصاره لجن بر روی عوامل باکتریایی اشرشیا کولی و استافیلوکوکوس اورئوس موثر نمی باشد اما هاله عدم رشد دو عامل کاندیدا آلبیکنس و پروپینوباکتر آکنه در اطراف دیسک ها مشاهده گردید.

در سال ۲۰۰۸ نیز نیکووا و همکاران، کمپلکس میکروبی و ترکیبات معدنی لجن دریاچه نمک تیناکی[12] در ناحیه آستاراخان روسیه را مورد بررسی قرار دادند. مطالعات آنها نشان داد که $NaCl$, $MgCl_2$ و $CaCl_2$ بیشترین ترکیبات

[9] - Tuscany
[10] - hydrous aluminium phyllosilicates
[11] - Syrio-African Rift Valley
[12] - Tinaki

[DOI: 10.22102/19.2.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020

معدنی موجود در لجن این ناحیه می باشند، همچنین بررسی محتوای میکروبی لجن نشان داد بیشترین فلور میکروبی موجود در آن از نوع الیگونیتروفیلیک[13] است که تجزیه کننده نیتروژن موجود در ترکیبات آلی بوده و فعالیت آن ها منجر به تولید ترکیباتی می گردد که لجن را از نظر فیزیکوشیمیایی مستعد استفاده های درمانی می کند (۱۴). در سال ۲۰۱۲ ماریام و همکاران خواص ترمیمی لجن سیاه دریا بحرالمیت را از دیدگاه بافت شناسی روی زخم های جلدی در مدل موشی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این گروه نشان داد که استفاده از این نوع لجن در مقایسه با نوع طبیعی کرم های مورد استفاده می تواند زمان ترمیم زخم های پوستی را تسریع کند (۱۵).

با توجه با نتایج پایه کسب شده توسط گروه ما و مقایسه آن ها با نمونه تجاری و مطالعات گزارش شده به نظر می رسد که لجن سیاه دریاچه آران و بیدگل دارای پتانسیل های بسیار مناسبی جهت استفاده و تجاری سازی می باشد که البته این هدف مستلزم مطالعات گسترده تر و دقیق تری جهت فرآوری آن می باشد.

نتیجه گیری

باید در نظر داشت که شرکت فانگو لجن سیاه را به صورت طبیعی و فقط در بسته بندی های محافظت کننده و فرآوری اولیه با قیمت ۶۶ دلار عرضه می کند که نشان دهنده سود تجاری بالای این نوع محصولات بدون استفاده از هیچگونه ماده اولیه هزینه بر می باشد. لذا همانطور که اشاره گردید توجه به پتانسیل های طبیعی لجن سیاه دریاچه آران و بیدگل و مناطقی دیگر از این نوع می تواند در کنار عرضه در داخل، با توسعه صادرات لجن طبیعی و فرآورده های حاصل ازآن سودآوری مناسبی برای کشور کسب نمود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در آزمایشگاه های تحقیقاتی مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کاربردی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته است لذا از تمامی پرسنل وهمکاران در این آزمایشگاها به سبب کمک های صمیمانه شان تشکر و قدردانی می گردد.

[13] - Oligonitrophilic microorganism

[DOI: 10.22102/19.2.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:26 +0430 on Thursday July 16th 2020

Reference

1. Shahrabi M. Seas and lakes of Iran. Iranian Geography Organization Press 1989.p. 247-259.
2. Babavalian H, Amoozegar MA, MosazadehMoghaddam M, Shakeri F. Isolation and identification of moderately halophilic bacteria producing hydrolytic enzymes from the largest hypersaline playa in Iran. Microbiol2013; 82: 466-474.
3. Proksch E, Nissen HP, Bremgartner M, Urquhart C. Bathing in a magnesium-rich Dead Sea salt solution improves skin barrier function, enhances skin hydration, and reduces inflammation in atopic dry skin. InterJ Dermtol2005; 44:151-157.
4. Khlaifat A, Al-khamis T. Dead sea mud slurry flow in a horizontal pipe. Jordan J MechIndEng 2009; 3: 168-173.
5. Halevy S, Sukenik S. Different modalities of spa for skin diseases at the Dead Sea area. Arch Dermatol 1998; 34: 1416-1420.
6. Chadzopulu A, Adraniotis J, Theodosopoulou E. The therapeutic effects of mud. Pro Heal Sci2011;1: 132-136.
7. Bellometti S, Giannini S, Sartori L, Crepaldi G. Cytokine levels in osteoarthrosis patients undergoing mud bath therapy. Int J ClinPharmacol Res 1997;17:149-53.
8. Evcik D, Kavuncu V, Yeter A, Yigit I. The efficacy of balneotherapy and mud-pack therapy in patients with knee osteoarthritis. Joint Bone Spine 2007;74:60-5.
9. Ma'or Z, Henis Y, Alon Y, Orlov E, Sorensen KB, Oren A. Antimicrobial properties of Dead Sea black mineral mud. InterJ Dermtol2006; 45: 504-511.
10. NCCLS:National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved standard M7-A6, 2010.
11. Moosazadeh Moghaddam M, Abolhassani F, Babavalian H, Mirnejad R, Azizi BA, and Amani J. Comparison of in vitro antibacterial activities of two cationic peptides CM15 and CM11 against five pathogenic bacteria: Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Vibrio cholerae, Acinetobacterbaumannii, and Escherichia coli. Probiotics Antimicrob Proteins2012; 4: 133-139.
12. Suárez M, González P, Domínguez R, Bravo A, Melián C, Pérez M, and et al. Identification of organic compounds in San Diego de los BañosPeloid (Pinar del Río, Cuba). J Altern ComplementMed 2011; 17: 155-65.
13. Kim JH, Lee J, Lee HB, Shin JH, Kim EK. Water-retentive and anti-inflammatory properties of organic and inorganic substances from Korean sea mud. Nat Prod Commun 2010; 5; 395-8.
14. Sal'nikova NA, Polyanskaya LM, Tyugai Z, Sal'nikov AL, Egorov ME. Microbial complexes of therapeutic mud from Lake Tinaki-1. EurasianSoilSci 2008; 41: 1302-1305.
15. Mariam A, Abu-Al-Basal. Histological evaluation of the healing properties of dead sea black mud on full-thickness excision cutaneous wounds in BAL/c Mice. Pak J BiolSci 2012; 15: 306-315.