

ペニシリンの抽出

2505 大島蘭奈 2628 鶴岡由真

身近な物質から取れる青カビを用いてペニシリンを抽出することを目的に研究を行った。まず、カビを大量に培養するために様々な培地の材用を試した。そのカビの中にペニシリンが含まれていると考えて、不純物を取り除く作業を行った。その後の溶液で防菌感受性テストを行った結果、菌の増殖を抑えられなかった。この原因を探るために、ペニシリンがどれくらいの濃度まで効果があるのか調べた。

1. 目的

身近な物質から取れる青カビを用いてペニシリンを抽出する。

2. 使用した器具・装置など

分液ろうと、薬さじ、マグネチックスターラー、薬包紙、三角フラスコ、ろうと、ビーカー、メスシリンダー、ろ紙、乳鉢、ガラス棒、マイクロピペット

3. 研究・実験の手順

はじめに培地、次にペニシリンの抽出作業についてまとめる。

(1) 培地について

～実験～

カビを効率よく培養するために、Ⅰ～Ⅲの培地でカビを培養させた。

Ⅰ 寒天培地 (100mL分)

ニッスイ「標準寒天培地」 3.5g

(23.5g中に、酵母エキス 2.5g、ペプトン 5.0g、ブドウ糖 1.0g、寒天 15gを含む)



Ⅱ 寒天培地 2 (100mL分)

写真1 寒天培地2で得たカビ

酵母抽出剤 2.5g、スクロース 2.5g、ポリペプトン 0.70g、寒天 2.5g

Ⅲ 液体培地 (100mL分)

グルコース 14g、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、コーン・スティーブ液 6.0mL

[カビの培養の仕方]

オレンジやレモン、ブルーチーズからの青カビを純水に混ぜ、その溶液を培地の表面に塗る。その培地をインキュベーターに入れ、カビを培養する。(インキュベーターとは、温度を一定に保つ機能を有する装置のことである)

～結果～

Ⅲの液体培地が一番カビを効率よく培養できることが分かった。しかし、Ⅰ、Ⅱの培地と異なり黒いカビが含まれていた。

～考察～

Ⅲにはカビの栄養源となる糖（グルコース）やコーンステープ液に含まれるアミノ酸がほかの培地よりはるかに多いので、よりカビが繁殖できる環境だったと考えられる。黒いカビについては、培地にカビを塗りつける作業中に、空気中のほかのカビが混ざった可能性がある。

（２）ペニシリンの抽出作業について

～実験～

オレンジやレモン、ブルーチーズから青カビを得た。培地は、Ⅱの寒天培地を用いた。

- ① 事前に寒天培地で青カビを培養しておく。
- ② 寒天培地からカビを取り、三角フラスコに入れ、純水を加えて攪拌する。
- ③ ②の溶液をろ過する。
- ④ 分液ろうとにろ液とクロロホルムを入れ、水層を取り出す。
- ⑤ 抽出した溶液に活性炭を入れ、攪拌する。
- ⑥ ⑤の溶液をろ過する。
- ⑦ ろ紙上の活性炭に1%酢酸水溶液を注ぐ。
- ⑧ ろ紙上の活性炭に2%炭酸水素ナトリウム水溶液を注ぐ。

続いて、本当にペニシリンが含まれているのか確認するために防菌感受性テストを行った。

- ① （１）のⅠの培地を3枚用意し、そこに納豆菌を塗りつける。
- ② 四角形に切ったろ紙を2枚用意し、培地Ⅱを用いて行った上記の実験で得たペニシリンが含まれると思われる液をそのうちの1枚に染み込ませる。
- ③ 他の1枚に市販のペニシリンを染み込ませる。
- ④ ②で作ったろ紙を置いた培地と、③で作ったろ紙を置いた培地と、何も置かない培地の計3枚を用意する。
- ⑤ 翌日に培地の様子を観察する。

～結果～

（２）で得たペニシリンが含まれると思われる液は防菌感受性テストの結果、納豆菌が繁殖した。

～考察～

ペニシリンは水やアルコールには溶けるが、クロロホルムには溶けないという性質がある。よって（２）の④では、クロロホルムに溶ける不純物が抽出される。⑦では、ペニシリンは水に溶けると酸性を示すので、酢酸水溶液を注ぐと塩基性の不純物が抽出される。⑧では、塩基性の炭酸水素ナトリウム水溶液と酸性のペニシリンが結合して、活性炭からペニシリンが剥がれ抽出される。

このように、ペニシリンの性質を生かして抽出作業をしたにも関わらず、納豆菌が繁殖してしまった

理由は3つ考えられる。

- (一) ペニシリンが抽出できなかった。
- (二) ペニシリンを抽出できたが、納豆菌の増殖を抑えられるほどの量が無かった。
- (三) そのカビ中にペニシリンが含まれていなかった。

これらの改善策として以下の3つがあげられる。

- (一) ペニシリンの抽出作業の方法を見直す。
- (二) 正確なペニシリンと納豆菌の量の関係を見つける。また、ペニシリンの元となるカビをたくさん培養し、抽出されるペニシリンの量を増やせるか実験する。
- (三) 採取したカビが本当に青カビなのか確認する方法を探す。

(3) ペニシリンの希釈について

ペニシリンの濃度を薄くして行って、どの濃度まで効果があるか調べた。

- ① 培地のIを13枚用意し、すべてに納豆菌を塗る。
- ② 培地の中央に培地の量の100分の1の量の濃度を変えた市販のペニシリンを注ぐ。純水、原液～10万倍の範囲でペニシリンの濃度を変えた。

～結果～

実験を行った後日様子を観察した。希釈溶液の結果は以下の通り。

○：ペニシリンの効果あり ×：ペニシリンの効果なし

1	純水	×	8	500倍希釈	○
2	原液	○	9	1000倍希釈	○
3	5倍希釈	○	10	5000倍希釈	○
4	10倍希釈	○	11	1万倍希釈	○
5	25倍希釈	○	12	5万倍希釈	×
6	50倍希釈	○	13	10万倍希釈	×
7	100倍希釈	○			

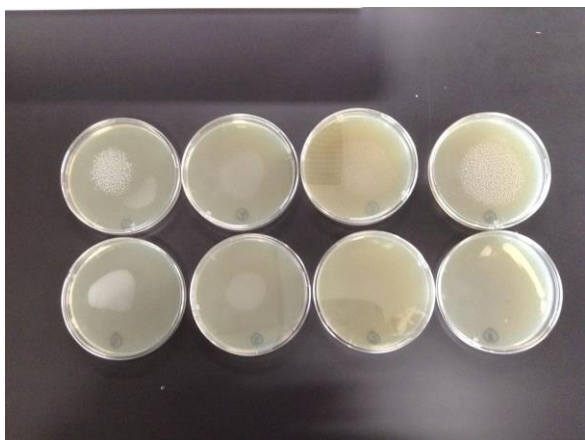


写真2 ペニシリンの希釈の結果

上段：左から順に2、3、4、5

下段：左から順に6、7、8、9



写真3 ペニシリンの希釈の結果2

左から順に1、10、11、12、13

～考察～

(3)の結果から、1万倍まではペニシリンの効果があることが分かった。ペニシリンの希釈の結果2の写真より、5万倍以上では、培地の中央以外には納豆菌がびっしりと増殖していることから、ペニシリンの効果はかなり弱まることが分かった。このことから、実験(2)の抽出作業において、少量でもペニシリンを得ることができれば、防菌感受性テストでその存在を確認することができると思われる。

4. 結論

実験(1)でⅢの培地が一番多くカビを培養することができたが、見た目から青カビかどうかは判断できなかった。培地Ⅲの黒いカビについては、その正体や原因を突き止め、青カビだけを多く育成できる条件を探していきたい。また、防菌感受性テストの結果から、少量でもペニシリンの存在は確認できるので、実験(2)での抽出作業を見直し、改良を図りたい。

5. 参考文献・引用文献

ペニシリン開発秘話 ジョン・シーハン著 (草思社)

明治大学応用微生物研究部 <http://ohbichan.webnode.jp>