

ペニシリンの抽出

3506 大島蘭奈 3627 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できる条件を探るために、Ⅰ～Ⅲの培地でカビを培養させた。

Ⅰ 標準寒天培地（顆粒）「ニッスイ」

組成：23.5g（1L分）

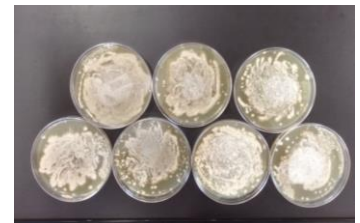
酵母エキス 2.5g、ペプトン 5.0g、ブドウ糖 1.0g、寒天 15g

Ⅱ 寒天培地 2（100mL分）

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・スティープ液 6.0mL



寒天培地 1 で得たカビ

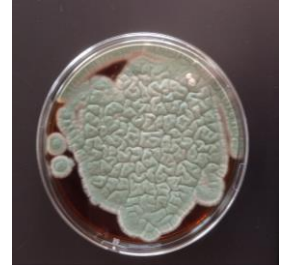
～結果～

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培養された。

～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。

ここで、液体培地のコーン・ステープ液を同じ成分の別の商品に変え、さらに寒天を 100mL あたり 3.5g 加えて寒天培地 3 とした。この培地上では、右の写真に見られるような緑色のカビが培養された。このカビの色から、青カビが培養できたと考えられる。



寒天培地 3 で得たカビ

(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。

- 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。



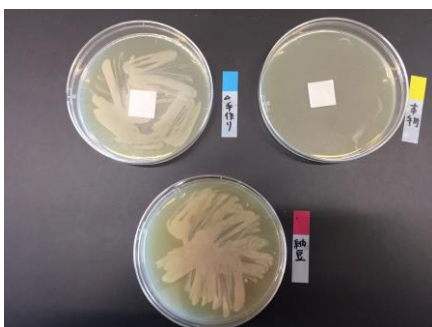
オレンジに生えたカビ

続いて、ペニシリンが抽出できたかどう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。



左上：実験で得た溶液
右上：市販のペニシリン
下：納豆菌のみ

～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。または、実験で得た溶液の濃度を濃くする。
- (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いった、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	○			



ペニシリンの希釈の結果1



ペニシリンの希釈の結果2

上段：左から順に2、3、4、5

左から順に1、10、11、12、13

下段：左から順に6、7、8、9

～考察～

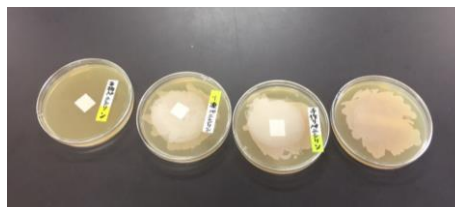
(3)の結果から、1万倍までは希釈してもペニシリンの効果があることが分かった。ただし、ペニシリンの希釈の結果2の写真より、5万倍以上では、培地の中央以外には納豆菌が増殖していることから、ペニシリンの効果はかなり弱いと考えられる。

(4) ペニシリンの濃縮について

- ① 上記の実験と同様にペニシリンの抽出作業を行う。
- ② 防菌感受性テストにおいて、(i) 納豆菌のみのもの (ii) 実験で得た溶液を染み込ませたろ紙を置いたもの (iii) 実験で得た溶液を凍らせ、それを少しだけとかしたものを染み込ませたろ紙を置いたもの (iv) 本物のペニシリンを染み込ませたろ紙を置いたもの の4つを用意する。

～結果～

- (i) (ii) (iii) は納豆菌が繁殖した
(iv) は納豆菌が繁殖しなかった



実験結果：右から
(i) (ii) (iii) (iv)

～考察～

この実験では、溶液を凍らせて再び溶かすと、溶けだした水に溶質が優先的に溶けるため濃い溶液になるという性質を利用し、実験で得た溶液の濃度を高くした。しかし、納豆菌の増殖を抑えられなかったことから、

- ・抽出作業の②で、カビが純水に完全に溶けていなかった
- ・抽出作業の⑤で、ペニシリンが活性炭に吸着できていなかった という原因が考えられる。

4. 結論

寒天培地3が青カビの培養に最も適していることが分かった。2つの方法で防菌感受性テストを行ったが、その両方とも納豆菌の増殖を抑えられなかったことから、抽出作業の仕方に問題があったと考えられる。今後は、抽出作業の仕方を改善して実験を行っていきたい。

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>