報 文

p-Hydroxybenzoic Acid Ester の
水溶性誘導体に関する研究

第3報 *p*-Alkoxy carbonyl Phenyl Phosphate の微生物に
対する作用と理化学的性質について

(昭和 44 年 9 月 20 日受理)

中谷 弘 実*¹ 楠 井 貞 郎*¹ 富士縄昭平*¹
城野久美子*² 山 野 藤 吾*²

Studies on Water-Soluble Derivatives of *p*-Hydroxybenzoic Acid Esters
III. Antimicrobial and Physico-Chemical Properties of
p-Alkoxy carbonyl Phenyl Phosphates

Hiromi NAKATANI*¹, Sadao KUSUI*¹, Shōhei FUJINAWA*¹
Kumiko JŌNO*² and Tōgo YAMANO*²

(*¹ Food Research Laboratories; *² Microbiological Research Laboratories,
Takeda Chemical Industries, Ltd.: 4-54 Jusō-Nishino-cho,
Higashi-Yodogawa-ku, Osaka)

p-Alkoxy carbonyl phenyl phosphates (ACPP) were synthesized as a water-soluble derivative of *p*-hydroxybenzoic acid esters, and then the antimicrobial activities of ACPP were investigated. It was found that all the ACPP were specifically effective in low concentrations against hiochi bacteria. *p*-Heptoxycarbonyl phenyl phosphate (PP-7), one of ACPP, was studied in detail, as ACPP seemed to be suitable for a preservative of sake.

(1) Minimum inhibitory concentration (M.I.C.) of PP-7 on hiochi bacteria ranged from 12.5 to 50 ppm. It was about ten times as effective as salicylic acid.

(2) PP-7 was easily soluble in sake, 15% ethanol, and water.

(3) PP-7 was slowly hydrolyzed to phosphoric acid and heptyl *p*-hydroxybenzoate (P-7) in acid media. Furthermore, P-7 had the equivalent antimicrobial activity on hiochi bacteria.

(4) The acute toxicity of PP-7 was as low as P-7 (LD₅₀ *p.o.* in mice: PP-7 7.6 g/kg). It was lower than that of salicylic acid.

From the facts described above, it may be concluded that PP-7 has the possibility of being used as the new preservative for sake and beer.

(Received September 20, 1969)

*¹ 武田薬品工業株式会社食品研究所：大阪市東淀川区
十三西之町 4-54

*² 同 発酵生産物研究所：同上

緒 言

前報¹⁾で、パラオキシン安息香酸 (POBA と略す) のメ
チル、エチル、プロピルおよびブチルエステルをリン酸
化した新しい水溶性誘導体、*p*-alkoxy carbonyl phenyl

phosphate (ACPP と略す) を合成し、それぞれの性質を明らかにした。

本報では引続き、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニルまたはデシルエステルを同様な方法でリン酸化して水溶性の誘導体を作り、微生物に対する作用を調べた。

今回合成した ACPP はいずれも火落菌に対する抗菌力が強く、清酒の防腐剤として利用できるように思われたので、さらにこれらの誘導体の中から、*p*-heptoxycarbonyl phenyl phosphate (PP-7 と略す) を選び、その理化学的性質や安定性について検討した。

実験方法

(1) 試料

a. POBA: 試薬 (特級, 和光純薬製)

b. POBA の *n*-アルキルエステル類: 試薬 (1 級, 東京化成製) および吉富製薬から分与された純品を用いた。

c. ACPP: POBA のペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニルまたはデシルエステルを原料とし、第 1 報¹⁾の方法を参考として Chart 1 に準じ合成した。すなわち、1 モルの POBA の *n*-アルキルエステルと 1 モルのオキシ塩化リンとをベンゼン 500~1,000 ml に溶かし、かきまぜながら 10° 以下でピリジンを滴加する。滴加終了後反応液を室温にもどし、さらに約 1 時間かきまぜる。反応液から析出したピリジン塩酸塩を除いた後ベンゼンを留去し、得られる残留物を氷冷水へ徐々に加える。溶液を 30~60 分間かきまぜた後、320 ml の純水に溶かした水酸化ナトリウム 2 モルを加える。溶液中の ACPP を酢酸エチルで抽出し、酢酸エチル層を飽和塩化ナトリウム溶液で数回洗い、さらに無水硫酸ナトリウムで脱水した後溶媒を留去し、残留物にベンゼン 500~1,000 ml を加えて放冷する。析出した結晶をろ取、エーテルで洗浄する。収率 65~75%。酢酸、ベンゼン混合溶媒から再結晶。

d. *p*-Carboxyphenyl phosphate (CPP と略す): Chanley らの方法²⁾に準じて合成した。mp 205~207°, Anal. Calcd. $C_7H_5O_5P$: C, 38.55; H, 3.24; P, 14.20 Found: C, 38.31; H, 3.20; P, 14.18

e. その他の試薬: すべて試薬 (特級) を用いた。

(2) 微生物に対する抗菌力試験

a. 試験菌株: 細菌類として *Staphylococcus aureus* FDA 209 P, *Bacillus subtilis* PCI 219, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3080, *Lactobacillus acidophilus* IFO 3831, カビ、酵母類として *Aspergillus niger* ATTC 9641, *Saccharomyces cerevisiae* IFO 0599, また火落菌として No. 2 (当研究所が腐敗清酒から分離した火落性乳酸菌), No. 51, 52, 53, 54 (以上財団法人発酵研究所から分与された火落性乳酸菌), および RIB 9001 [*Lactobacillus homohiochii* H-42], RIB 9003 [*Lactobacillus acidophilus*], RIB 9004 [*Lactobacillus*] (以上

国税庁醸造試験所から分与されたもの) を用いた。

b. 試験培地: 細菌類、カビおよび酵母に対する抗菌力試験には、ブドウ糖 1% 添加ペプトン肉汁培地 (pH 6.0) を用い、また抗火落菌作用の試験には、サリチル酸無添加の清酒 7 部に水 3 部を加えた加水清酒培地 (エタノール 13%, pH 4.2) と、ペプトン 1%, ブドウ糖 1%, 酵母エキス 1%, およびエタノール 13% を含む PYG 培地 (pH 4.5) を用いた。

c. 種菌溶液の調製: 細菌、カビ、酵母などの試験菌を寒天斜面上で培養し、それぞれから孢子または菌体を取り出して生理食塩水に分散させ、種菌溶液を調製した。また火落菌の場合には、ペプトン、酵母エキス各 0.1% を含む加水清酒へ火落菌を接種し、30° で 10 日間培養して種菌溶液とした。

d. 抗菌力試験: 抗菌力の測定は液体培地希釈法³⁾によった。すなわち試験菌濃度として $10^1 \sim 10^5$ cells/ml になるように、種菌溶液を接種して試験培養液をつくり、この 2 ml ずつを系列の試験管 (径 10 mm) の第 2 管以後に分注した。また第 1 の試験管には、試験薬剤の一定量を溶解した試験培養液 4 ml を分取した。さらに第 1 試験管の 2 ml を第 2 試験管に入れ、以後同様な倍数希釈法で系列希釈培地を調製し培養した。細菌の場合には 37° で 2 日間、カビ、酵母では 25° で 3 日間、また火落菌の場合では 30° で 10 日間培養し、それぞれ試験菌の増殖の有無を調べ、各薬剤の最小発育阻止濃度 (M. I. C.) を求めた。

(3) 溶解度の測定

a. PP-7: 種々の溶媒に過剰の PP-7 を加え、23° で 2 時間激しく振りまぜた後、ガラスフィルター G-4 でろ過し、溶媒が水、含水エタノール、清酒、およびプロピレングリコールの場合には、ろ液をメタノールで適当な濃度にうすめて波長 246 m μ における吸光度を測定し、溶解度を算出した。また溶媒がベンゼン、クロロホルムおよびアセトンの場合には、一定量のろ液から溶媒を留去し、メタノールに溶かして波長 246 m μ における

Fig. 1. Calibration curves of PP-7 and P-7
P-7: *n*-Heptyl-*p*-hydroxybenzoate
PP-7: *p*-*n*-Heptoxycarbonyl phenyl phosphate

吸光度を測定し、溶解度を算出した。検量線を Fig. 1 に示す。

b. POBA のヘプチルエステル (P-7 と略す): 水、含水エタノール、清酒のそれぞれに過剰の P-7 を加え、かきまぜながら 60° で約 30 分間加熱した後、23° に 4 日間放置し、ガラスフィルター G-4 でろ過する。ろ液中の P-7 をエーテルで抽出し、エーテルを留去後メタノールに溶かして波長 257mμ における吸光度を測定し、あらかじめ作製した検量線 (Fig. 1) から溶解度を算出した。また、プロピレングリコール、ベンゼン、クロロホルムおよびアセトンの場合には、P-7 の結晶 1g にこれらの溶媒を少量ずつ加え、溶解度を調べた。

(4) 表面張力の測定

ST-1 型表面張力計 (島津製作所製) を用い、30° で測定した。

(5) 赤外線吸収スペクトルの測定

EPI-S₂ 型 (日立製作所製) を用い、Nujol 法で測定した。

(6) 紫外線吸収スペクトルの測定

Hitachi Perkin-Elmer 139 および自記分光光度計 EPS-III 型 (日立製作所製) を使用した。

(7) 薄層クロマトグラフィー

固定相として Kiesel Gel GF₂₅₄ を、展開溶媒としてアセトン: 石油エーテル (2:8)、アセトン、または 23% アンモニア水: *n*-プロパノール (1:1) を用い、PP-7、P-7、CPP および POBA を標準物質として常法通り行なった。またスポットは紫外線 (2536Å) 照射で確認し

Fig. 2. Calibration curves of PP-7 and P-7

た。

(8) PP-7 と P-7 の定量法

紫外外部吸光度法による。検量線を Fig. 2 に示す。溶液中に PP-7 と P-7 が混在する場合には、Chart 2 の溶媒抽出法でまずこれらの化合物を分け、それぞれを紫外外部吸光度法で定量した。

(9) 水溶液における PP-7 の安定性

PP-7 を Britton-Robinson's Buffer Soln. (pH 2~12) に 0.1% の濃度に溶かし、その 10 ml を無色の硬質ガラスアンプル (全容 20 ml) に封入して種々の温度で最高 6 か月間保存した。保存後の各溶液について薄層クロマトグラフィーを行ない、PP-7 の分解生成物を調べた。また酸性の溶液については、Chart 2 の方法で PP-7 を定量してその安定性を検討した。

R: *n*-C₃H₁₁ ~ *n*-C₁₀H₂₁

Chart 1. Preparation of *p*-alkoxycarbonyl phenyl phosphate

Table 1. Elementary Analysis

R	mp(°C)	Formula	Analysis(%)					
			Calcd.			Found		
			C	H	P	C	H	P
<i>n</i> -C ₃ H ₁₁	143~145	C ₁₂ H ₁₇ O ₆ P	50.00	5.94	10.75	50.05	5.88	10.70
<i>n</i> -C ₅ H ₁₃	142~143	C ₁₃ H ₁₉ O ₆ P	51.66	6.34	10.25	51.70	6.37	10.30
<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	141~142	C ₁₄ H ₂₁ O ₆ P	53.16	6.69	9.79	53.20	6.72	9.81
<i>n</i> -C ₈ H ₁₇	140~142	C ₁₅ H ₂₃ O ₆ P	54.54	7.02	9.38	54.48	6.99	9.34
<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	139~141	C ₁₆ H ₂₅ O ₆ P	55.81	7.32	9.00	55.75	7.29	9.01
<i>n</i> -C ₁₀ H ₂₁	138~140	C ₁₇ H ₂₇ O ₆ P	56.98	7.59	8.64	56.93	7.55	8.61

実験結果および考察

1. ACPP について

1-1. 融点, 元素分析値 Chart 1 の方法で合成した 6 種類の ACPP はいずれも無色～白色の針状結晶または結晶性粉末として得られた. Table 1 に ACPP の融点, 元素分析値を示す. Table 1 のように, それぞれの分析値は理論値と良く一致した.

1-2. 一般微生物に対する抗菌作用 一般微生物に対する抗菌スペクトルを調べ, ACPP と, 対応する POBA のアルキルエステル類とを比較し, Table 2 の結果が得

られた.

ACPP は *B. subtilis*, *Ps. aeruginosa* などの細菌類, さらに *Asp. niger*, *Sac. cerevisiae* のようなカビ, 酵母に対してはほとんど抗菌作用を示さないが, *Staph. aureus* や *Lact. acidophilus* に対しては, POBA のアルキルエステル類とほぼ同じ抗菌力を示すことが認められた. またこのときの ACPP の抗菌力は, アルキルエステル類と同様, そのアルキル基の炭素数の増加にしたがって強くなる.

1-3. 火落菌に対する抗菌作用 1-2 のように ACPP

Table 2. Antimicrobial Activities M. I. C. (ppm)

Compounds		Bacteria				Mold	Yeast
		<i>St. aureus</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Asp. niger</i>	<i>Sac. cerevisiae</i>
R: $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$	1000	500	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
	$n\text{-C}_6\text{H}_{13}$	125	125	> 500	> 1000	> 1000	> 1000
	$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$	25	25	> 500	> 500	> 500	> 500
	$n\text{-C}_8\text{H}_{17}$	12.5	12.5	> 500	> 500	> 500	> 500
	$n\text{-C}_9\text{H}_{19}$	3.1	6.2	> 500	> 500	> 500	> 500
	$n\text{-C}_{10}\text{H}_{21}$	> 100	> 100	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
R: $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$	250	250	250	250	125	50
	$n\text{-C}_6\text{H}_{13}$	250	125	125	500	125	50
	$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$	25	25	25	> 500	> 500	50
	$n\text{-C}_8\text{H}_{17}$	12.5	12.5	12.5	> 1000	> 1000	250
	$n\text{-C}_9\text{H}_{19}$	12.5	6.2	12.5	> 1000	> 1000	> 1000
	$n\text{-C}_{10}\text{H}_{21}$	25	6.2	> 100	> 1000	> 1000	> 1000

Table 3. Antimicrobial Activities on Hiochi Bacteria
Medium: Synthetic medium

M. I. C. (ppm)

Compounds		Hiochi bacteria				
		No. 2	51	52	53	54
R: $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$	250	250	125	250	250
	$n\text{-C}_6\text{H}_{13}$	125	62.5	62.5	125	250
	$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$	25	25	25	25	50
	$n\text{-C}_8\text{H}_{17}$	12.5	6.2	6.2	6.2	12.5
	$n\text{-C}_9\text{H}_{19}$	3.1	6.2	6.2	6.2	6.2
	$n\text{-C}_{10}\text{H}_{21}$	12.5	6.2	12.5	12.5	12.5
R: $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$	250	125	250	250	250
	$n\text{-C}_6\text{H}_{13}$	125	62.5	125	125	125
	$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$	25	25	25	25	25
	$n\text{-C}_8\text{H}_{17}$	12.5	12.5	12.5	6.2	6.2
	$n\text{-C}_9\text{H}_{19}$	6.2	6.2	12.5	6.2	6.2
	$n\text{-C}_{10}\text{H}_{21}$	6.2	12.5	12.5	25	25
Salicylic acid		250	250	500	500	250

Table 4. Antimicrobial Activities on Hiochi Bacteria

Medium: Diluted sake

M. I. C. (ppm)

Compounds		Hiochi bacteria			
		No. 2	9001	9003	9004
R: $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$	250	125	125	250
	$n\text{-C}_6\text{H}_{13}$	125	62.5	125	250
	$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$	25	25	12.5	12.5
	$n\text{-C}_8\text{H}_{17}$	12.5	3.1	6.2	12.5
	$n\text{-C}_9\text{H}_{19}$	3.1	3.1	3.1	3.1
	$n\text{-C}_{10}\text{H}_{21}$	12.5	3.1	3.1	3.1
R: $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$	250	125	125	125
	$n\text{-C}_6\text{H}_{13}$	125	62.5	62.5	125
	$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$	25	25	12.5	25
	$n\text{-C}_8\text{H}_{17}$	12.5	3.1	3.1	12.5
	$n\text{-C}_9\text{H}_{19}$	3.1	3.1	3.1	3.1
	$n\text{-C}_{10}\text{H}_{21}$	25	6.2	3.1	6.2
Salicylic acid		250	125	250	250

が *Staph. aureus* や *Lact. acidophilus* に対して抗菌力を有することが明らかになったので、つぎに各種火落菌について ACPP の作用を詳しく調べ、POBA アルキルエステル、サリチル酸などの抗菌力と比較した。

まず火落菌として No. 2, 51, 52, 53, 54 を用い、PYG 培地を培養基としたときの ACPP の M. I. C. を求めたが、Table 3 のように、これらの誘導体はいずれも火落菌に対して強い抗菌作用を示すことがわかった。さらにこの場合、ACPP のアルキル基の炭素数がふえるとその抗菌作用は強くなること、また ACPP の抗菌力は火落菌の種類に関係なく、それぞれ母体の POBA アルキルエステルとほぼ同じ強さを示すこと、などが明らかになった。Table 4 は加水清酒を培養基としたときの結果であるが、No. 2, RIB 9001, RIB 9003, または RIB 9004 の火落菌に対する ACPP の M. I. C. はさきの PYG 培地での場合とほぼ同様であった。すなわち Table 4 のように、ACPP は火落菌に対して強い抗菌作用を示すが、そのアルキル基の炭素数がふえると M. I. C. は小さくなること、さらに ACPP は対応する POBA のアルキルエステル類と同程度の抗火落菌作用を有すること、などが確認される。一方、これら ACPP の抗菌力を対照のサリチル酸と比較すると、たとえば PP-7 では、その母体の P-7 と同様、12.5~50 ppm で火落菌の増殖を完全に抑え、サリチル酸の 250~500 ppm に比べて約10倍の強さを示した。

POBA の高級アルキルエステル類の抗火落菌作用に関しては、すでに芝崎⁴⁾が報告しているし、著者らの本実験でも証明された。またこれらのエステルの中で、P-7 はビールの防腐剤として米国で実用化されている⁵⁾。

しかしながら、これらのエステル類には清酒やビールに溶けにくい欠点が見られ、使用時にはある程度問題となる。この点、著者らの合成した ACPP はいずれも水溶性の化合物で、清酒やビールには良く溶けるので使いやすく、またさきにも述べたように各種の火落菌に対して強い抗菌作用を有する。

これらのことから考えて、今回合成した ACPP は清酒やビールの新しい防腐剤として大いに期待される。

Table 5. Physico-chemical Properties

	PP-7	P-7
Solubility (23°C)		
Water	10.5% (w/v)	0.0007% (w/v)
5% Ethanol	20.5	0.0009
10% Ethanol	34.5	0.0014
15% Ethanol	35	0.0027
Sake	30~35	0.0030
Propylene glycol	2.1	freely soluble
Benzene	insoluble	freely soluble
Chloroform	insoluble	freely soluble
Acetone	insoluble	freely soluble
Surface tension (30°C)		
0.05% (w/v)	50.0 dyn/cm	—
0.1	40.7	—
0.2	35.1	—
pH of solution		
0.1% (w/v)	2.9	—

2. PP-7 について

ACPP は酒類の防腐剤として利用しようように思われたので、つぎにこれらの誘導体から PP-7 を選び、その理化学的性質や安定性を調べた。

2-1. 毒性試験 生後4週令の ICR-JCL/T 系雄性マウスを用い、PP-7 と P-7 の急性毒性試験を行なった結果、PP-7 の LD₅₀ は 7.6 g/kg, また P-7 では約 10 g/kg であった。サリチル酸の毒性⁶⁾ に比較して、これらの化合物の毒性はきわめて少ないものと推定される。

2-2. 理化学的性質 Table 5 は PP-7 の溶解度、水溶液の表面張力および pH を示したものである。さきにもふれたように、PP-7 は水、含水エタノール、清酒などに良く溶ける。また PP-7 の水溶液は酸性を呈する。なお、PP-7 には水の表面張力を下げる性質があるので、本品は界面活性物質と考えられる。

PP-7 の IR および UV スペクトルを測定し、P-7 のそれぞれと比較した。まず、Fig. 3 の IR スペクトルを見ると、PP-7 では P-7 で存在するフェノール基の吸収 (3350, 1220, 1160 cm⁻¹) がなく、1250, 1210, 1190 および 1030 cm⁻¹ でリン酸基にもとづく吸収が認められる。さらに Fig. 4 のように、PP-7 は紫外外部で吸収を示すが、その吸収極大は P-7 よりも短波長にずれる。エタノールを溶媒としたときの PP-7 の吸収極大波長は 246 mμ であった。

Fig. 3. Infrared spectra (Nujol)

— PP-7

.... P-7

Fig. 4. UV spectra of PP-7 and P-7
(Concn.: 1 mg%)

Fig. 5. Thin-layer chromatograms of PP-7, P-7, POBA and CPP

POBA: *p*-Hydroxybenzoic acid

CPP: *p*-Carboxyphenyl phosphate

2-3. 薄層クロマトグラフィーによる確認 後述するように、溶液中の PP-7 はその液性によって加水分解されることがある。PP-7 の構造からみて、P-7, POBA, CPP などがその加水分解生成物と考えられるが、薄層クロマトグラフィーを用いる方法で PP-7 とこれら生成物の確認法を検討した。その結果、Fig. 5 に掲げる展開溶媒を適当に使い分けると、各化合物の分離、確認は可能となることがわかった。

2-4. PP-7 と P-7 の分離定量法 酸性溶液における PP-7 の安定性を明らかにするために、まず水溶液における PP-7 の定量法について検討したが、予試験の結果から酸性溶液における PP-7 の加水分解生成物として P-7 が確認されたので、実験時には PP-7 と P-7 との分離定量法の検討に重点をおいた。

その結果、Chart 2 に掲げる操作法で PP-7 と P-7 を分け、それぞれ化合物の吸光度を測定し、Fig. 2 の検量線から定量する方法がもっとも簡便であることがわかった。本法によると、水、Buffer または含水エタノール中の PP-7, P-7 は容易に定量され、かつ回収率はいずれも 98±1.5% で、定量精度が良かった。

2-5. 安定性 PP-7 の結晶は温度、湿度、酸素、光などには安定で、通常の条件で長期間保存しても分解しないが、溶液中ではその液性によって加水分解の形式や速度が異なる。

PP-7 の加水分解生成物を明らかにするために、緩衝液 (pH 2~12) に PP-7 を溶解し、ガラス容器中で 100°, 30分間加熱した後、さきの薄層クロマトグラフィーを行なった。結果を Fig. 6 に示す。図のように、PP-7 の分解生成物は溶液の pH によって異なり、pH 2~6 の酸性溶液ではそのリン酸結合部位の加水分解された P-7 が、また pH 8 以上の溶液ではアルキル基結合部位の加水分解された CPP がそれぞれ分解物として確認された。

つぎに酸性溶液における PP-7 の安定性について検討した。まず PP-7 を含む pH 2~7 の緩衝液を 60° で 5 時間加熱し、その安定性におよぼす pH の影響を調べ、Fig. 7 の結果が得られた。Fig. 7 のように、PP-7 の安

Chart 2. Determination of PP-7 and P-7

Fig. 6. The decomposition products of PP-7 in aqueous solutions

Fig. 7. Stability of PP-7 in aqueous solutions (60°C 5 hrs.)

Fig. 8. Stability of PP-7 in aqueous solution at pH 4.0

定性は溶液の pH で異なり、中性付近では比較的安定であったが、pH 2~4 の酸性溶液ではやや加水分解されやすかった。なおこの場合の分解生成物として、P-7 が定量的に確認される。ついで、pH 4 の緩衝液に溶かした PP-7 を種々の温度で保存し、その安定性におよぼす温度の影響について調べた。Fig. 8 のように、保存温度が高くなるほど PP-7 の加水分解が速くなった。また PP-7 の分解は保存温度に関係なく直線的で、一次反応の形式に従うことがわかる。

なお、清酒中での PP-7 の安定性についても同時に検討したが、上述の緩衝液での場合とほぼ同じ結果が得られた。これらの詳細に関してはつぎの機会に報告したい。

以上のように、PP-7 は酸性溶液でやや加水分解されるが、その際生成する P-7 は火落菌に対して抗菌作用が強く、またその毒性も低い。さらに米国ではビールの防腐剤として実用化されている。これらのことから、PP-7 が清酒やビールの中で一部加水分解され P-7 に変化しても、その効力や安全性の面でなんら問題はないと考えられる。

PP-7 は清酒やビールの新しい防腐剤として期待される。

要 約

パラオキシ安息香酸のペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニルまたはデシルエステルをリン酸化した水溶性の誘導体、*p*-alkoxycarbonyl phenyl phosphate を合成し、微生物に対する作用を調べた結果、これらはいずれも火落菌に対して強い抗菌作用を有することがわかった。

これらの誘導体は清酒用の防腐剤として利用できるように思われたので、その中から *p*-heptoxycarbonyl

phenyl phosphate (PP-7) を選び、理化学的性質や安定性について検討した。

(1) PP-7 では火落菌に対する有効濃度が 12.5 ~ 50 ppm でその抗菌力が強く、サリチル酸に比較して約 10 倍の抗火落菌作用を示した。

(2) PP-7 は清酒、15% エタノール、水などに良く溶けるので、実用的には使いやすい。

(3) 酸性溶液では徐々に加水分解され、パラオキシ安息香酸ヘプチルエステル (P-7) を生成するが、この場合の P-7 は PP-7 とほぼ同じ抗火落菌作用を示す。

(4) マウス経口投与による PP-7 の LD₅₀ は 7.6 g/kg で、P-7 と同様にその毒性はサリチル酸よりも少ない。

以上のことから、PP-7 は清酒用またはビール用の新防腐剤として期待される。

終わりに、火落菌を分与された国税庁醸造試験所および財団法人発酵研究所に感謝する。また終始ご指導とご鞭撻を賜った当社研究開発本部長立岡末雄博士、食品研究所長田中邦喜博士、食品技術部仲仁七部長、毒性試験を担当された当社生物研究所横谷肇博士、および実験に協力された当社化学研究所の諸氏に深謝する。

本報は、日本食品衛生学会第17回講演会(1969. 5. 16. 東京)で発表した。

文 献

- 1) 中谷弘実: 薬剤学 21, 186, 189 (1961).
- 2) J. D. Chanley, E. Feageson: J. Am. Chem. Soc. 77, 4002 (1955).
- 3) 梅沢純夫: “抗菌性物質” p. 184 (1963), 培風館.
- 4) 芝崎 勲: 醸酵工誌, 47, 167 (1969).
- 5) American Brewer 99, No. 5, 22 (1966).
- 6) 食品添加物公定書注解編集委員会: “第二版食品添加物公定書注解” p. 356 (1968), 金原出版.