

課 題 名 青カビによるペニシリンの単離

発表者氏名 中村 拓馬 妻鳥 慎

担当教諭 鈴木 長寿

1. 目的

青カビからペニシリンを単離させる。



図 1 ペニシリン G

図 2 青カビ

2. 方法

青カビを培養し、そこからペニシリンを抽出して、フリーズドライにかけ、粉末を得る。

(1) 固定培地の作成

- ① グルコース 10g、ポリペプトン 10g、アデニン 0.4g、酵母抽出剤 5.0g、寒天 7.5g を秤量。
- ② ①を、500mL ビーカーに入れ、精製水 200mL を加え攪拌した。
- ③ ②で作った溶液を滅菌したシャーレの 3 分の 1 ぐらいまで入れた。
- ④ ③のシャーレを再びオートクレーブで滅菌し、その後冷蔵庫に入れ、固めた。

(2) カビを繁殖させる

- ① (1)で作った培地にペニシリウム・クリソゲナム (*Penicillium chrysogenum*) 菌株をクリーンベンチ内で塗布した。
- ② 4日間常温で放置し、カビを繁殖させた。

(3) ペニシリンの抽出

3-1 活性炭による抽出

- ① 液体培地で培養したカビの培地をろ過した。
- ② ろ液に活性炭を入れ、イオン化したペニシリンを吸着させた。
- ③ 活性炭に 1%酢酸水溶液を加え洗浄した。
- ④ 洗浄後、2%炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、約 30ml ずつに区分した。
- ⑤ フリーズドライにかけ、粉末化した。

3-2 エタノールまたは水による抽出

- ① 繁殖したカビを培地から剥がし、50%エタノールまたは水に入れ約 3 時間攪拌した。
- ② 溶液を濾過。
- ③ 濾液を -20°C で冷凍。

(4) ペニシリンの単離

- ① (3)で凍らせた濾液をフリーズドライにかけた。 図 3 フリーズドライ中の抽出液
- ② (3)の抽出液に硫安溶液を加えて塩析した。

- (5) フリーズドライで得た物質を少量の水に溶かし、その後、濾紙に含ませ、防菌感受性テストを行い、ペニシリンが含まれているか調べた。



3. 結果



図4 繁殖後



図5 抽出後



図6 フリーズドライ後



図7 防菌感受性テスト後(左 ペニシリン 右 水)

- ・ 図4のように、白いカビの表面に淡黄色の物質が生成した。
- ・ 図6のように、フリーズドライの後、粉末は得られなかったが、茶色の物質が残った。
- ・ 防菌感受性テストでは、図6の物質を水に溶解したものを染み込ませた濾紙の周辺にはミクロコッカス・ルテウス (*Micrococcus luteus*) が繁殖しなかった。
- ・ 抽出液からの硫酸塩析も試みたが、結晶の生成は見られなかった。

4. 考察

- ・ フリーズドライでほとんど結晶が得られなかったのは、カビの培養量が少ないため、抽出量が少なかったと考えられる。
- ・ 硫酸塩析でも結晶が生成しなかったのも、カビの培養量が少ないため、抽出量が少なかったと考えられる。
- ・ 防菌感受性テストでミクロコッカス・ルテウス (*M.luteus*) が繁殖していなかったことから、抗菌性の物質は出来ていたと考えられる。

5. 今後の課題

- ・ 液体培地によるカビの大量培養などにより、結晶を得る。
- ・ 活性炭による抽出において、酢酸ナトリウムの除去の方法について考える。
- ・ カラムを使った分離を試みる。

6. 参考文献

- ・ 東京工業大学附属科学技術高校 2006年課題研究 ペニシリンの単離
- ・ パプリカ種子からの新規抗菌性物質の分離と食品製造における利用 矢嶋 瑞夫