

ペニシリンの抽出

2605 井田愛花 2514 加藤真穂 2526 遠山若夏菜

要旨

体に悪影響を及ぼすといわれている青かびを用いて、高濃度のペニシリンを抽出することを目的として青かびの発生条件、精製方法を変化させ、実験を行った。様々な栄養の培地、環境を試し、栄養ありの培地で直射日光の当たらない常温の環境が適していることが分かった。今後は青かびを培養するのに最適な培地の養分を発見することを目標に研究を進める。

1. はじめに

1928年にアレクサンダーフレミングがアオカビからペニシリンを抽出できると発見した。

ペニシリンとは、世界初の抗生物質であり今では薬として肺炎、咽頭炎などの治療薬として使われる。複雑な構造を持ち、次のような性質を持つ。

- ・水溶性である
- ・炭に吸着する
- ・酸性の物質である

またアオカビには、生育環境が25℃以上になるとペニシリンを作りにくくなるという性質がある。

2. 目的

アオカビの発生条件、精製方法を変化させ、より高い抗菌効果を発揮するペニシリンを抽出すること。

3. 仮説

アオカビの発生条件、精製方法を変化させれば高い抗菌効果を発揮するペニシリンを抽出することができる。

4. 実験に使用した器具・材料

- ・薬包紙
- ・薬さじ
- ・ろ紙
- ・ビーカー
- ・シャーレ

- ・電子天秤
- ・メスシリンダー
- ・マグネツチスターラー

5. 実験

【実験①カビの培養(1)】

○手順

- 1) ミカンを半分に切り、シャーレの上に置いてミカンにカビが生えるまで放置する。
- 2) ミカンに生えた青緑色のカビを今回の実験で使用するアオカビとみなし、純水の入ったビーカーにアオカビを取りマグネツチスターラーで攪拌する。(以下、この水溶液をカビ水とする)
- 3) 2)で作ったカビ水を養分の違う四種類の寒天培地にカビの培養を行う。

培地A 栄養なしの培地

(和光純薬工業株式会社製の寒天を使用)

培地B 栄養ありの培地

(日水製薬株式会社製の寒天を使用)

培地C 液体肥料aの入った培地

(チッソ：リンサン：カリウム 6:6:7)

培地D 液体肥料bの入った培地

(チッソ：リンサン：カリウム 6:5:10)

○実験に(3に追加で)使用した器具・材料

- ・フラスコ
 - ・オートクレーブ
 - ・滅菌シャーレ
- 〈寒天培地〉

- ・純水 100mL
- ・粉末寒天 3.5g
- ・グルコース 4.0g
- ・硝酸ナトリウム 0.30g
- ・硫酸マグネシウム 0.030g
- ・リン酸二水素カリウム 0.050g
- ・液体肥料 6.0mL

培地C

(住友化学園芸株式会社製 ベジフル®液肥)

培地D

(村上物産株式会社製 ハイボネックス液
6:10:5)

〈カビ水〉

- ・ミカン (ミカンに生えた青カビ)
- ・純水

○結果

2週間でカビ水を塗った寒天培地にカビが培養できた。なかでも液体肥料の入っている培地C、培地Dには培地A、培地Bよりも多くのカビが見られた。しかしどの培地にも培地に塗ったアオカビではなく、白色のカビが生えた。

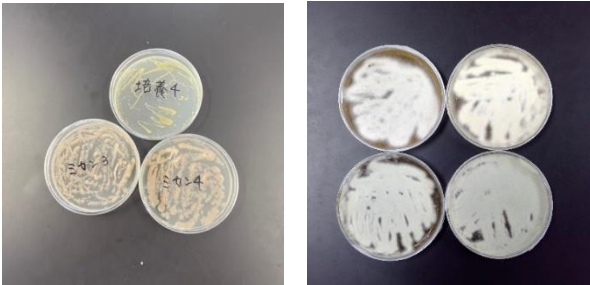


図1 (右) 上 培地Aの様子 下 培地Bの様子

図2 (左) 上 培地Cの様子 下 培地Dの様子

○考察

- ・培地の種類によってカビの培養に差が生まれたことから、カビの培養に適した養分の培地があり、今回の実験により液体肥料入りの培地が適していることが分かった。
- ・培地に塗ったアオカビではなくシロカビが生えてしまったことから、培養をしている環境が関係しているのではないかと考えた。

【実験①カビの培養(2)】

実験①-(1)で寒天培地にアオカビではなくシロカビが生えてしまったことから、培養を放置する環境も関係しているのではないかと思い、培地を放置する環境を変化させ実験を行った。今回の実験では実験①-(1)でカビがよく生えた培地C、培地Dを使用する。

○手順

- 1) 実験①-(1)と同様にカビ水を作る。
- 2) 培地C、培地Dに1)のカビ水を塗る。
- 3) 条件の違う三つの環境においてカビの培養を行う。

環境A 直射日光の当たる場所

環境B 日光が当たらず常温の場所

環境C 冷倉庫の中

○実験に (3に追加で) 使用した器具・材料

実験①-(1)と同様

○結果

実験①-(1)と同様に2週間で寒天培地にカビが培養できた。なかでも環境Bに放置した寒天培地に多くのカビが見られた。しかし実験①-(1)と同じくどの培地にもシロカビが生えた。

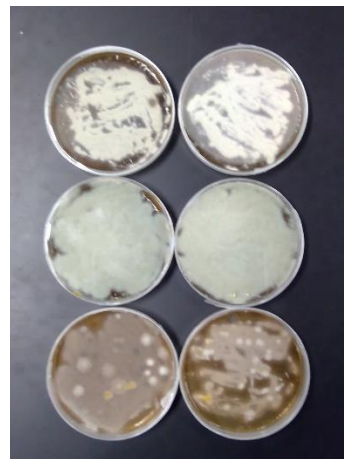


図3 上 環境A 中 環境B 下 環境C

○考察

- ・培地を放置する環境によってカビの培養に差が生まれたことから、カビの培養に適した環境があり、今回の実験により日光が当たらず常温の

場所が適していることが分かった。

- ・実験①-(1)と同様にシロカビが生えてしまったことから、培地の養分、放置する環境が関係しているのではなく違う要因があると考えられる。

【実験①カビの培養(3)】

実験①-(1)(2)で寒天培地にシロカビが生えてしまったことから、シロカビが生えてしまった他の要因を見つけ出す。実験①-(1)でカビがよく生えた培地C、培地Dを実験①-(1)後そのまま放置してみた。

○手順

- 1) 実験①-(1)後、培地C、培地Dをそのまま継続して観察を行う。

○実験に（3に追加で）使用した器具・材料

実験①-(1)同様

○結果

実験①-(1)から 1 週間後に培地Dにシロカビの上にアオカビが生えた。

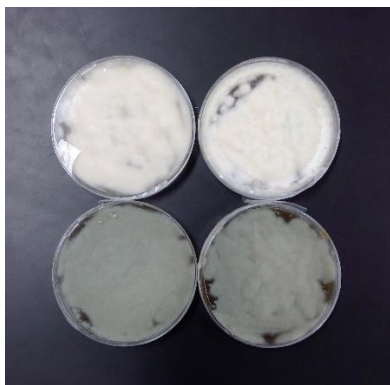


図4 上 培地Cの様子 下 培地Dの様子

○考察

・培地Dにアオカビが生えたことから、アオカビの培養に適している培地は液体肥料b（チッソ：リンサン：カリウム 6:10:5）が入っている培地Dであることが分かった。

・アオカビが生えだした時期の気温がカビの生育に関係していると考え、実験をした時期の気温を調べてみた。（国土交通省気象庁より）図1が実験①-(1)を行った期間で、図2が実験①-(3)を行った

期間である。図を見てみると、実験①-(1)を始めた時期よりも実験①-(3)を始めた時期のほうが平均気温が低く、アオカビが培地に生え始めた 10 月 16 日から 20 日の期間の気温が急激に下がっていたことが明らかになった。これよりアオカビが生えやすい環境として気温が 20℃から 10℃の間の環境が適していると考えられる。

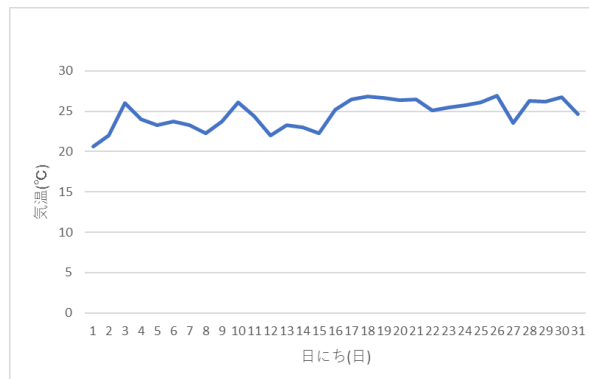


図5 2021年7月の恵那市の日別気温

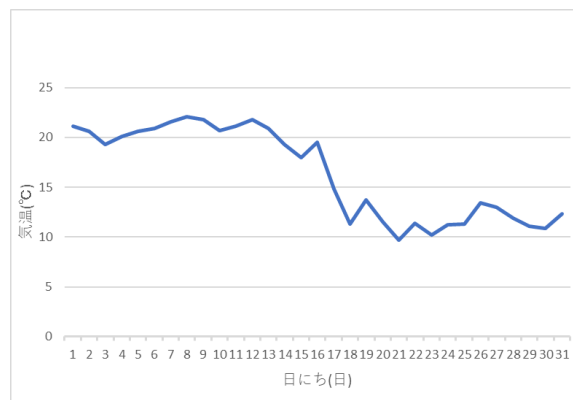


図6 2021年10月の恵那市の日別気温

【実験②ペニシリンの抽出】

実験①-(1)で培地Dで培養したシロカビと実験①-(3)で培地Dで培養したアオカビからペニシリンの抽出実験を行った。シロカビを使った理由としては、当麻喜明のアオカビを培養してできたシロカビからもペニシリンを抽出することができるという論文を見つけたため、シロカビも抽出実験に使用することを決めた。

○手順

- 1) 培養したアオカビを純水 50mL に混ぜ、マグネチックスターラーを使ってその溶液を 10 分攪

拌する。

- 2) 攪拌した溶液をろ過する。
- 3) 分液漏斗にろ過した液体を移し、ヘキサン 75mL を加え、よく混ぜた後、液体が二層になるまで放置し、下層をビーカーに集める。(ペニシリンは水溶性物質であることから、このときペニシリンは下層にある溶液に含まれる。)
- 4) 集めた溶液に粉状の炭を加え、10 分攪拌する。
- 5) 攪拌した溶液をろ過し、ろ紙上に残った炭を利用する。(ペニシリンは炭に吸着する性質があるため。)
- 6) ろ紙上の炭に 1.0%の酢酸 100mL を注ぐ。
- 7) ろ紙上の炭に 2.0%の炭酸水素ナトリウム 100mL を注ぐ。(ペニシリンは酸性物質であるため塩基性の物質を注ぐことで溶けだす。)

○実験に（3に追加で）使用した器具・材料

- ・実験①で培養したカビ
- ・純水 50mL
- ・ヘキサン 75mL
- ・酢酸 1.0% 100mL
- ・炭酸水素ナトリウム 2.0% 100mL
- ・粉状の炭
- ・分液漏斗



図7 分液漏斗（手順3）

○結果

抽出物を得ることができた。

【実験③防菌感受性テスト】

実験②で抽出した物質が本当にペニシリンであるかの確認のテストを行った。

○手順

- 1) 寒天培地到大腸菌または納豆菌を塗る。
- 2) 富士フィルム和光純薬社製のペニシリン溶液、実験②で得たペニシリンを小さいろ紙に染み込ませ、培地A、培地Bの上に置く。また、対照実験として何も塗っていない培地を用意する。
- 3) 37°Cの環境で放置し菌の繁殖の様子を観察する。
- 4) 菌が繁殖しなければペニシリンの抽出できたとする。

○実験に（3に追加で）使用した器具・材料

- ・寒天培地（培地A、培地B）
- ・富士フィルム和光純薬社製のペニシリン溶液
- ・大腸菌
- ・納豆菌
- ・インキュベータ

○結果

どの培地にも菌の繁殖などの変化は見られなかった。

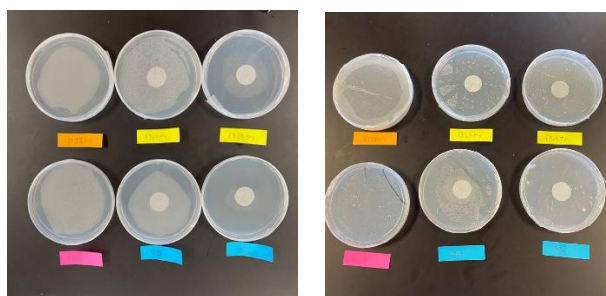


図8 左 放置前の様子 右 放置後の様子

○考察

- ・何も塗ってない培地や菌のみの培地に変化が見られなかったことから、テストをしている環境、もしくは使用している培地の養分が関係していると考えた。
- ・防菌感受性テストでどの培地にも変化が見られ

なかったため、実験②の抽出物がペニシリンであるかどうかの判断ができない。ペニシリンが抽出できたかを確認するためには、まず防菌感受性テストで培地に何らかの変化が見られることが必要である。

6. 展望

- ・アオカビとは何かということをはっきりさせる。
- ・アオカビの培養に適した培地の養分を確立する。
- ・防菌感受性テストに適した菌を発見する。

7. 謝辞

中島先生をはじめとする先生方、研究を行うにあたり親身に寄り添い、的確な助言をして下さってありがとうございました。

8. 参考文献

・鷹見優月ほか「ペニシリンの抽出」平成 28 年度
課題研究リサーチⅡ, 35 - 1 - 35 - 4, 2016

・JIN-仁-公式サイト - TBS

<https://www.tbs.co.jp/jin2009/report/report-12.html> (2021/05/12 閲覧)

・F. ジェーコブズ著/佐久間康天訳「アオカビが人類をすくった」さ・え・ら書店,
000-000, 1987

・当麻喜明「ようこそ！青カビ」

<http://toma/ootaki.info> (2021/05/12 閲覧)