หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

การอภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ได้คัดเลือกเชื้อ Bacillus spp. สายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้ง S. scabies ที่ทำให้เกิดโรคหูดของมันฝรั่ง ซึ่งได้มาจากดินที่เกาะติดอยู่บริเวณผิวมันฝรั่ง ในการคัดเลือกเชื้อเพื่อนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพนั้นแหล่งของจุลินทรีย์ควรได้จากแหล่งที่มีสิ่งแวดล้อมเหมือนกัน หรือจากแหล่งเดียวกัน เพราะจุลินทรีย์อาจจะไม่สามารถปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ ซึ่งมีผลให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เหมือนในห้องปฏิบัติการ (Gottlieb, 1976) จุลินทรีย์ที่ได้จากบริเวณผิวของเปลือกมันฝรั่งที่ผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้ง S. scabies นั้น นอกจากกลุ่ม Bacillus spp. แล้วยังมีกลุ่ม Streptomyces แต่ Bacillus spp. มีข้อได้เปรียบมากกว่าในด้านของการเจริญเติบโตได้เร็วกว่าจึงผลิตสารปฏิชีวนะได้มากกว่าในเวลาเท่ากัน และมีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดีไม่ยิ่งหย่อนไปกว่ากันเนื่องจากมีเอนโดสปอร์ และประกอบกับสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 สามารถเจริญได้แม้แต่สภาวะที่อุณหภูมิสูงถึง 55°ซ. หากนำไปใช้ควบคุมโรคพืชในแปลงเพาะปลูกจริง ๆ เมื่อถึงฤดูกาลต่อไปเชื้อ Bacillus sp. ก็ยังคงอยู่ซึ่งก็เป็นการลดต้นทุนที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชได้ และจากรายงานหลาย ๆ ฉบับที่ศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพนั้นพบว่า Bacillus spp. ให้ผลดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ (จิรเดช แจ่มสว่าง และบรรเจิด อินหว่าง, 2529; Weinhold และ Bowman, 1968; Mackeen, Reilly และ Pusey, 1986; Azad และคณะ, 1987)

จากการศึกษาครั้งนี้ได้ค้นพบเชื้อ Arthrobacter sp. ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เอื้ออำนวยต่องานวิจัยในครั้งนี้มาก กล่าวคือ สามารถทำหน้าที่เป็นจุลินทรีย์ตัวถูกทดสอบได้ดีพอ ๆ กับ S. scabies จึงสามารถใช้แทนกันได้ดังรูป 3.2 ข. แต่มีข้อได้เปรียบคือเจริญได้เร็ว สามารถทราบผลการยับยั้งภายในเวลาเพียง 8-12 ชม. เท่านั้น ในขณะที่ S. scabies ต้องใช้เวลาถึง 4 วัน จึงจะทราบผล หากมี Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 ปนเปื้อนเข้ามาก็จะสามารถผลิตสารปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นซึ่งทำให้ผลการทดลองผิดพลาดได้ แต่จากการใช้ Arthrobacter sp. เป็นจุลินทรีย์ตัวทดสอบแทน S. scabies นั้นไม่

จำเป็นต้องทำการกรองเพื่อให้น้ำหมักที่นำมาทดสอบปราศจากเชื้อ ซึ่งทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการกรองไปได้มาก แต่ในการศึกษาขั้นการคัดเลือกเชื้อและขั้นการหาสภาวะที่เหมาะสมในขวดเขย่านั้นก็ยังคงใช้ S. scabies เป็นจุลินทรีย์ตัวทดสอบเพื่อจะได้เป็นข้อมูลของ S. scabies นอกจากนี้ Arthrobacter sp. ยังมีความน่าสนใจที่สามารถเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์ได้

จากการคัดเลือกเชื้อในครั้งนี้ใช้การศึกษา 2 วิธี คือ วิธีการขีดไขว้ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็วเหมาะสำหรับการดูผลโดยประมาณการ โดยให้เชื้อยับยั้งกันส่วนอีกวิธีคือการซึมผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบบริเวณยับยั้งรอบกระดาษทดสอบซึ่งอิ่มตัวด้วยน้ำหมัก 20 ul ที่ปราศจากเชื้อ วิธีนี้จะเป็นวิธีที่เที่ยงตรงกว่าวิธีแรกจากตารางที่ 3.1 เชื้อ B5-B8 ไม่ให้ผลการยับยั้งโดยวิธีนี้ซึ่งเป็นไปได้ว่าสารปฏิชีวนะที่จุลินทรีย์สร้างออกมานั้นน้อยเกินไป ส่วนสายพันธุ์ B1 ที่คัดเลือกได้นั้นให้ผลดีที่สุดในการทดลองทั้งสองแบบเมื่อตรวจสอบทางอนุกรมวิธานแล้ว B1 คล้ายกับ B. licheniformis

ในการหาสภาวะที่เหมาะสมในขวดเขย่า ได้ใช้สูตรอาหารสำหรับการผลิตเบซิเทรซินจาก B. licheniformis (Haavik และ Thomasen, 1973) และพบว่าน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ผลผลิตของสารปฏิชีวนะสูงสุดเมื่อเทียบกับซูโครส แป้ง และกากน้ำตาลดังรูปที่ 3.6 และ 3.7 ผลการทดลองนี้ด้านกับผลการศึกษาหลาย ๆ ฉบับกล่าวคือกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในขบวนการเมตาบอลิสมได้เร็วจึงเกิดการยับยั้ง (catabolite repression) การผลิตสารปฏิชีวนะและเซคันดารีเมตาไบไลท์อื่น ๆ (ดารารัตน์ รอดพยาธิ์, 2525; วนิดา เรืองศรี, 2532; Drew, 1977, Egorov และคณะ 1986) ผลการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนการศึกษาของ Shoke (1961) และ Haavik, 1974a, b) ซึ่งพบว่าน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดต่อการผลิตเบซิเทรซินจาก B. licheniformis นอกจากนี้ก็ยังกระตุ้นการผลิตสารปฏิชีวนะอื่น ๆ อีกหลายชนิด เช่น ไมโคบาซิลลิน โพลิมัยซิน และแอคติโนมัยซิน สำหรับกลไกการกระตุ้นต่อการผลิตสารปฏิชีวนะนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อาจเกิดจากดาตาโบไลท์รีเพรสชันของน้ำตาลกลูโคส (Demain, 1968, อ้างถึงใน Haavik, 1974a) หรืออาจเนื่องจากเมตาบอลิสมของน้ำตาลกลูโคสนั้นช่วยลดความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในช่วงหลังของการเจริญไม่ให้สูงเกินไป (Haavik, 1974a)

ผลการหาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตสารปฏิชีวนะในขวดเขย่าโดยได้ทำการศึกษาเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเปรียบเทียบกับน้ำตาลซูโครสจากรูปที่ 3.13 จะเห็นว่าในช่วงแรกของการผลิตคือในชั่วโมงที่ 16-28 นั้น น้ำตาลซูโครสให้ผลผลิตสูงกว่าน้ำตาลกลูโคสอย่างเด่นชัดหลังชั่วโมงที่ 36 น้ำตาลกลูโคสกลับให้ผลผลิตมากกว่า เป็นไปได้ว่าในชั่วโมง 16-28 อาจจะเป็นช่วงที่จุลินทรีย์ใช้น้ำตาลกลูโคสยังไม่หมดจึงเกิดการยับยั้งต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ ส่วนน้ำตาลซูโครสซึ่งถูกเซลล์นำไปใช้อย่างช้า ๆ จึงไม่เกิดการยับยั้งแต่ประการใด (Kennel, 1977; อ้างถึงใน Drew, 1977) เป็นไปในทำนองเดียวกับการสังเคราะห์แอคติโนมัยซินจาก Streptomyces antibioticus ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคส 0.1% พบว่าการสังเคราะห์จะช้าจนกระทั่งน้ำตาลกลูโคสถูกใช้หมด (Drew, 1977)

เมื่อเติมแคลเซียมคาร์บอเนตทำให้ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งปริมาณสารปฏิชีวนะเพิ่มมากขึ้นดังรูปที่ 3.12 ทั้งนี้เพราะแคลเซียมคาร์บอเนตมีคุณสมบัติการเป็นตัวละเทินกรด (neutralize) ที่เกิดจากขบวนการเมตาโบลิสมของเซลล์ เป็นการช่วยบรรเทาความรุนแรงของสภาวะแวดล้อม ให้เอื้ออำนวยต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ นอกจากนี้ การเติมแคลเซียมคาร์บอเนตยังทำให้การผลิตสารปฏิชีวนะเริ่มต้นเร็วขึ้น (Haavik, 1974a) ดังนั้นการผลิตสารปฏิชีวนะไม่จำเป็นต้องผลิตออกมาในช่วงหลังของการเจริญเสมอไปอาจจะผลิตออกมาในระหว่างที่เซลล์อยู่ในช่วงของการเจริญ ถ้าหากปรับสภาวะแวดล้อมของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสม (Haavik, 1974a; Egorov และคณะ, 1986)

มีรายงานว่าสาเหตุสำคัญที่ยับยั้งการผลิตสารปฏิชีวนะจาก B. licheniformis คือกรดอะซิติกและกรดไพรูวิก ซึ่งเป็นผลผลิตของการใช้น้ำตาลกลูโคสของจุลินทรีย์ซึ่งตรวจพบได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการเจริญของเซลล์ ทั้งนี้เนื่องจากกรดทั้งสองชนิดมีโมเลกุลขนาดเล็กสามารถผ่านเมมเบรนของแบคทีเรียเข้าไปได้ง่ายทำให้ภายในเซลล์ของแบคทีเรียมีสภาพเป็นกรด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ยับยั้งการผลิตสารปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ (Haavik, 1974b)

สารไนโตรเจนเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผลิตสารปฏิชีวนะมาก ในการศึกษาครั้งนี้ได้เปรียบเทียบระหว่างซอยโทน (กากถั่วเหลืองย่อยด้วยเอนไซม์) กาก

ถั่วเหลือง กากถั่วเหลืองย่อยด้วยกรดกำมะถัน และคอร์นสตีพลิเคอร์พบว่าซอยโทนให้ผลผลิตสูงสุด ดังแสดงในรูป 3.8 เนื่องจากซอยโทนมีปริมาณสารไนโตรเจน/กรัม สูง แล้วซอยโทนยังมีคุณสมบัติที่เหนือกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่น ที่นำมาศึกษาคือความสามารถในการคงสภาพความเป็นกรด-ด่าง (buffer capacity) ของอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ได้ดีกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่น ๆ โดยเฉพาะคอร์นสตีพลิเคอร์นั้นไม่อาจตรวจพบสารปฏิชีวนะ เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อมีความเป็นกรด-ด่างต่ำมากคือ 4.03 ขณะที่ซอยโทนมีค่า 6.50 ด้วยเหตุว่า ในคอร์นสตีพลิเคอร์นอกจากจะมีกรดอะมิโน แล้วยังมีกรดแลคติก รวมทั้งฟีนิลอะลานีนซึ่งสามารถแตกตัวได้เป็นกรดฟีนิลอะซีติก (วนิดา เรืองศรี, 2532) จึงทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีความเป็นกรดสูงมาก และจากผลการศึกษานี้สนับสนุนการศึกษาของ Haavik (1974a) กล่าวคือความเป็นกรด-ด่างมีความสำคัญต่อการผลิตสารปฏิชีวนะมาก

ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญต่อการผลิตสารปฏิชีวนะอีกกลุ่มคือเปปโตน ผงสกัดมอลท์ ทริปโตน และผงสกัดยีสต์ จากรูปที่ 3.8 เมื่อไม่มีเปปโตนนั้นไม่มีความแตกต่างของสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้จากซอยโทน กากถั่วเหลือง และกากถั่วเหลืองย่อยด้วยกรดกำมะถัน เพราะเปปโตนนอกจากจะเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญแล้วน่าจะมีคุณสมบัติในการพยุงความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ ซึ่งเห็นชัดในซอยโทนความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นจาก 6.50 เป็น 7.57 ส่วนปฏิมาณสารปฏิชีวนะนั้นเพิ่มขึ้นถึง 166.5% จากแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิด ที่นำมาทดสอบผงสกัดมอลท์ให้ผลดีที่สุด ดังรูปที่ 3.9

มีรายงานหลายฉบับกล่าวถึงการใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งสารไนโตรเจนในการผลิตสารปฏิชีวนะ เพราะนอกจากจะหาง่ายราคาถูกแล้วยังให้ผลผลิตสูงกว่าแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์นำกากถั่วเหลืองไปใช้ได้อย่างช้า ๆ จึงไม่เกิดการยับยั้งที่เรียกว่า "แอมโมเนียม รีเพรสชัน" (ดารารัตน์ รอดพยาธิ์, 2525; Drew, 1977; Aharonuwitz, 1980)

สำหรับการศึกษาครั้งนี้ใช้กากถั่วเหลืองที่หาได้ในท้องถิ่นซึ่งมีไนโตรเจน 7.85% แล้วนำมาย่อยด้วยกรดกำมะถัน ส่วนซอยโทนมีปริมาณไนโตรเจนถึง 9.65% และเป็นกากถั่วเหลืองย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ (Difco laboratories) ทำให้มีคุณภาพได้มาตรฐานกว่ากากถั่วเหลืองที่หาได้ในท้องถิ่น

จากการศึกษาปริมาณเกลือแร่ที่เหมาะสม ต่อการผลิตสารปฏิชีวนะจากตารางที่ 3.6 พบว่า $CaCl_2$ ทำให้ปริมาณการผลิตสารปฏิชีวนะของ Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 ลดต่ำลงตามส่วนที่เพิ่มปริมารสารขึ้น ปริมาณที่เหมาะสมของเกลือแร่ชนิดอื่น ๆ คือ $FeSO_4.7H_2O$ 0.028 กรัม/ลิตร $MgCl_2.6H_2O$ 0.005 กรัม/ลิตร $MnSO_4.H_2O$ 0.010 กรัม/ลิตร และ K_2SO_4 1.60 กรัม/ลิตร ซึ่งจะเห็นว่าเกลือแร่แต่ละชนิดล้วนแล้วแต่มีความสำคัญต่อแบคทีเรียทั้งสิ้น (แสดงในตารางที่ 1.1) ทั้ง Ca^{2+} Fe^{2+} Mg^{2+} และ K^+ ต่างเป็นอิออนที่มีความสำคัญต่อแบคทีเรียที่ต้องการในปริมาณสูง (Gottschalk, 1986) จากตารางที่ 1.1 จะเห็นว่า K^+ ต้องการในปริมาณสูงสุดเมื่อเทียบกับอิออนชนิดอื่น ๆ คือ 1.60 กรัม/ลิตร

กรณี Ca^{2+} จาก $CaCl_2$ นั้นกลับมีผลทำให้ปริมาณการผลิตสารปฏิชีวนะลดต่ำลง เนื่องจาก Ca^{2+} มีความสำคัญต่อการสร้างเอนโดสปอร์ของ Bacillus spp. ซึ่งเป็นองค์ประกอบของแคลเซียม-ไดพิโคลิเนท ที่อยู่ในบริเวณคอร์เท็กซ์ของสปอร์ จากความสัมพันธ์ของการสร้างสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์และการสร้างสปอร์ กล่าวคือการสร้างสปอร์จะเกิดขึ้นเมื่อเซลล์สร้างสารปฏิชีวนะถึงจุดสูงสุดนั่นคือเมื่อเซลล์เริ่มสร้างสปอร์ปริมาณสารปฏิชีวนะจะเริ่มลดลง (Bernlohr และ Novelli, 1963; Sarkar และ Paulus, 1972; Egorov และคณะ 1986) ซึ่งอาจเป็นเพราะสารปฏิชีวนะถูกนำไปสร้างเป็นองค์ประกอบของสปอร์ (Bernlohr และ Novelli, 1963) หรือสารปฏิชีวนะได้ไปทำหน้าที่เป็นตัวนำ Ca^{2+} และไดพิโคลิเนท ผ่านเมมเบรนส่วนนอกของสปอร์เข้าไปภายในยังคอร์เท็กซ์ของสปอร์ (Hodgson, 1970) ไม่ว่าจะเหตุผลใดก็ตามในเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมี Ca^{2+} ที่เอื้ออำนวยต่อการสร้างสปอร์ซึ่งทำให้การสร้างสปอร์ของจุลินทรีย์เกิดเร็วขึ้นหรืออาจจะเกิดมากขึ้น ทำให้สารปฏิชีวนะถูกใช้ไปอย่างรวดเร็วจึงทำให้ตรวจพบสารปฏิชีวนะน้อยลง ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับรายงานของ Bernlohr และ Novelli (1963) กล่าวคือการเติม $CaCl_2$ 0.3 โมลาร์ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ B. licheniformis, A-5 เริ่มสร้างสปอร์เร็วขึ้น และพบว่าการสร้างสารปฏิชีวนะลดลง 50%

Mn^{2+} นั้นจัดอยู่ในกลุ่มอิออนที่จุลินทรีย์ต้องการในปริมาณน้อยคือต่ำกว่า 10^{-4} โมลาร์ ดังแสดงในตารางที่ 1.2 และ Mn^{2+} ยังเป็นอิออน 1 ใน 9 ชนิด ที่มี

ความสำคัญต่อการสร้างเชดันตารีเมตาบอไลท์ของจุลินทรีย์มากกว่าการสร้างการเจริญของเซลล์ อิออนที่สำคัญที่สุดมี 3 ชนิดคือ Mn^{2+} Fe^{2+} และ Zn^{2+} กล่าวคือ Mn^{2+} จัดเป็นอิออนที่มีความสำคัญหรือเป็น "คีย์" (Key metal) ต่อแบคทีเรียกลุ่ม Bacillus spp. Fe^{2+} นับเป็น "คีย์" สำหรับแบคทีเรียกลุ่มอื่นรวมทั้งพวก Actinomyces ส่วน Zn^{2+} เป็น "คีย์" สำหรับพวกราทุกชนิดรวมทั้ง Actinomyces (Weinberg, 1970) จากตารางแสดงผลการทดลองที่ 3.6 โดยเปรียบเทียบระหว่างสภาวะที่ไม่มี Mn^{2+} กับ Fe^{2+} จะเห็นว่าเมื่อไม่มี Mn^{2+} นั้นปริมาณสารปฏิชีวนะมีน้อยกว่าสภาวะที่ไม่มี Fe^{2+} อย่างเห็นได้ชัด แต่เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตสูงสุดแล้วพบว่าเมื่อมี Mn^{2+} 0.010 กรัม/ลิตร (5.9×10^{-5} โมลาร์) ให้ปริมาณต่ำกว่า ซึ่งเป็นไปได้ว่าในการศึกษาครั้งนี้ยังแปรผันความเข้มข้นของ Mn^{2+} ได้ไม่ต่ำพอ จากตารางที่ 1.3 ซึ่งกล่าวถึงผลกระทบของ Mn^{2+} ต่อการผลิตเชดันตารีเมตาบอไลท์ของ Bacillus spp. จะเห็นว่าในการผลิตเบซิเทรซินจาก B. licheniformis นั้นปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Mn^{2+} คือ 0.07×10^{-5} โมลาร์ และความเข้มข้นที่ยับยั้งคือ 4×10^{-5} โมลาร์ (Weinberg, 1983) ถ้าหากผลกระทบของ Mn^{2+} ต่อการผลิตสารปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ จาก Bacillus สปีชีส์เดียวกันมีค่าใกล้เคียงกันเช่น ความเข้มข้นของ Mn^{2+} ที่มีผลกระทบต่อไมโคบาซิลลินและซับทีลินจาก B. subtilis นั้นใกล้เคียงกันคือ 0.6×10^{-5} และ 0.5×10^{-5} ตามลำดับ ดังนั้นในทำนองเดียวกันกับ B. licheniformis และเชื้อ Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 ถ้าในการศึกษาครั้งนี้มีการแปรผันความเข้มข้นของ Mn^{2+} ให้ต่ำกว่า 0.010 กรัม/ลิตร หรือให้ใกล้เคียง 0.07×10^{-5} โมลาร์ ก็อาจจะได้ปริมาณสารปฏิชีวนะมากขึ้น

จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสารปฏิชีวนะคือ 27°ซ. ดังแสดงในรูปที่ 3.15 ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่อยู่ในช่วงเดียวกับอุณหภูมิที่เหมาะต่อการลงหัวของมันฝรั่งคืออยู่ในช่วง 20-28.8°ซ. (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2531) ซึ่งถ้านำจุลินทรีย์ชนิดนี้ไปใช้ในแปลงปลูกมันฝรั่งก็จะไม่มีปัญหาในเรื่องอุณหภูมิ เพราะเชื้อ S. scabies จะเข้าทำลายมันฝรั่งในช่วงนี้

ผลกระทบของความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความสำคัญต่อการผลิตสารปฏิชีวนะของ Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 ดังที่กล่าวมาแล้ว การศึกษาครั้งนี้ความ

เป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ 7.0-8.5 เป็นค่าที่เหมาะสมที่สุด อย่างไรก็ตามที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.0-6.0 ก็ยังมีการผลิตที่ดีพอใช้ แต่ที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.0 นั้นเป็นสภาวะที่รุนแรงเกินไป จุลินทรีย์ไม่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะออกมาได้ ดังแสดงในรูปที่ 3.14

การปรับความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียวนั้นยังไม่ให้ผลผลิตดีพอ เมื่อเทียบกับการควบคุมความเป็นกรด-ด่างตลอดการหมักดังแสดงในรูปที่ 3.18 ซึ่งทำการศึกษาในถังหมักขนาด 5 ลิตร สาเหตุดังที่ได้กล่าวมาแล้วคือในช่วงที่เซลล์กำลังเจริญนั้นความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อลดต่ำลง แม้ว่าจะมี $CaCO_3$ เป็นตัวสะเทินกรดแล้วก็ตามก็ยังมีผลกระทบต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ แต่ถ้ามีการควบคุมความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมตลอดเวลาโดยใช้อุปกรณ์ควบคุมความเป็นกรด-ด่าง (pH controler) ย่อมช่วยลดปัญหาจากผลกระทบของความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำลงเนื่องจากเมตาบอไลท์ของจุลินทรีย์ต่อการผลิตสารปฏิชีวนะได้ สรุปความสัมพันธ์ของการผลิตสารปฏิชีวนะต่อการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดังนี้

อาหารเลี้ยงเชื้อ < อาหารเลี้ยงเชื้อ + $CaCO_3$ < อาหารเลี้ยงเชื้อ + $CaCO_3$ + ควบคุมความเป็นกรด-ด่าง

มีรายงานถึงความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการผลิตเบซิเทรซินจาก B. licheniformis คือ 8.0 และ 6.0-8.0 (Freaney และ Allen, 1956; Snoke, 1961)

จากการทดลองในระดับขวดเขย่า พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 10.0 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งสารคาร์บอน ซอยโทน 20.0 กรัม/ลิตร ร่วมกับผงสกัดมอล์ท 10.0 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งสารไนโตรเจน เกลือแร่ที่เหมาะสมคือ $FeSO_4.7H_2O$ 0.028 กรัม/ลิตร $MgCl_2 6H_2O$ 0.005 กรัม/ลิตร $MnSO_4.H_2O$ 0.010 กรัม/ลิตร K_2SO_4 1.60 กรัม/ลิตร และ $CaCO_3$ 5.0 กรัม/ลิตร

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตสารปฏิชีวนะของ Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 คือ 27°ซ. ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมคือ 7.0-8.5 นำองค์ประกอบดังกล่าวมาทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมอื่น ๆ เพื่อให้จุลินทรีย์สร้างสารปฏิชีวนะได้ในปริมาณมากขึ้นในถังหมักขนาด 5 ลิตร แต่เนื่องจากการศึกษาในถังหมักต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณสูง

โดยเฉพาะซอยโทนดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันแทน โดยเทียบให้ปริมาณไนโตรเจนเท่ากันกล่าวคือ ปริมาณกากถั่วเหลืองย่อยด้วยกรดกำมะถัน ปริมาณ 24.6 กรัม จึงจะมีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับในซอยโทน 20.0 กรัม

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการหมักโดยให้ผลผลิตสูงสุดใช้เวลาเพียง 16 ชม. เท่านั้น (ดังรูปที่ 3.17) ซึ่งจะเห็นได้ว่าใช้เวลาน้อยมากเมื่อเทียบกับการผลิตในขวดเขย่าซึ่งการให้ผลผลิตสูงสุดใช้เวลาถึง 36 ชม. (ดังรูปที่ 3.13) ทั้งนี้อาจเนื่องจากในถังหมักจุลินทรีย์ได้รับปริมาณออกซิเจนอย่างเพียงพอ และการกวนช่วยให้จุลินทรีย์ได้รับสารอาหารอย่างทั่วถึง จึงมีการเจริญอย่างรวดเร็ว โดยใช้อาหารหมดไปอย่างรวดเร็วทำให้การผลิตสารปฏิชีวนะเกิดเร็วขึ้นตามลำดับ (Qadeer และคณะ, 1988) และจากรูปที่ 3.17 แสดงถึงความสัมพันธ์ของการผลิตสารปฏิชีวนะกับการเจริญของ Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 จะเห็นว่าการผลิตสารปฏิชีวนะเกิดขึ้นในช่วงหลังของการเจริญ (Bornlohr และ Novelli, 1963; Roscoe และ Abraham, 1966; Drew, 1977; Egorov และคณะ, 1986)

ดังที่กล่าวมาแล้วว่าปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ได้รับเป็นปัจจัยที่สำคัญอันหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ นอกจากนั้นแล้วปริมาณออกซิเจนยังมีผลต่อการเจริญของเชื้อเพราะเป็นองค์ประกอบหลักของเซลล์ (Gottschalk, 1986) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของอาหาร อุณหภูมิ อัตราการให้อากาศ และอัตราการกวน โดยมีส่วนประกอบของอาหารและอุณหภูมิคงที่ตลอดการหมัก จากการแปรผันอัตราการกวน และอัตราการให้อากาศพบว่า จุลินทรีย์ให้ผลผลิตสูงสุดเมื่ออัตรากวน 400 รอบ/นาที และอัตราการให้อากาศ 1 ลิตร/1 ลิตรของอาหาร/นาที พบว่าถ้าให้อัตราการกวนและการให้อากาศสูงกว่านี้จะมีผลทำให้ปริมาณการผลิตสารปฏิชีวนะลดลง ซึ่งอาจมีสาเหตุจากแรงเฉือนของใบพัดที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายแก่เซลล์จุลินทรีย์ได้ สำหรับอัตราการให้อากาศที่มากเกินไปนั้นจะมีผลทำให้เกิดฟองอากาศขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นการเพิ่มแรงต้านทานในการถ่ายเทออกซิเจนไปยังจุลินทรีย์ ดังนั้นการให้อากาศที่มากเกินไปเท่ากับเป็นการลดปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ควรจะได้รับ นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มความร้อนให้กับระบบซึ่งทำให้เปลืองพลังงานไฟฟ้าโดยเปล่าประโยชน์

ในการสกัดแยกสารปฏิชีวนะจาก Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 โดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อแยกสารปฏิชีวนะออกมาตามลำดับส่วนพบว่าที่ลำดับส่วน 20-80 เปอร์เซ็นต์ เป็นลำดับส่วนที่สารปฏิชีวนะตกตะกอนเป็นส่วนใหญ่ (ตารางที่ 3.7) มีรายงานการสกัดแยกสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์จาก Pediococcus acidilactici โดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต 70 เปอร์เซ็นต์ (Bhunia, Johnson และ Ray, 1988) นอกจากนี้มีรายงานกล่าวถึงการทำเบซิเทรซินให้บริสุทธิ์ โดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตให้อิ่มตัวบางส่วน (partial saturation) หลังจากแยกตะกอนสารปฏิชีวนะออกแล้วนำสารละลายที่เหลือไปตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตต่อจนกระทั่งสารละลายอิ่มตัวเต็มที่ แล้วจึงปั่นแยกตะกอนเป็นครั้งสุดท้าย (Goorley, 1949)

นำสารละลายของสารปฏิชีวนะที่ได้จากการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตมาทำโครมาโตกราฟีบนเซฟาเด็กซ์ จี-25 และชะล้างคอลัมน์ด้วยน้ำกลั่น พบว่าในการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตรนั้นมีโปรตีนออกมา 2 ยอด และทั้งสองยอดออกมาหลังจากปริมาตรช่องว่างในคอลัมน์ (void volume) จากการหาปริมาณสารปฏิชีวนะทั้งสองวิธีคือ วัดการดูดกลืนแสงที่ 203.6 นาโนเมตร และการทดสอบทางชีววิทยาโดยใช้ Arthrobacter sp. เป็นจุลินทรีย์ตัวทดสอบนั้นพบว่า สารปฏิชีวนะออกมากับโปรตีนในยอดที่สองดังแสดงในรูปที่ 3.21 วิธีนี้นับว่าทำให้สารปฏิชีวนะบริสุทธิ์ขึ้นมาก จากคุณสมบัติของเซฟาเด็กซ์จี-25 ถ้าสารที่นำมาแยกมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 5,000 ดาลตัน ก็จะไหลออกมาจากคอลัมน์พร้อมกับปริมาตรช่องว่างในคอลัมน์ การศึกษาครั้งนี้พบว่าสารปฏิชีวนะออกมาเป็นยอดสุดท้ายที่ห่างจากปริมาตรช่องว่างในคอลัมน์มาก ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารปฏิชีวนะที่ทำการศึกษามีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 5,000 ดาลตัน ซึ่งจากคุณสมบัติของสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์จะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำในช่อง 270-4,500 ดาลตัน (Katz และ Demain, 1977)

นำสารละลายที่ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโตกราฟีมาทำโครมาโตกราฟีแบบผิวบาง (Thin layer chromatography) เพื่อแยกสารปฏิชีวนะจากสิ่งเจือปนพบว่าเมื่อใช้ระบบตัวทำละลายระบบ ก. ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมของบิวทานอล:น้ำ:แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในอัตราส่วน 4:2:1 จะให้แถบของสารปฏิชีวนะเพียงแถบเดียว

ให้ค่า Rf 0.45 ส่วนในระบบ ข. ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมของโพรพานอล:น้ำ:แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์:เอทิลอะซิเตตในอัตราส่วน 5:3:1:1 สามารถแยกสารปฏิชีวนะได้ถึงสองแถบมีค่า Rf 0.84 และ 0.76 (ดังแสดงในรูปที่ 3.22) แสดงว่าระบบตัวทำละลายระบบ ข. มีประสิทธิภาพในการแยกได้ดีกว่าระบบ ก. จากผลการทดลองอาจเป็นไปได้ว่าสารปฏิชีวนะที่ทำการศึกษานี้มี 2 อนุพันธ์ ซึ่งก็มีโอกาสเป็นไปได้มากเพราะสารปฏิชีวนะที่ผลิตจาก B. licheniformis และสปีชีส์อื่นส่วนมากแล้วต่างก็มีอนุพันธ์ เช่น เบซิเทรซินจาก B. licheniformis มีอนุพันธ์ถึง 10 แบบ ได้แก่ A , A, B, C, D, E, F_1, F_2 ,F_3 และ G แต่ส่วนใหญ่จะพบ A, B และ C (Newton และ Abraham, 1953; Glasby, 1979) ส่วนไลเคนนิฟอร์มีนจาก B. licheniformis มีอนุพันธ์ 3 แบบ คือ A, B และ C (Callow และ Work, 1952)

นำแถบสารปฏิช่วนะจากการทำโครมาโตกราฟีแบบผิวบางมาศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเล็ตในช่วงความยาวคลื่น 190-340 นาโนเมตร โดยเอาเฉพาะแถบที่ได้จากระบบตัวทำละลาย ข. พบว่าทั้งสองแถบของสารปฏิชีวนะดูดกลืนแสงมากที่สุดที่ความยาวคลื่นเดียวกัน คือ 203.6, 266.9 และมีไหล่กราฟที่ 225 นาโนเมตร แต่จะต่างกันเล็กน้อยตรงลักษณะส่วนโค้งของกราฟ กล่าวคือแถบที่มีค่า Rf 0.76 มีส่วนเว้ามากกว่าแถบที่มีค่า Rf 0.84 ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารปฏิชีวนะที่ทำการศึกษามีอนุพันธ์ที่มีโครงสร้างของโมเลกุลที่ใกล้เคียงกันมาก แต่ไม่อาจสรุปได้ว่ามีแค่ 2 อนุพันธ์ เพราะอาจมีระบบตัวทำละลายที่สามารถแยกสารปฏิชีวนะได้ดีกว่านี้

จากการศึกษาความสามารถในการละลาย (solubility) ของสารปฏิชีวนะที่สกัดได้จากเชื้อ Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 ซึ่งผ่านการทำคอลัมน์โครมาโตกราฟี พบว่าสารดังกล่าวละลายได้ดีในน้ำ บิวทานอล เมทธานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ละลายได้ปานกลาง ในเอทธานอล และโพรพานอล ละลายได้น้อยในอะซีโตน และเอทธิลอะซิเตตละลายได้ค่อนข้างน้อยในไดไอโซโพรพิลอีเธอร์และเบนซีน และสารจะสูญเสียปฏิกิริยาเมื่ออยู่ในกรดอะซิติก

จากการศึกษาความเสถียรของสารปฏิชีวนะในบัฟเฟอร์ชนิดต่าง ๆ คือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6.0-8.0 ซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์มีความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.0-6.0 และในอะซิเตตบัฟเฟอร์ ความเป็นกรด-ด่างอยู่

ในช่วง 4.0-5.5 พบว่าสารปฏิชีวนะมีความเสถียรสูงสุดในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ซึ่งเป็นไปได้ว่าฟอสเฟตบัฟเฟอร์มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์กับอะซิเตตฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ความเป็นกรด-ด่าง 5.0-5.5 ในซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์สารยังคงมีปฏิกิริยาอยู่มาก (36.7-38.3) หน่วย/มล.) แต่ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่ความเป็นกรด-ด่าง 5.5 สารมีปริมาณเหลือเพียงเล็กน้อย และที่ความเป็นกรด-ด่าง 5.0 นั้นไม่มีสารปฏิชีวนะเหลืออยู่เลย แสดงให้เห็นชัดว่ากรดอะซิติกมีส่วนทำลายปฏิกิริยาของสารปฏิชีวนะ การที่สารปฏิชีวนะมีเสถียรภาพน้อยในบัฟเฟอร์ที่มีสภาพเป็นกรดอาจจะเป็นเพราะว่าโมเลกุลของสารปฏิชีวนะมีการเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการกระทำของไฮโดรเจนอิออน (H^+) ทำให้กลุ่มเคมี (chemical group) บางกลุ่มบนโมเลกุลของสารเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ซึ่งกลุ่มเคมีของสารที่เปลี่ยนแปลงไปนั้นอาจเป็นส่วนสำคัญของสารที่แสดงปฏิกิริยา (active site) จึงทำให้ประสิทธิภาพของสารปฏิชีวนะลดลง (Hamilton-Miller, 1973)

จากการศึกษาความทนทานต่ออุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ ของสารปฏิชีวนะ พบว่าที่อุณหภูมิ 4°ซ. สารปฏิชีวนะทนอยู่ได้มากกว่า 30 วัน แต่ปฏิกิริยาก็ลดลงเรื่อย ๆ ที่อุณหภูมิห้อง 25°ซ. สารปฏิชีวนะทนอยู่ได้นาน 5 วัน และที่อุณหภูมิ 50°ซ. สารมีปฏิกริยาอยู่ได้แค่ 5 ชม. เท่านั้น สำหรับอุณหภูมิ 25°ซ. ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการลงหัวของมันฝรั่ง สารปฏิชีวนะสามารถทนอยู่ได้ถึง 5 วัน ก็นับว่าดีแต่สำหรับการนำมาทำให้บริสุทธิ์ซึ่งทำในที่อุณหภูมิห้องเป็นการไม่เหมาะสมในการทำให้สารบริสุทธิ์บางส่วน (partial purification) ซึ่งมีหลายขั้นตอน เช่น ในการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตและการทำคอลัมน์โครมาโตกราฟีได้มีการกล่าวว่าอุปสรรคในการศึกษาสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์จาก Bacillus spp. คือมีความเสถียรน้อยและทำให้บริสุทธิ์ได้ยาก (Casida, 1958) ดังนั้นในการลงแปลงปัญหาที่ต้องคำนึงถึงคือความเสถียรของสาร เป็นที่ทราบกันว่าถ้าดินมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าสารปฏิชีวนะมากก็จะมีโอกาสที่สารจะสูญเสียปฏิกิริยาได้ง่าย (Bewick, 1977)

กลไกที่ทำให้ S. scabies สามารถเข้าทำลายผิวมันฝรั่งได้ก็เพราะมีเอนไซม์เอสเตอเรส (extracellular esterases) ย่อยคิวตินที่ทำหน้าที่ป้องกันมันฝรั่งจากอันตรายจากภายนอก ได้มีการศึกษาพบว่าสังกะสีเป็นตัวควบคุมการสร้างเอ็มอาร์เอ็นเอ

(mRNA) ของเอนไซม์เอลเตอเรสจาก S. scabies (Raymer, Willard และ Schottel, 1990) ดังนั้นในการควบคุมโรคหูดในแปลงปลูกมันฝรั่งถ้าสามารถจำกัดปริมาณสังกะสีในดินได้ก็จะเป็นการเสริมให้ควบคุมโรคหูดได้ดีขึ้น

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารปฏิชีวนะจาก Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 ในการยับยั้งราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชเศรษฐกิจอื่น ๆ อีกหลายชนิดพบว่า สามารถยับยั้งได้ทุกชนิดที่นำมาศึกษา ซึ่งนับว่าเป็นสิ่งที่ดีที่จะได้นำจุลินทรีย์ชนิดนี้ไปใช้ในการควบคุมทางชีวภาพต่อโรคพืชชนิดต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวาง ทั้งนี้ต้องคำนึงว่าจุลินทรีย์ชนิดนี้คัดเลือกมาจากดินบริเวณผิวของเปลือกมันฝรั่ง ถ้านำไปใช้กับพืชที่มีสิ่งแวดล้อมต่างกันมาก ๆ ก็อาจจะได้ผลไม่เหมือนที่ทำในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารปฏิชีวนะ ในการยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมดาที่ใช้ในห้องปฏิบัติทั่วไป พบว่า สารปฏิชีวนะสามารถยับยั้งได้เฉพาะแบคทีเรียแกรมล์บวกบางชนิดเท่านั้น ซึ่งก็เป็นคุณสมบัติอย่างหนึ่งของสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์ (Katz และ Demain, 1977)

จากการศึกษาคุณสมบัติหลาย ๆ ประการของสารปฏิชีวนะจาก Bacillus sp. สายพันธุ์ B1 ในครั้งนี้พบว่ามีคุณสมบัติใกล้เคียงสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์ เช่น สังเคราะห์จากแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus sp. ดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเล็ตในช่วงความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรได้ ทำปฏิกิริยากับสารละลายนินไฮดริน และการยับยั้งแบคทีเรีย ฯลฯ จากการเปรียบเทียบกับสารปฏิชีวนะจาก B. licheniformis ที่มีรายงานแล้ว 3 ชนิด คือเบซิเทรซิน (ไอโฟวิน) ไลเคนนิฟอร์มิน และโปรติซิน เนื่องจากโปรติซินไม่ได้จัดเป็นสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์แต่อยู่ในกลุ่มโพลีอีน (Nesemann, 1972; Katz และ Demain, 1977) จึงไม่นำมาพิจารณา ส่วนไลเคนนิฟอร์มินนั้นจะถูกผลิตจาก B. licheniformis ก็ต่อเมื่อมีน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งสารคาร์บอน (Callow และ Work, 1952) สำหรับเบซิเทรซินซึ่งมีคุณสมบัติหลายอย่างที่ใกล้เคียงกันมากดังที่กล่าวมาแล้ว แต่เมื่อนำเบซิเทรซิน-เอ ซึ่งมีขายในท้องตลาดมาศึกษาพบว่ามีคุณสมบัติบางอย่างที่ไม่เหมือนกัน เช่น การยับยั้ง S. aureus เบซิเทรซิน-เอ สามารถยับยั้งได้ แต่สารปฏิชีวนะที่ทำการศึกษาไม่สามารถยับยั้งได้แม้ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นสารปฏิชีวนะและให้ S. aureus เจือจางที่สุดแล้วก็ตาม มีรูปแบบการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเล็ต

ที่ต่างกัน นอกจากนี้ในการทำโครมากราฟีแบบผิวบางยังไม่สามารถใช้ระบบตัวทำละลายเดียวกันได้ เนื่องจากในระบบตัวทำละลายของเบซิเทรซิน-เอในรายงานเกือบทุกฉบับจะมีกรดอะซิติกเป็นส่วนผสม (Wagman และ Weinstein, 1973) ซึ่งไม่อาจใช้กับสารที่ทำการศึกษาได้

ในการศึกษาครั้งนี้ ยังไม่สามารถทำให้สารปฏิชีวนะบริสุทธิ์มากพอที่จะนำไปศึกษารายละเอียดทางด้านโครงสร้างโมเลกุล และการวิเคราะห์ทางเคมีอื่น ๆ เช่น นิวเคลียร์แมคนีติคเรซอแนนท์ (NMR) อินฟราเรด สเปคตรัม (IR) แมสสเปคตรัม (mass spectrum) จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าสารปฏิชีวนะที่สังเคราะห์จาก Bacillus sp. สายันธุ์ B1 นี้เป็นสารปฏิชีวนะกลุ่มเปปไทด์ชนิดใด