Nova Biologica Reperta 7(1): 30-36 (2020)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.7.1.30

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۷، شماره ۱، صفحات ۳۰الی ۳۶ (۱۳۹۹)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

تولید فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید توسط سودوموناس آئروجینوزا: بررسی فعالیت و پایداری آنتی‌بیوتیکی در شرایط محیطی مختلف

علی بهرامی[۱]، بیتا جناب‌زاده[۱]، حمید مثمری[۱] و محمدداود غفاری[۲]

[۱]مجتمع دانشگاهی شیمی و مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر ، ایران؛[۲]دانشکده علوم، دانشگاه شاهد، ایران
مسئول مکاتبات: علی بهرامی ، a_bahrami@mut.ac.ir

چکیده. فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید (PCA) از جمله ترکیبات آنتی‌بیوتیکی مؤثر بر گستره وسیعی از میکروارگانیزم‌ها به‌شمار می‌آید. این ترکیب در صنایعی همچون دارویی، کشاورزی و کنترل آفات، صنایع دریایی، صنایع شیمیایی و هم‌چنین تصفیه آب کاربرد دارد. در پژوهش حاضر PCA با استفاده از سویه بومی سودوموناس آئروجینوزا MUT.3 که در کلکسیون میکروبی دانشگاه صنعتی مالک اشتر نگه‌داری می‌شود، تولید شد. در ادامه، تاثیر دما و شرایط نور بر فعالیت آنتی‌بیوتیک مذکور در طی ۲۳۰ روز تحت بررسی واقع شد. با بهره‌گیری از آزمون کروماتوگرافی با عملکرد بالا (HPLC) میزان افت غلظت PCA در طول مدت آزمایش تحت بررسی قرار گرفت. هم‌چنین تغییر فعالیت آنتی‌بیوتیک با استفاده از روش تعیین میزان حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی آنتی‌بیوتیک (MBC) بر سویه *E. coli DH5α* تعیین شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که PCA به دور از نور و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قابلیت فعالیت تا ۲۱۰ روز را دارد. این درحالی بود که با افزایش دما به ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد مدت زمان این فعالیت به‌ترتیب به ۱۰۰ و ۵۰ روز کاهش یافت. هم‌چنین با در معرض نور قرار دادن آنتی‌بیوتیک PCA مشخص شد که فعالیت آن از ۲۱۰ روز به ۱۲۰ و ۱۰ روز به‌ترتیب تحت نور مرئی و نور فرابنفش کاهش می‌یابد. نتایج MIC و MBC حاصل از نمونه‌ها تأییدکننده نتایج به‌دست آمده بود. به‌این ترتیب، پژوهش حاضر موجب حصول اطلاعاتی دقیق از میزان فعالیت و پایداری آنتی‌بیوتیک فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید تحت شرایط محیطی مختلف شده که می‌تواند در کاربردهای صنعتی آن بسیار راه‌گشا باشد.

واژه‌های کلیدی. فنازین، پایداری آنتی‌بیوتیک، پایداری دمایی، پایداری نوری، فعالیت ضدباکتریایی

Phenazine 1- carboxylic acid (PCA) produced by *Pseudomonas aeroginosa* MUT.3: a study on its stability and antibacterial activity under various environmental conditions

Ali Bahrami[1], Bita Jenabzadeh[1], Hamid Mosmeri[1] & Mohammad Davoud Ghafari[2]

[1]Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Malek Ashtar University of Technology, Iran; [2]Faculty of Science, Shahed University, Iran
Correspondent author: Ali Bahrami, a_bahrami@mut.ac.ir

Abstract. Phenazine 1-corboxylic acid (PCA) is an antibiotic, which inhibits the growth of a vast number of micro-organisms. PCA has has been applied in fields such as pharmaceutical, agricultural, marine and chemical industries. In this study, the antibiotic properties of PCA (produced by *pseudomonas aeruginosa* MUT.3, which is kept at the Microbial Collection of Malek Ashtar University of Technology) was studied. The impacts of temperature and light conditions on the activity of PCA was investigated within a 230-day period. To investigate the rate of PCA destruction in the experiment, high performance liquid chromatography (HPLC) was utilized. Moreover, the antibacterial activity of PCA under various conditions was studied by minimum inhibitory (MIC) and minimum biocidal concentration (MBC) methods against *E. coli DH5α*. The results showed that PCA could be active up to 210 days in darkness (at 25ºC). Meanwhile, the antibacterial activity of PCA was reduced to 100 and 50 days by increasing the temperature to 35 and 45ºC, respectively. In addition, PCA could be active up to 120 and 10 days in visible and ultraviolet light condition, respectively. The MIC and MBC data were consistent with the HPLC results. Detailed data on the activity and stability of phenazine 1-corboxylic

Received 14.06.2017/ Revised 10.01.2018/ Accepted 04.03.2018/ Published 04.04.2020
دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۲۴/ اصلاح: ۱۳۹۷/۱۰/۲۰/ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۴/ انتشار: ۱۳۹۹/۰۱/۱۶

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.3.5]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.30]

acid under various environmental conditions, as presented in this study, could be helpful in industries and healthcare services.

Keywords. antibacterial activity antibiotic stability, light stability, phenazine, temperature stability

مقدمه

فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید (PCA) ازجمله ترکیباتی با خاصیت آنتی‌بیوتیکی است که به‌عنوان متابولیتی ثانویه توسط گونه‌های مختلفی از سودوموناس‌ها تولید می‌شود (Mazzola et al.,1992; Pierson & Pierson, 2006). این ترکیب بر تعداد بسیار زیادی از موجودات زنده از جمله باکتری، قارچ، گیاهان، انگل‌ها و حتی انسان مؤثر است (Mavrodi et al., 2006). با توجه به تاثیر PCA بر موجودات زنده مختلف، کاربردهای وسیعی در حوزه‌های دارو، بهداشت و صنعت برای این ترکیب در نظر گرفته می‌شود. پژوهش‌های بسیاری نیز در زمینه عملکرد آنتی‌بیوتیکی مشتقات فنازینی صورت پذیرفته است (Maddula et al., 2008; Chin-A et al., 2001; Selin et al., 2010). پژوهشگران با اصلاح ژنتیکی سویه تولیدکننده PCA موفق به کاهش تاثیر منفی متابولیت‌های تولید شده بر گونه‌های ناخواسته شدند (Bakker et al., 2002). علاوه‌براین، فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید قابلیت استفاده به عنوان ترکیب کنترل‌کننده بیماری‌های گیاهان را دارد (Mavrodi et al., 2011). در پژوهش‌های دیگری نیز PCA به عنوان عامل مهاری آلودگی قارچی گیاهان معرفی شده است (Hu et al., 2005; Upadhyay & Srivastava, 2011).

در پژوهشی شرایط مناسب جهت کشت سویه و تولید آنتی‌بیوتیک PCA تحت بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که دور همزن، دما و میزان نسبت مایه تلقیح از عوامل مؤثر بر تولید PCA به شمار می‌آیند (Su et al., 2010; Yuan et al., 2008). سویه تحت بررسی در پژوهش حاضر، سودوموناس آئروجینوزا (MUT.3) است که پیش‌تر تحت بررسی‌های بیشتری قرار گرفته بود. در پژوهشی دیگر تاثیر سن محیط کشت بر میزان خاصیت آنتی‌بیوتیکی متابولیت تولیدی توسط سویه MUT.3 تحت بررسی قرار گرفت (Nikzad et al., 2015). در ادامه، فرایند استخراج PCA از سویه مذکور بررسی شده و حلال مناسب جهت استخراج، اتیل استات تعیین شد (Mosmeri et al., 2016).

با وجود بررسی‌های بسیاری که در زمینه عملکرد مشتقات فنازینی در مهار بسیاری از موجودات زنده صورت گرفته است، متأسفانه هیچ‌گونه مطالعه‌ای در زمینه عوامل مؤثر بر عملکرد این ترکیبات آنتی‌بیوتیکی در شرایط محیطی مختلف صورت نگرفته است. در پژوهش حاضر، اثر عوامل محیطی (دمای محیط و شرایط نوری) بر ترکیب PCA تولید شده توسط سویه MUT.3 تحت بررسی و مطالعه قرار گرفته است. این بررسی به دستیابی به دانش مناسبی در زمینه استفاده و نگه‌داری PCA در زمینه‌های مختلف منجر می‌شود.

مواد و روش‌ها

تمامی ترکیبات مورد استفاده جهت تهیه محیط کشت و محلول‌ها در این پژوهش و نیز حلال اتیل استات از شرکت مرک خریداری شده است.

کشت باکتری

باکتری مورد استفاده، سویه سودوموناس آئروجینوزا MUT.3 است که از شهر اراک در ایران جدا شده و در کلکسیون دانشگاه صنعتی مالک اشتر نگه‌داری می‌شود. این سویه در محیط کشت حاوی: ۳ گرم عصاره مخمر، ۳ گرم پپتن کازئین، ۵ گرم عصاره گوشت، ۳ گرم گلوکز، ۱/۵ گرم K_2HOP_4، ۱/۵ گرم KH_2PO_4، ۵ NaCl گرم کشت شد. پس از سترون سازی محیط کشت به وسیله اتوکلاو، تلقیح به میزان ۵ درصد و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، در pH برابر ۷ و دور ۱۴۰ rpm به مدت ۴ روز تحت هم‌خوردن قرار گرفت (Nikzad et al., 2015).

استخراج آنتی‌بیوتیک

پس از ۴ روز گرماگذاری، محیط کشت در ۹۰۰۰ rpm توسط دستگاه سانتریفیوژ اپندورف مدل ۵۸۱۰R سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت حاصل شده جهت استخراج حلالی به نسبت ۱:۱ به اتیل استات اضافه و در دکانتور مخلوط شد. پس از جداسازی فاز آلی، توسط دستگاه تبخیرکننده دوار آنتی‌بیوتیک PCA به صورت عصاره تغلیظ شده حاصل شد (Mosmeri et al., 2016).

اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکننده‌گی (MIC) و حداقل غلظت زیست‌کشی (MBC) آنتی‌بیوتیک

در این پژوهش، به منظور بررسی تغییرات فعالیت ضد میکروبی آنتی‌بیوتیک فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید در طول مدت ۲۳۰ روز بررسی، از آزمون MIC و MBC به روش رقیق‌سازی آگار بر سویه *E.coli* DH5α استفاده شد. برای اطمینان از صحت نتایج، کلیه آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام شده و میانگین داده‌ها در این پژوهش گزارش شد. اندازه‌گیری MIC و MBC از طریق روش رقیق‌سازی آگار که توسط موسسه استاندارد بالینی و آزمایشگاهی CLSI ارائه شده و مطابق روش نیکزاد و همکاران صورت پذیرفت (Nikzad et al., 2015).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.3.5]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.30]

به این ترتیب، جهت اندازه‌گیری MIC، مقادیر مختلف از آنتی‌بیوتیک تولیدی در ۱ میلی‌لیتر متانول تهیه شده و در ۵۰ میلی‌لیتر LB آگار سترون ریخته و پس از اختلاط کامل به پلیت منتقل شد. پس از جامد شدن LB آگار، از لوله‌های آزمایش حاوی باکتری که با غلظت متناسب با ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شده بود کشت چمنی داده شد و پس از کشت به انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. پس از گذشت ۵ روز قابلیت مهار هر یک از باکتری‌های تحت بررسی توسط آنتی‌بیوتیک PCA ارزیابی شد.

به منظور تعیین میزان MBC یا قدرت کشندگی PCA، هر یک از باکتری‌ها تا زمانی که چگالی نوری آن‌ها به ۰/۵ برسد کشت شدند. سپس از هر باکتری به میزان ۱ mL از محیط کشت که در آن باکتری رشد کرده بود وارد ویال‌های سترون شده و در میکروسانتریفیوژ در ۹۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از رسوب‌گیری، سوپرناتانت خارج شده و به هر کدام از میکروتیوب‌ها به میزان ۱ mL از غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک که در حداقل متانول حل شده و توسط محیط مایع LB به حجم ۱ mL رسیده افزوده شد. در ادامه، ویال‌ها، به مدت یک ساعت در انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا آنتی‌بیوتیک موجود، امکان کشتن سلول‌ها را داشته باشد. پس از گذشت یک ساعت، با رقیق سازی متوالی و کشت روی پلیت، تعداد سلول‌های موجود در پلیت‌ها پس از ۵ روز و امکان زنده ماندن آن‌ها تحت بررسی قرار گرفت.

بررسی تاثیر دما و نور بر پایداری و فعالیت ضد میکروبی PCA

در پژوهش حاضر، فعالیت ضدمیکروبی و هم‌چنین پایداری آنتی‌بیوتیک فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید در برابر تخریب در شرایط مختلف محیطی از جهت نور و دما تحت بررسی قرار گرفت. این بررسی در مدت ۲۳۰ روز انجام شد. جهت بررسی پایداری، از آزمون کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) استفاده شد. طول و قطر ستون مورد استفاده به ترتیب ۱۵۰ و ۴/۵mm بودند. ستون مذکور با سیلیکاژل (C_{18}) که روی آن گروه اوکتادسیل نشانده شده بود پر شد. بررسی‌های HPLC در سرعت 5ml بر دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه تحت گرادیان ۱۰۰ درصد آب به ۱۰۰ درصد استونیتریل صورت پذیرفت. خروجی ستون نیز در طول موج ۲۵۰nm تحت بررسی قرار گرفت. نسبت میزان غلظت PCA باقیمانده به غلظت اولیه PCA با توجه به مساحت‌های زیر پیک اصلی هر یک از نمونه‌ها، با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

رابطه (۱)
$$\frac{C}{C_0} = \frac{\text{غلظت نهایی}}{\text{غلظت اولیه}} = \frac{\text{سطح زیر پیک اصلی نمونه نهایی}}{\text{سطح زیر پیک اصلی نمونه شاهد}}$$

با استفاده از نسبت‌های به دست آمده نمودار نسبت PCA باقیمانده بر حسب زمان برای هر یک از شرایط نوری و دمایی، ترسیم شد.

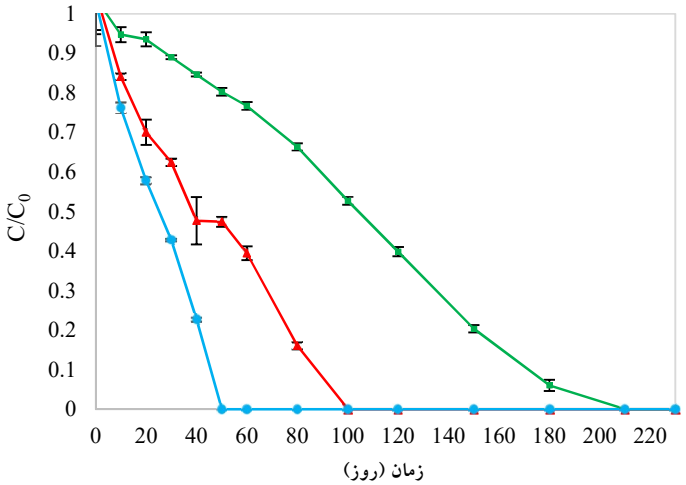
نتایج و بحث

تخریب PCA تحت شرایط دمایی مختلف

دما به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر پایداری ترکیبات آنتی‌بیوتیکی شناخته می‌شود. در این پژوهش تاثیر دماهای ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد بر پایداری PCA تحت مطالعه قرار گرفته است (شکل ۱). همان‌طور که در شکل ۱ مشخص است، افزایش دما موجب تخریب هرچه بیشتر PCA شده است. بنابراین فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید نیز مانند بسیاری از ترکیبات آنتی‌بیوتیک تحت تاثیر دما قرار می‌گیرد. لذا مناسب‌ترین شرایط نگه‌داری این ترکیب آنتی‌بیوتیک استفاده از دمای پایین است. به این ترتیب با توجه به نتایج ارائه شده در شکل ۱ مشخص شد که نیمه عمر PCA در دماهای ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ روز است.

پس از بررسی تاثیر دما بر غلظت آنتی‌بیوتیک PCA، مطالعات میکروبی نیز بوسیله آزمایش‌های MIC و MBC صورت پذیرفت. همان‌طور که در جدول ۱ ارائه شده است، در روزهای ۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ این بررسی‌ها انجام گرفت. همان‌طور که در جدول مشخص است، با افزایش دما میزان آنتی‌بیوتیک مورد نیاز جهت مهار و یا از بین بردن باکتری تحت بررسی (*E. coli DH5α*) افزایش یافته است. پژوهشی در زمینه تاثیر دما بر پایداری ماده ضدمیکروبی نیسین انجام شده است که نتایج مشابهی نیز در آن حاصل شد (Tan et al., 2015). در پژوهش دیگری نیز اثر دما بر پایداری سفتازیدیم و ونکومایسین بر سودوموناس آئروجینوزا تحت بررسی قرار گرفت که در نتیجه ۷ روز بررسی، با افزایش دما از ۴ به ۲۴ درجه سانتی‌گراد میزان فعالیت آنتی‌بیوتیک‌ها به میزان زیادی کاهش نشان داد. این در حالی بود که با بررسی اثر شرایط نوری مختلف بر آنتی‌بیوتیک‌های مذکور مشخص شد که نور تاثیر قابل توجهی بر آن‌ها نداشت (Karampatakis et al., 2009). هونگ و همکاران نیز بررسی مشابهی را بر عملکرد کیتوزان در شرایط دمایی مختلف انجام دادند که نتیجه آن نیز مشابه نتیجه حاصل شده در پژوهش حاضر است (No et al., 2006). پایداری دمایی از جمله مشخصات مهمی است که برای ترکیبات آنتی‌بیوتیکی باید مشخص شود، پژوهش‌های بسیاری در این زمینه و روی گستره وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها صورت گرفته است (Traub & Leonhard, 1995).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.3.5]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.30]



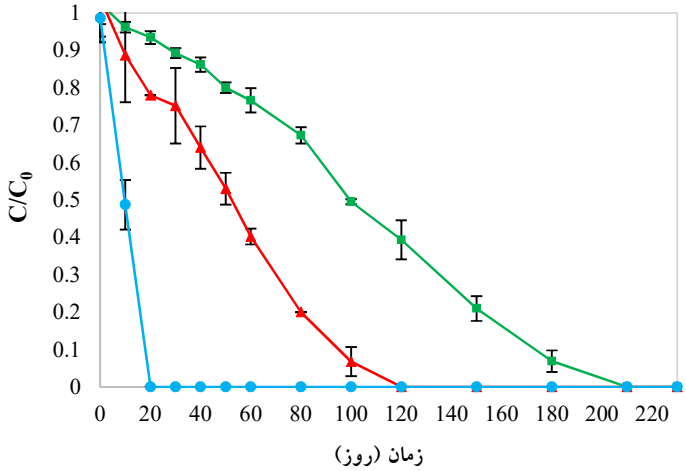
شکل۱- تخریب PCA در دماهای مختلف (محلول در متانول، نگه‌داری شده در تاریکی) (■) دمای ۲۵، (▲) دمای ۳۵، (●) دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد.

Fig. 1. PCA destruction at various temperatures (PCA was kept in methanol in a dark bottle) 25ºC (■), 35ºC (▲), 45ºC (●).

جدول ۱- نتایج MIC وMBC تحت تاثیر دماهای مختلف و در شرایط عدم حضور نور و غلظت ۲۰g/L از PCA در روش رقیق سازی آگار بر باکتری *E. coli DH5α*.

Table 1. The results of MIC and MBC at various temperatures in darkness by 20g/L of PCA in agar dilution method against *E. coli DH5α*..

45 ºC		35 ºC		25 ºC		
MBC	**MIC**	**MBC**	**MIC**	**MBC**	**MIC**	**Time**
(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(روز)
0.12	0.09	0.12	0.09	0.12	0.09	**0**
0.18	0.13	0.14	0.12	0.12	0.1	**20**
0.28	0.2	0.2	0.15	0.14	0.11	**50**
0.5	0.4	0.3	0.24	0.2	0.18	**100**
>1	>1	>1	>1	>1	>1	**200**



شکل ۲- تخریب PCA در شرایط نوری مختلف (محلول در متانول، نگه‌داری شده در ۲۵ درجه سانتی‌گراد). (■) عدم حضور نور، (●) تحت نور فرابنفش و (▲) تحت نور مرئی.

Fig. 2. PCA destruction in various light conditions (PCA was kept in methanol at 25ºC), darkness (■), ultraviolet (●), visible (▲).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.3.5]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.30]

جدول ۲- نتایج MIC و MBC در بررسی تاثیر نور تحت تاثیر دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۲۰g/L از PCA در روش رقیق سازی آگار بر باکتری *E. coli* DH5α

Table 2. The results of MIC and MBC in the study of the effect of light at 25°C and in the presence of 20g/L of PCA in agar dilution method against *E.coli DH5α.*

تحت نور فرابنفش		تحت نور مرئی		عدم حضور نور		
MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	زمان
(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(روز)
0.12	0.09	0.12	0.09	0.12	0.09	**0**
>1	>1	0.12	0.1	0.12	0.1	**20**
>1	>1	0.18	0.14	0.14	0.11	**50**
>1	>1	0.73	0.06	0.2	0.18	**100**
>1	>1	>1	>1	>1	>1	**200**

تخریب PCA تحت شرایط نوری مختلف

با توجه به کاربردهای مختلف PCA، این ترکیب ممکن است در معرض نور آفتاب قرار گیرد که شامل نور مرئی و نیز UV است. طبق گزارش‌های پیشین، بسیاری از ترکیبات آنتی‌بیوتیکی به نور حساس‌اند، لذا مطالعه اثر تابش فرابنفش- نور مرئی بر نرخ تخریب PCA در طول زمان ضروری است (Wu et al., 202). در این پژوهش، از یک لامپ رشته‌ای برای ایجاد نور مرئی و یک لامپ جیوه‌ای فشار بالا برای بررسی اثر تابش فرابنفش بر نرخ تخریب PCA استفاده شد (شکل ۲).

طبق نتایج حاصل شده، نیمه عمر PCA تحت نور مرئی اختلاف اندکی را نسبت به نیمه‌عمر آن در شرایط عدم حضور نور نشان داد. درحالیکه لامپ جیوه‌ای فشار بالا تا حد زیادی موجب کاهش نیمه عمر آنتی‌بیوتیک شد. آنتی‌بیوتیک PCA قابلیت فعالیت تا ۲۳۰روز را در شرایط عاری از نور از خود نشان داد، این در حالی بود که با اعمال نور فرابنفش، پایداری PCA تا حدود ۲۰ روز کاهش داشت. تحت نور مرئی نیز PCA ۱۲۰روز پایدار بود. به این ترتیب با توجه به نتایج ارائه شده در شکل ۲، میزان نیمه عمر PCA در شرایط عدم حضور نور، نور مرئی و فرابنفش به‌ترتیب در حدود ۸۸، ۵۰ و ۱۰ روز تعیین شد.

عموم آنتی‌بیوتیک‌ها از تابش نوری تاثیر می‌پذیرند و با توجه به ساختار آن‌ها، تخریب آنتی‌بیوتیک می‌تواند به روش‌های مختلفی صورت گیرد. پژوهش‌های بسیاری در این زمینه صورت پذیرفته است که حاکی از تاثیر مخرب تابش بر ترکیبات آنتی‌بیوتیکی است. در عین حال از روش‌های مطرح در زمینه تخریب و حذف آنتی‌بیوتیک‌ها از پساب و برخی محیط‌ها، استفاده از تابش نور است (Gao et al., 2016; Lima et al., 2017; Li and Shi, 2016; Yan et al., 2017; Ghauch et al., 2017; Lofrano et al., 2016). روش‌هایی نیز در راستای بهبود پایداری آنتی‌بیوتیک‌ها در دست است که با افزودن استخلاف‌هایی به آن‌ها و هم‌چنین دست‌ورزی مسیرهای سنتز و تولید آن در باکتری‌ها انجام می‌پذیرد (Guzmán-Trampe et al., 2017).

جدول ۲ ارائه دهنده میزان MIC و MBC در شرایط مختلف نوری طی ۲۰۰ روز بررسی است. نتایج حاصل شده کاملا مطابق با نتایج مشاهده شده در بررسی غلظت PCA توسط HPLC بود. به این ترتیب پس از ۲۰ روز بررسی، MIC و MBC نمونه‌ای که تحت تابش فرابنفش قرار گرفته بود به بیش از ۱g/L رسید. این امر حاکی از تاثیر مخرب اشعه فرابنفش بر آنتی‌بیوتیک است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل شده از بررسی میزان تخریب PCA در اثر افزایش دما و نیز تابش اشعه در طی ۲۳۰روز بررسی، مشخص شد که با افزایش دمای نگه‌داری، پایداری PCA کاهش یافت به نحوی که با افزایش دما از ۲۵ به ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد، نیمه عمر از ۱۰۰ روز به ترتیب به ۵۰ و ۲۵ روز کاهش نشان داد. هم‌چنین میزان پایداری آنتی‌بیوتیک تحت بررسی در طی دماهای ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۲۱۰، ۱۰۰ و ۵۰ روز تعیین شد. نتایج بدست آمده در این بخش از پژوهش حاضر، نشان دهنده اهمیت دما در شرایط نگه‌داری آنتی‌بیوتیک PCA است.

با بررسی تاثیر تابش بر PCA مشخص شد که اشعه فرابنفش بیش‌ترین تاثیر مخرب را بر آنتی‌بیوتیک دارد. به این ترتیب نیمه عمر PCA در شرایط عدم حضور نور و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، نور مرئی و نور فرابنفش به ترتیب به ۱۰۰، ۵۰ و ۱۰ روز کاهش یافت. این امر نشان دهنده شرایط خاص نگه‌داری PCA است که نیازمند حفظ این ترکیب آنتی‌بیوتیکی به دور از نور است. با بررسی‌های صورت گرفته مشخص شد که PCA قادر به فعالیت تا ۲۱۰، ۱۲۰ و ۱۰ روز به ترتیب در شرایط عاری از تابش نور، نور مرئی و نور فرابنفش است. پژوهش حاضر منجر به بینش مناسبی در زمینه فعالیت و عملکرد آنتی‌بیوتیک فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید در شرایط دمایی و تابشی مختلف شد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت مالی دانشگاه صنعتی مالک اشتر در انجام این تحقیق قدردانی می نماییم.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.3.5]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.30]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.3.5]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.30]

REFERENCES

Bakker, P.A., Glandorf, D.C., Viebahn, M., Ouwens, T. W., Smit, E., Leeflang, P. & van Loon, L.C. 2002. Effects of *Pseudomonas putida* modified to produce phenazine-1-carboxylic acid and 2, 4-diacetylphloroglucinol on the microflora of field grown wheat. Antonie Van Leeuwenhoek 81: 617-624.

Chin-A-Woeng T.F.C., Thomas-Oates, J.E., Lugtenberg, B.J.J., & Bloemberg, G.V. 2001. Introduction of the phzH gene of *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 extends the range of biocontrol ability of phenazine-1-carboxylic acid-producing *Pseudomonas* spp. strains. Mol. Plant Microb. Interact. 14: 1006-1015.

De Vleesschauwer, D., Djavaheri, M., Bakker, P.A. & Höfte, M. 2008. *Pseudomonas fluorescens* WCS374r-induced systemic resistance in rice against *Magnaporthe oryzae* is based on pseudobactin-mediated priming for a salicylic acid-repressible multifaceted defense response. Plant Physiol. 148: 1996-2012.

Gao, B., Dong, S., Liu, J., Liu, L., Feng, Q., Tan, N. & Wang, L. 2016. Identification of intermediates and transformation pathways derived from photocatalytic degradation of five antibiotics on ZnIn 2 S 4. Chem. Eng. J. 304: 826-840.

Ghauch, A., Baalbaki, A., Amasha, M., El Asmar, R., & Tantawi, O. 2017. Contribution of persulfate in UV-254nm activated systems for complete degradation of chloramphenicol antibiotic in water. Chem. Eng. J. 317: 1012-1025.

Guzmán-Trampe, S., Ceapa, C.D., Manzo-Ruiz, M. & Sánchez, S. 2017. Synthetic biology era: improving antibiotićs world. Biochem. Pharma. 134: 99-113.

Hu, H.B., Xu, Y.Q., Chen, F., Zhang, X.H. & HUR, B. K. 2005. Isolation and characterization of a new fluorescent *Pseudomonas* strain that produces both phenazine 1-carboxylic acid and pyoluteorin. J. Microb. Biotech. 15: 86-90.

Karampatakis, V., Papanikolaou, T., Giannousis, M., Goulas, A., Mandraveli, K., Kilmpasani, M. & Mirtsou-Fidani, V. 2009. Stability and antibacterial potency of ceftazidime and vancomycin eyedrops reconstituted in BSS® against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Acta Ophthalmologica 87: 555-558.

Li, D. & Shi, W. 2016. Recent developments in visible-light photocatalytic degradation of antibiotics. Chinese J. Catal. 37: 792-799.

Lima, M.J., Silva, C.G., Silva, A.M., Lopes, J.C., Dias, M.M. & Faria, J.L. 2017. Homogeneous and heterogeneous photo-Fenton degradation of antibiotics using an innovative static mixer photoreactor. Chem. Eng. J. 310: 342-351.

Lofrano, G., Libralato, G., Adinolfi, R., Siciliano, A., Iannece, P., Guida, M. & Carotenuto, M. 2016. Photocatalytic degradation of the antibiotic chloramphenicol and effluent toxicity effects. Ecotox. Environ. Safety 123: 65-71.

Maddula V.S.R.K., Pierson, E.A., Pierson I. L.S. 2008. Altering the ratio of phenazines in *Pseudomonas chlororaphis* (aureofaciens) strain 30-84: effects on biofilm formation and pathogen inhibition. J. Bacteriol. 190: 2759-2766.

Mavrodi, D.V., Blankenfeldt, W. & Thomashow, L.S. 2006. Phenazine compounds in fluorescent *Pseudomonas* spp. biosynthesis and regulation. – Annu. Rev. Phytopathol. 44: 417-445.

Mavrodi, D.V., Mavrodi, O.V., Parejko, J.A., Bonsall, R.F., Kwak, Y.S., Paulitz, T.C. & Weller, D.M. 2011. Accumulation of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid in the rhizosphere of dryland cereals. App. Environ. Microb. 78: 804-812.

Mazzola, M., Cook, R.J., Thomashow, L.S., Weller, D.M. & Pierson, L.S. 1992. Contribution of phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habitats. Appl. Environ. Microbiol. 58: 2616-2624.

Mosmeri, H., Bahrami, A., Ghafari, M.D. & Jazayeri K. 2015. Optimization of phenazine 1-carboxilic acid extraction by *Pseudomonas aeruginosa* MUT.3. J. Sep. Sci. Eng. 7: 65-74.

No, H.K., Kim, S.H., Lee, S.H., Park, N.Y. & Prinyawiwatkul, W. 2006. Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. Carbohyd. Poly. 65: 174-178.

Nikzad A., Salehi, S.Y, Bahrami, A. & Arabian, D. 2015. Comparison of fermentation time effect on phenazine 1- carboxylic acid (PCA) anti-corrosion antibacterial activity extracted from *Pseudomonas aeruginosa* MUT.3 strain against steel corrosive bacteria, New Cell. Molecul. Biotech. J. 5: 27-34.

Pierson, L.S. & Pierson, E.A. 2006. Phenazine antibiotic production by the biological control bacterium *Pseudomonas aureofaciens*: role in ecology and disease suppression. FEMS Microbol. Lett. 136: 101-108.

Selin, C., Habibian, R., Poritsanos, N., Athukorala, S.N.P., Fernando, D. & Teresa, R. 2010. Phenazines are not essential for *Pseudomonas chlororaphis* PA23 biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* but do play a role in biofilm formation. FEMS Microbiol Ecol. 71: 73-83.

Su, J., Zhou, Q. & Zhang, H. 2010. Medium optimization for phenazine-1-carboxylic acid production by a gacA qscR double mutant of *Pseudomonas* sp. M18 using response surface methodology. Biores. Tec. 101: 4089-4095.

Tan, Z., Luo, J., Liu, F., Zhang, Q. & Jia, S. 2015. Effects of pH, temperature, storage time, and protective agents on Nisin antibacterial stability. In Advances in Applied Biotechnology. Springer Berlin Heidelberg, pp: 305-312.

Traub, W.H. & Leonhard, B. 1995. Heat stability of the antimicrobial activity of sixty-two antibacterial agents. J. Antimicrob. Chemoth. 35: 149-154.

Upadhyay, A. & Srivastava, S. 2011. Phenazine-1-carboxylic acid is a more important contributor to biocontrol *Fusarium oxysporum* than pyrrolnitrin in *Pseudomonas fluorescens* strain Psd. Microbiol. Res. 166: 323-335.

Wu, S., Hu, H., Lin, Y., Zhang, J. and Hu, Y.H. 2020. Visible light photocatalytic degradation of tetracycline over TiO2. Chem. Eng. J. 382: 122-142.

Yan, M., Hua, Y., Zhu, F., Gu, W., Jiang, J., Shen, H. & Shi, W. 2017. Fabrication of nitrogen doped graphene quantum dots-BiOI/MnNb 2 O 6 pn junction photocatalysts with enhanced visible light efficiency in photocatalytic degradation of antibiotics. App. Catal. B: Environ. 202: 518-527.

Yuan, L., Li, Y. & Wang Y. 2008. Optimization of critical medium components using response surface methodology for phenazine-1-carboxylic acid production by *Pseudomonas* sp. M-18Q. Biosci. Bioeng. 105: 232- 237.

*****

How to cite this article:

Bahrami, A., Jenabzadeh, B., Mosmeri, H. & Ghafari, M.D. 2020. Phenazine 1- carboxylic acid (PCA) production by Pseudomonas aeroginosa MUT.3: the study on the stability and antibacterial activity under various environmental conditions. Nova Biologica Reperta 7: 30-36. (In Persian).

بهرامی، ع.، جناب‌زاده، ب.، مثمری، ح. و غفاری، م. د. ۱۳۹۹. تولید فنازین ۱-کربوکسیلیک اسید توسط سودوموناس آئروجینوزا: بررسی فعالیت و پایداری آنتی‌بیوتیکی در شرایط محیطی مختلف. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۳۶-۳۰.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.3.5]

[DOI: 10.29252/nbr.7.1.30]