

pH 指示薬として用いられた B.T.B. (ブロームチモールブルー) に及ぼすストレプトマイシンの影響

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上栄教授)

山上 斌・松浦慶之・山本雅一

[昭和37年7月23日受稿]

I. 緒 言

pH 7.0 のシモンズ培地 (大腸菌用液体合成培地) に, pH 7.0 のジヒドロストレプトマイシン溶液を, 5,000 $\mu\text{g/ml}$ の割合に加えた溶液の pH を, B. T. B. の pH 試験紙で調べたら, pH 5.8 という低い値を示した。pH 7.0 の溶液に, pH 7.0 の溶液を加えたら, 理論的には pH 7.0 になるはずである。不思議に思つて精査したところ, 興味ある知見を得たので報告する。

II. 実験材料及び方法

1. pH 試験紙 東洋濾紙製
B. T. B. (Bromthymolblåue)
P. R. (Phenolred)
C. R. (Cresolred)
2. ストレプトマイシン
田辺製薬, 硫酸ジヒドロストレプトマイシン,
DHSM, 又は SM と略記。
3. ベックマン自記分光光度計
Mineapolis-Honeywell Reg. CO.
model: Y53 \times 18(X)-(X)-118 N2.
4. pH-Meter; 島津 GU-1型。
5. M/50 磷酸緩衝液; (pH7.0)
シモンズ液体培地の代りに用いた。
6. B.T.B. 溶液; メルク社製 B.T.B. の粉末を, M/50 苛性ソーダに溶かし, 蒸溜水で稀めて, 0.004% の溶液とした。

III. 実験成績

(実験1) 種々の pH 試験紙の示す, ストレプトマイシン溶液の pH 値。

DHSM, 1g を 4ml の蒸溜水に溶かし, 1N 苛性ソーダ, 0.2ml を加えて pH 7.0 とした。DHSM の溶液では, 各種の試験紙は, 正確に pH 値を示している。

表 1

	B. T. B.	P. R.	C. R.	pH meter
DHSM 200 $\mu\text{g/ml}$	6.8	7.2	7.2	7.0

註 各数値は, 各種の pH 試験紙及び pH-meter の示す pH 値。

(実験2) 種々 pH 試験紙の示す, M/50 磷酸緩衝液及び, DHSM を加えた磷酸緩衝液の pH 値。

表 2

	B. T. B.	P. R.	C. R.	pH meter
M. 50 磷酸緩衝液	7.0	7.2	7.2	7.0
同 上+DHSM	5.8	7.2	7.2	6.9

註 DHSM は, 5,000 $\mu\text{g/ml}$ の割合に加えた。

(実験1) に用いた DHSM を用いた。

DHSM を加えた緩衝液では, B. T. B. だけが極度に低い値を示している。

(実験3) DHSM の濃度の変化と, 種々 pH 試験紙の示す pH 値。

表 3

	B.T.B.	P. R.	C. R.	pH meter
① M/50 磷酸緩衝液	7.0	7.2	7.2	7.0
同 上 + DHSM 1,000 $\mu\text{g/ml}$	6.6	7.2	7.2	7.0
① + DHSM 2,000 $\mu\text{g/ml}$	6.2	7.0	7.0	7.0
① + DHSM 4,000 $\mu\text{g/ml}$	5.8	7.0	7.0	6.9

註 DHSM を2,000 $\mu\text{g/ml}$ 以上含む場合, B. T. B. の pH 試験紙の示す pH 値は非常に不正確となる。しかし P. R. の試験紙の値は正確である。

(実験4) B. T. B. 溶液の吸収曲線。

pH 7.0 の B. T. B. 溶液 (0.0005%) を, ベックマン自記分光光度計にかかると, 610 m μ , 413 m μ ,

310 m μ , の3ヶ所に山をもつ吸収曲線が得られる。DHSM を加えると, この曲線が変形するのではないかと思つて調べたが, DHSM を 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の割合に加え, pH 7.0 とした B. T. B. 溶液では, 310 m μ の所の山が少し高い程度で, 曲線の変形は認められない。

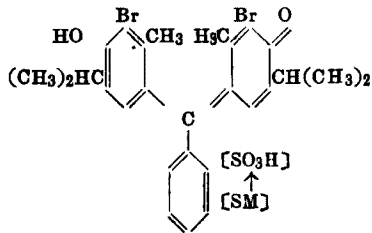
(実験5) B. T. B. 溶液に DHSM, 及び無機塩類を加える実験。

表 4

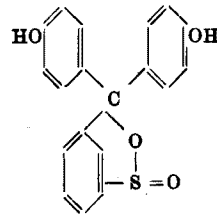
B. T. B. 溶液	SM溶液	無機塩類	溶液の色	黄褐色沈澱
0.004% 1ml	(-)	(-)	緑	(-)
同 上	0.05mg	(-)	緑黄色	(±)
同 上	0.15mg	(-)	緑黄色	(+)
同 上	0.15mg	0.1mg	緑黄色	(卅)
同 上	0.5mg	(-)	緑黄色	(卅)

高濃度の B. T. B. 溶液に DHSM を加えると, 汚黄褐色の沈澱を生ずる。無機塩類(磷酸緩衝液を用いた)の微量の存在は, 沈澱の生成を促す。

IV. 総括及び考按



B. T. B. の構造式



P. R. の構造式

B. T. B. には硫酸基がある。中性又は酸性の状態においては, SM. はここに結合して汚黄褐色の沈澱を生ずる。SM を含んだ無機塩類の溶液の中に, B. T. B. の試験紙を入れると, 色素が SM と結合して, 不溶性の塩となり pH の変化を表現しにくくなるものと思われる。アルカリ性では沈澱を生じない。P. R. の $>S=O$ は比較的安定なために, SM と結合しにくいものと思われる。

V. 結 論

1) ストレプトマイシンを, 2,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の割合に含んだ無機塩溶液, 又は液体合成培地の pH を, B. T. B. の pH 試験紙で測定すると, 実際よりも低い値を示す。無機塩の存在下で, B. T. B. とストレプトマイシンが結合して, 不溶性の塩を生じ, pH の変化を表現しにくくなるためである。

2) ストレプトマイシンを含んだ溶液の pH は, pH-meter を用いて測るべきである。もし pH 試験紙を用いるのなら pH 7.0 附近ならば, P. R. の試験紙の値が正確である。

**Influence of Streptomycin on Brom Thymol Blue (B. T. B.),
which is used as PH-Indicator.**

By

A. Yamagami, Y. Matsuura, M. Yamamoto.

Department of Microbiology, Okayama-University, Medical School.

(Director; Prof, S. Murakami.)

The PH-value of B. T. B. PH-paper is not exact but that of P. R. (Phenol Red) PH-paper is exact in inorganic salt solution or synthetic liquid media, which contains more than 2000 $\mu\text{g/ml}$ Streptomycin. Because, B. T. B. binds to Streptomycin in existence of the trace inorganic salt, and forms insoluble salt and cannot become to express the PH-changes. P. R. does not bind to Streptomycin.
