

プロポリス採集方法が鉛の 混入量に与える影響

E. Bedascarrasbure, L. Maldonado, A. Alvarez

プロポリスに含まれる生理活性物質として主要なものはフェノール化合物、特にフラボノイド類である (Bedascarrasbure, et al., 2001). これらの化合物は有意な抗酸化性 (Fierro, 2001) や抗菌性 (Tabera, et al., 2000; Hegazi and El Hady, 2000) を示す. さらにこのうちいくつかは、過酸化脂質や活性酸素 (フリーラジカル) の影響を軽減し (Moreno et al., 2000), それによって心臓病リスクを減少する働きもある (Hertog et al., 1993).

また、フラボノイド類は、フリーラジカルを生成する化学反応の触媒となる、鉄や銅のような金属と錯結合してキレート化合物を作り、触媒反応を阻害する (Cadenas, 1999). しかし、この同じ性質によって、プロポリスの汚染物質の代表である鉛のような重金属とキレート化合物を形成してしまうこともある (Havsteen, 2002). プロポリス中に見られる鉛は環境由来か、採集、抽出や製造工程の際に混入すると考えられている.

この研究の目的は、アルゼンチン産プロポリス中の鉛混入量が、採集方法によってどのよう

に影響を受けるか評価することにある.

材料および方法

プロポリスはアルゼンチン・ツクマン州レアレス地方 (西経 65°, 南緯 27°) の INTA Leales の試験場で行われている「アルゼンチンプロポリスの物理化学的な特徴付け」プロジェクトの実験の一環として得られたものを使用した. 以下に述べる 3 種の採集方法についてそれぞれ 10 反復の試験を行い、各採集方法について無作為に選んだ 8 検体をサンプルとして使用した.

1) くさび法 (伝統的): 長さ約 3 cm, 幅 1 cm, 厚さ 0.3 cm の木片 (くさび) を継ぎ箱と蓋の間に入れて隙間を大きくし、この隙間に堆積したプロポリスをハイブツールなどのへら状の道具でかき取った (図 1).

2) プラスチックネット: 長さ 55 cm, 幅 45 cm のプラスチック網 (網戸用の網の同等品) を蓋の内側、巣板上部に置いた. ミツバチはこの網目の穴にプロポリスを充填する傾向がある (図 2). プロポリスが付着した網は -18°C に冷



図 1 くさび法では、巣箱と蓋の間隙間に堆積したプロポリスをハイブツールなどでかき取る.



図 2 巣箱上面を完全に網で覆い、この網の目にミツバチが付着させるプロポリスを網ごと採集する.

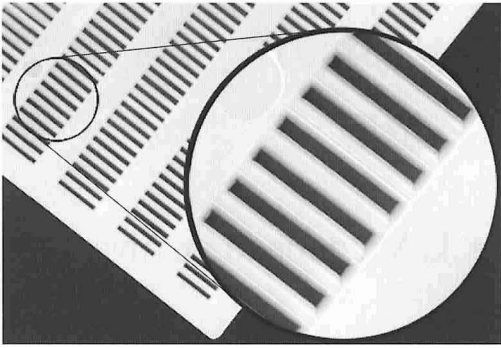


図3 押し型抜きしたプラスチックの格子
(円内は拡大)

やし、網をひねることで硬化したプロポリスをばらばら落として分離して採集した。

3) プラスチック格子：細い溝状に押し型抜きした長さ 41 cm, 幅 25 cm, 厚さ 0.4 cm の 2 枚の格子状の板を蓋の内側、巢板上部に置いた。ミツバチはこの溝にプロポリスを充填した(図 3)。上記同様、 -18°C でプロポリスを硬化させ、格子をひねってプロポリスを分離した。

サンプルはマッフル炉で 400°C に加熱して灰化し、希硝酸で溶解した後、標準 Dithizone 法による分光光度測定法によって鉛の含有量を測定した (AOAC, 1993; Bedascarrasbure et al., 2003)。この方法は前もってグラファイトフーナーネス方式の原子吸光分析でバリデーション (精度保証) を行い、有意な差が生じないことを確認しておいた (Sales et al., 2003)。

結果

表 1 には各採集方法のそれぞれ 8 検体の鉛混入濃度 (mg/kg) の平均と標準偏差を示し、また図 4 にボックスプロットで示した。くさびを入れて堆積したプロポリスをかき取る方法 (くさび法) で、最も高い鉛混入量となり、網

表 1 採集方法による鉛混入量の変動

採集方法	鉛混入量 (mg/kg)	標準偏差	有意差*
くさび法	7.0	1.5	A
網	1.6	0.1	B
格子	1.2	0.1	B

* 異なる文字は Kruskal-Wallis 検定で有意な差 ($P<0.05$) が検出されたことを示す。

や格子を用いた方法では、くさび法より有意に少ない混入量で、また網と格子の間には有意な差は見られなかった。

考察

3つの採集方法に見られた鉛の量は、過去に論文報告されているものに較べると少なかった。ブラジル産プロポリスにおいて、Freire Alcici(2002) は、網で集めたプロポリス中の鉛の混入量は $2.7 \sim 3.1 \text{ mg/kg}$ であったのに対して、塗料が残る枠周辺からかき取る方法では、 $19 \sim 48 \text{ mg/kg}$ と高い値を示したとしている。今回の研究で、3つの採集方法によって得られたプロポリス中に混入した鉛の平均量は、いずれの方法においても、日本プロポリス協会が定める上限値 (20 mg/kg) (Yamamoto, 1996) よりも少なかった。また、網と型抜きした格子を用いる採集方法においては、コーデックスが定める上限値 (2 mg/kg) よりも少ない混入量となっていた。

プロポリス中に混入する鉛の量は、かき取り法と網 (網と格子) を用いる方法との間に統計的な有意差があることから、採集方法によって影響を受けると結論された。

Freire Alcici(2002) が述べているように、かき取り法では、鉛のほとんどはプロポリスをかき取る際に塗料が混入することによると考えられる。一方、網を用いる方法では、鉛の大半は、環境依存となるのであろう。網と格子との間に

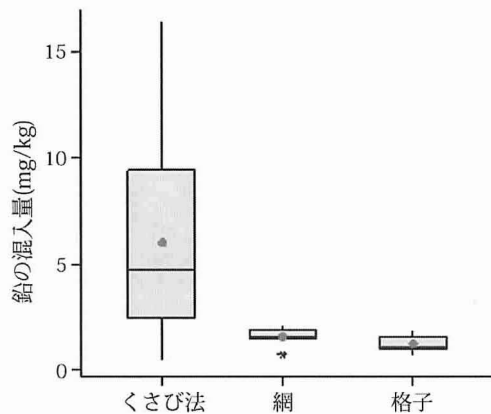


図4 採集方法による鉛混入量のちがい
(ボックスプロット)

は有意差が認められなかった。また、網による方法よりも、かき取り法で得られたプロポリスではサンプル間に鉛の混入量に大きなばらつきがあることが観察された。

くさび法によるかき取りでは、耐雨性や耐候性を維持するために巣枠や巣箱に塗られた塗料やワニス含有する鉛、あるいは採集に際して接触する巣箱内のあらゆる鉄製部品（釘、針金、自距金具）あるいはかき取りに使う道具（ハイブツールなど）が鉛その他の重金属の混入原因となりうる。

網や格子を使う場合は、こうした直接的混入は避けられるが、環境中に含まれる鉛が混入する。その中ではガソリンのノッキング防止剤（制爆剤）として添加されるテトラエチル鉛などが候補であり、蜂場が道路や市街地からどのくらい離れているかといった蜂場の立地条件が、混入量に影響を与えると考えられる。

今回の分析において得られた予備的な結果からは、無害で安全な、つまり鉛の混入量が少ないプロポリスを得るためには、くさび法など、巣枠や巣箱からかき取って採集する方法よりも、網などを用いる方法が望ましいと結論できるだろう。

（著者の連絡先は下記参照 翻訳 笠原 麗美）

引用文献

- AOAC. 1993. AOAC Official method (15th ed)
 Bedascarrasbure, E. 2001. 37th Congr. Intl. Apicult., South Africa.
 Bedascarrasbure, E.L., L.M. Maldonado, A. Alvarez, A. van der Horst and E. Rodriguez. 2001. ミツバチ科学 22(2): 75-78.
 Bedascarrasbure, E. L. Maldonado, A. Alvarez. 2003. IRAM 15935.
 Cadenas, E. 1999. Sustancias Flavonoides "Antioxidantes y calidad de vida" (Julio-1999)
 Freire Alcici, N. M. 2002. 1st German Bee Products and Apitherapy Congr., 2002.
 Fierro, W. 2001. Antioxidantes y calidad de vida 7(33): 5-11.
 Havsteen, B. H. 2002. Pharmacol. Therapeut. 96: 67-202.
 Hegazi, A.G. and F. A. El Hady. 2000. Anal. Congr. Intl. Propóleos, 2000. p. 114.
 Hertog, M. G., E. J. Feskens, P. C. Hollman, M. B.

- Katan and D. Kromhout. 1993. Lancet 342: 1007-1011.
 Moreno, M. I., M. I. Isla, A. R. Sampietro and M. A. Vattuone. 2000. J. Ethnopharmacol. 71(1-2): 109-114.
 Sales, A., A. Alvarez, M. Rodríguez Areal, L. Maldonado, P. Marchisio and E. Bedascarrasbure. 2003. Congr. Argentino Quím Analít.
 Tabera, A., E. Bedascarrasbure, L. Maldonado, A. Alvarez and A. van der Horst. 2000. Anal. Congr. Intl. Propóleos, 2000. p. 97.
 Yamamoto, T. 1996. Intl Conf. Bee Product Properties, Application and Apitherapy, Israel, 1996.

ENRIQUE BEDASCARRASBURE¹, L. MALDONADO², ALEJANDRO ALVAREZ³. Preliminary results about method of harvest's effect on the propolis' content of lead. *Honeybee Science* (2004) 25(3): 129-131. 1) INTA EEA Famaillá (National Institute of Agricultural and Cattle Technology) and National University of the Center of Buenos Aires Province, Argentina. 2) INTA EEA Famaillá, Ruta 301 km 32, Famaillá (4132), Tucumán, Argentina. 3) INTA EEA Famaillá and National University of Tucuman, Argentina.

Flavonoids, the main bioactive compounds of propolis, have tendency to chelate metals as the lead, that becomes one of the main polluting agents of propolis. The lead found in propolis can come from environment or being incorporated in the harvest, extraction and processing. The objective of this work is to evaluate the effect of the harvest method on lead content in argentine propolis. A randomized test was made, with three treatments and ten repetitions by treatment. 24 samples were taken and consisted of the propolis collected of the treatments: separating wedges (traditional), netting plastic meshes and stamped out plastic meshes. The lead level obtained for the three methods of harvest is inferior to the values reported in bibliography for Brazilian propolis. With respect to the effect of the method of harvest on the lead content, from statistical analysis it can conclude that there are significant differences between the scraped method and the mesh methods (stamped out and netting meshes).

The obtained preliminary results in the present assay would allow to conclude that the methods of meshes are more advisable than scraped methods to obtain innocuous and safe propolis, with minor lead' s content.