

Abstract

Name : Ayman Hosamy Abdelhalim

Title of thesis : Extraction and purification of some antibiotics from *Bacillus subtilis* bacteria and study of its applications

Degree (Master) thesis , Faculty of Science , Cairo University ,2014.

- This study was conducted to producing and separating bacitracin and Rhamnolipid-Biosurfactant from *Bacillus subtilis* bacteria , recognize them by the instrument GC/MS (USA) , evaluate its antibacterial effect in different concentrations 100% , 80% , 60% , 40% and 20% of bacitracin and Rhamnolipid-Biosurfactant against *E.coli* ; *Salmonella typhimurium* ; *Shigella sonnei* ; *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* using disk diffusion method.

- The results cleared that 50 µl of bacitracin 100% and 80% were most effective on the growth of *Shigella sonnei* and *Salmonella typhimurium* (1.4 cm and 1.3 cm) .

- The antibacterial effect of 50 µl of bacitracin 100% , 80% , 60% , 40% and 20% against *E.coli* was 1.2 cm . *Listeria monocytogenes* did not affected by 50 µl of bacitracin at all concentrations. All tested microorganisms were affected by 100 µl of bacitracin in different concentrations . *Staphylococcus aureus* was the most microorganism sensitive to 100 µl of 100% and 80% bacitracin whose give 2.2 cm and 1.9 cm respectivity , follwing by *Listeria monocytogenes* (2.0 cm) .

-Regarding to Rhamnolipid-Biosurfactant , 50 µl of all concentrations showed no effect against any of tested microorganisms , wherase 100 µl of 100% , 80% , 60% , 40% and 20% was more effective against all tested microorganisms .

- *Staphylococcus aureus* showed high resistance to 100 μ l of 60% , 40% and 20% of Rhamnolipid-Biosurfactant . The effect of Rhamnolipid-Biosurfactant was similar on *E.coli* ; *Salmonella typhimurium* ; *Shigella sonnei* and ranged between 1.5 cm to 1.7 cm .

Keywords : *Bacillus subtilis* bacteria , bacitracin , Rhamnolipid-Biosurfactant .

Supervisors :

1. Prof. Dr. \ Abdou Osman Abdelhamid

2. Prof. Dr. \ Mahmoud Helmy Eltahan

3. Assistant prof. Dr. \ Ahmed Ibrahim Amin

Professor Dr. :

Hamid Abdellatif Abdelrahman

Chairman of Chemistry Department
Faculty of Science , Cairo University

مستخلص

الاسم : أيمن حسامى عبد الحليم

عنوان الرسالة : استخلاص وتنقية بعض المضادات الحيوية من بكتيريا باسيلس ساتليس ودراسة تطبيقاتها

الدرجة : ماجستير (كيمياء حيوية)

ملخص البحث :

هذه الرسالة تهدف الى انتاج و استخلاص باسيتراسين و رامنولييد-بيوسورفاكتنت من بكتيريا باسيلس ساتليس و التعرف عليهم بجهاز GC/MS (USA) و تقييم تأثيرهم فى تركيزات 100% و 80% و 60% و 40% و 20% ضد بكتيريا *E.coli* ; *Salmonella typhimurium* ; *Shigella sonnei* ; *Listeria monocytogenes* , *Staphylococcus aureus* باستخدام طريقة انتشار القرص .

النتائج اوضحت ان :

- 50 µl من باسيتراسين اثرت على نمو *Shigella sonnei* و *Salmonella typhimurium* (1.4 سم و 1.3 سم).

- تأثير 50 µl من باسيتراسين 100% و 80% و 60% و 40% و 20% ضد بكتيريا *E.coli* 1.2 سم.

- *Listeria monocytogenes* لا تتأثر ب 50 µl من باسيتراسين بكل تركيزاته.

- وجد ان 100 µl من باسيتراسين بكل تركيزاته اثر على نمو كل البيكتيريا المختبرة.

- اكثر انواع البيكتيريا تأثرا ب 100 µl تركيز 100% و 80% *Staphylococcus aureus* حيث انها اعطت 2.2 سم و 1.9 سم على التوالي .

- لا يوجد اى تأثير ل 50 µl رامنولييد- بيوسورفاكتنت بكل تركيزاته على كل انواع البيكتيريا

المختبره. لكن 100 µl رامنولييد- بيوسورفاكتنت 100% و 80% و 60% و 40% و 20% اعطى تأثير اوضح على كل انواع البيكتيريا المختبره.

- *Staphylococcus aureus* قاومت تأثير 100 µl رامنولييد- بيوسورفاكتنت تركيزات 60% و 40%.

- تأثير 100 µl رامنولييد- بيوسورفاكتنت متشابه على بكتيريا

CONTENTS

Subject	Page
List of Abbreviations	VI
List of tables	IX
List of figures	X
Introduction	1
Review of literature	12
Material and method	21
Results and Discussion	31
Summary and conclusion	45
References	49

ABBREVIATIONS

Abbreviation	Description
• μl	Microliter
• μm	Micrometre
• <i>B. megaterium</i>	<i>Bacillus megaterium</i>
• <i>B. pumilus</i>	<i>Bacillus pumilus</i>
• <i>B. pyocyaneus</i>	<i>Bacillus pyocyaneus</i>
• <i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
• <i>B. thuringiensis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
• BC	Bacitracin
• BS	Biosurfactants
• BS	Biosurfactants
• cm	Centimetres
• DNA	Deoxyribonucleic acid
• DNAs	Deoxyribonuclease
• <i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
• g	Gram
• GC	Gas Chromatography
• HPLC	High-performance liquid chromatography
• hrs.	Hours

• i.u.	International Unit
• L	Liter
• MEL	Mannosylerythritol
• mg	Milligram
• MIC	Minimal inhibitory concentration
• ml.	Milliliters
• mm	Millimetre
• mN/m	Millinewton per meter
• MS	Mass spectrometry
• MSD	Mass-selective detector
• N.	Normality
• nm	Nanometres
• NMR	Nuclear magnetic resonance
• °C	Celsius
• <i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
• pH	Power of hydrogen
• RCF	Relative Centrifugal Force
• RCF	Relative Centrifugal Force
• Rf	Distance moved by the compound ÷ distance moved by the solvent
• RLs	Rhamnolipids

• RNA	Ribonucleic acid
• RPM	Revolutions per minute
• spp.	Species
• <i>Staph. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
• TMS	Trimethylsilyl
• t-RNA	Transfer RNA
• U.	Unit quantity
• UP	Undecaprenyl phosphate
• UPP	Undecaprenyl pyrophosphate
• v.	Volume
• xg	Times gravity