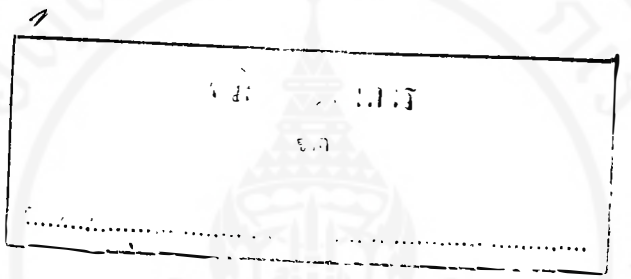
ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PEPTIDE ANTIBIOTICS PRODUCED BY *BACILLUS SUBTILIS*

JARUWAN PREECHABORISUTKUL



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1994

ชื่อวิทยานิพนธ์ การแยกและศึกษาคุณสมบัติของสารปฏิชีวนะประเภทเปปไทด์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Bacillus subtilis*

ผู้วิจัย จารุวรรณ ปรีชาบริสุทธิ์กุล

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ไสยวิชญ์	วรวินิต	Dr.Ing.
ชวนพิศ	ดีเอกนามกูล	Ph.D.
มานพ	สุพรรณธริกา	Ph.D.
สุจินต์	ชอบสงบ	Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 2 ธันวาคม พ.ศ. 2537

บทคัดย่อ

Bacillus subtilis NP-210 เป็น *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ที่แยกได้จากแป้งเสียจากโรงงานผลิตแป้งแห่งหนึ่งในจังหวัดนครปฐม ประเทศไทย ซึ่งพบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถสร้างสารประเภทเปปไทด์ มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ มีชื่อเรียกว่า BT 111 สามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดี สารปฏิชีวนะ BT 111 ถูกแยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางเคมี โดยตกตระกอนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ จากนั้นจึงทำให้บริสุทธิ์ต่อด้วย PLC และ HPLC ตามลำดับ พบว่าสารปฏิชีวนะ BT 111 นี้ ประกอบด้วยสารที่เป็นองค์ประกอบร่วมกันสองสารคือ BT 111 A และ BT 111 B จากการศึกษาทางเคมีพบว่าสารปฏิชีวนะ BT 111 นี้ประกอบด้วย กรดอะมิโน สาม ชนิด คือ ไกลซีน, กรดกลูตามิก และลูซีน นอกจากนี้ สารดังกล่าวค่อนข้างทนต่อความร้อนและทนต่อความเป็นกรดด่างได้ในช่วง pH ค่อนข้างกว้าง

Thesis Title	Isolation and Characterization of Peptide Antibiotics Produced by *Bacillus subtilis*
Name	Jaruwan Preechaborisutkul
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Thesis Supervisor Committee	Saiyavit Varavinit, Dr.Ing. Chuanpit De-eknamkul, Ph.D. Manop Suphantharika, Ph.D. Sujin Shobsngob, Ph.D.
Date of Graduation	2 December B.E. 2537 (1994)

ABSTRACT

Bacillus subtilis NP-210, isolated from starch waste collected from Nakhon Pathom province Thailand, was used as producer for the antibacterial substances named BT 111. BT 111 were isolated from fermentation broth by precipitation with organic solvent. Further purification was achieved by PLC. HPLC analysis showed that BT 111 were a complex composed of two components. One of the components was called BT 111 A and the other was called BT 111 B. Chemical characterization of the components indicated that they were peptides. Amino acid analysis of the acid hydrolysates of BT 111 revealed the presence of glycine (Gly), glutamic acid (Glu), and Leucine (Leu). They are active against both gram-positive, and particularly gram-negative bacteria. It was partially stable to heat, and active over a wide range of pH values.